

Índice

Resumo	2
Abstract	3
Lista de Abreviaturas	4
1. Objectivos	5
2. Métodos	5
3. Doença de Parkinson	6
3.1. História	6
3.2. Epidemiologia	7
3.3. Clínica	7
3.4. Diagnóstico clínico	10
3.5. Exames auxiliares de diagnóstico	11
3.6. Etiologia	12
3.7. Fisiopatologia	16
4. Doença de Gaucher	22
4.1. Epidemiologia	22
4.2. Fisiopatologia	22
4.3. Clínica	24
4.4. Etiologia	25
4.4.1. Estrutura e função do gene <i>GBA</i>	25
4.4.2. Mutações	27
5. Associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson	30
5.1. Défice Cognitivo	32
5.2. Mecanismos fisiopatológicos	33
6. Considerações finais	37
7. Agradecimentos	38
8. Bibliografia	39

Resumo

A Doença de Parkinson caracteriza-se pelo aparecimento de manifestações motoras, tais como, bradicinésia, tremor de repouso, rigidez e instabilidade postural, no entanto, grande parte dos doentes apresentam manifestações não motoras, entre as quais disfunção cognitivas. As alterações cognitivas incluem défice nas funções executivas, alterações da memória, défices de atenção e alterações das capacidades visuo-espaciais. Recentemente, foi identificado um factor de risco genético para o desenvolvimento da Doença de Parkinson, a presença de mutações em heterozigotia no gene da glucocerebrosidase. O gene da glucocerebrosidase é responsável pelo aparecimento da Doença de Gaucher, a doença lisossomal mais prevalente a nível mundial. Os indivíduos portadores de mutações no gene da glucocerebrosidase, têm, tendencialmente, uma idade de aparecimento da Doença de Parkinson mais precoce, bem como, uma incidência de défice cognitivo superior aos indivíduos não portadores de mutações neste gene. Ainda não estão completamente explicados os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela relação entre as mutações no gene da glucocerebrosidase e o aparecimento de Doença de Parkinson. No entanto, várias teorias têm sido propostas, entre as quais, agregação de proteínas resultante de défice dos mecanismos de degradação de proteínas, alteração da composição lipídica e transmissão de priões.

Palavras-chave: Doença de Parkinson; Doença de Gaucher; alterações cognitivas; demência; glucocerebrosidase.

Abstract

Parkinson's Disease is characterized by the appearance of motor manifestations, such as, bradykinesia, resting tremor, rigidity and postural instability, however, the majority of patients also have non-motor manifestations, including cognitive impairment. Cognitive impairment include deficits in executive functions, impaired memory, attention deficits and changes in visual-spatial abilities. Recently, the presence of heterozygous mutations in the glucocerebrosidase gene was identified as a genetic risk factor for the development of Parkinson's disease. The homozygous or compound heterozygous mutations on the glucocerebrosidase gene are responsible for Gaucher disease, the most prevalent lysosomal disease worldwide. Apart from being a risk factor for the development of Parkinson's Disease, individuals harboring glucocerebrosidase mutations have, tendentially, an early age at onset, as well as, an higher incidence of cognitive impairment than the non-carriers for glucocerebrosidase gene mutations. The pathophysiological mechanisms responsible for the relationship between the glucocerebrosidase gene mutations and the onset of Parkinson's disease are not fully understood, however several theories have been proposed, including protein aggregation due to impairment of the mechanisms involved in protein degradation, lipid deregulation and prion transmission.

Key words: Parkinson's disease; Gaucher disease; cognitive impairment; demencia; glucocerebrosidase.

Lista de Abreviaturas

AMC - autofagia mediada por chaperones

ATP - adenosina trifosfato

β -CIT- β -carboxi-iodofenil tropano

COX 2 – ciclooxygenase 2

DP - Doença de Parkinson

DG - Doença de Gaucher

DAT – transportador da Dopamina

DNA - ácido desoxirribonucléico

GBA - glucocerebrosidase

GTP - guanosina trifosfato

IBR – *in between RING*

IL-1b - interleucina-1b

IL-2 - interleucina-2

IL-6 – interleucina-6

IL-10 - interleucina-10

LAMP 2A - *lysosomes-associated membrane protein 2A*

MAPKKK - *mitogen-activated protein kinase kinase kinase*

M-CSF - factor estimulante de colónias de macrófagos

PAS - coloração ácido periódico-Schiff

RM - ressonância magnética

SPECT – tomografia computadorizada por emissão de fotão único

SUP - sistema ubiquitina-proteossoma

TNF- α - factor de necrose tumoral

1. Objectivos

Este artigo tem como objectivo efectuar uma revisão da literatura referente à Doença de Parkinson (DP), à sua relação com as mutações no gene da glucocerebrosidase (*GBA*), gene responsável pela Doença de Gaucher (DG), e ao aparecimento de manifestações cognitivas nos doentes com DP portadores de mutações neste gene. Para tal, foi revista tanto para a DP como para a DG, a história, a epidemiologia, a clínica, a etiologia, a fisiopatologia e o diagnóstico destas duas patologias. Foram ainda destacados vários estudos que envolveram a pesquisa de mutações do gene *GBA* em populações de doentes com DP e as suas implicações fenotípicas. Na tentativa de explicar a associação entre a presença de mutações no gene *GBA*, o aparecimento de DP e o défice cognitivo observado nestes doentes, vários artigos sobre as diferentes teorias vigentes foram analisados.

2. Métodos

Foi utilizada a base de dados da PubMed (www.pubmed.gov) para a pesquisa de artigos sobre o tema. Foram privilegiados os estudos mais recentes, porém alguns estudos mais antigos foram incluídos pela sua relevância.

3. Doença de Parkinson

3.1. História

Em 1817, James Parkinson identificou em 6 doentes um síndrome desconhecido dos nosologistas daquele tempo, à qual chamou síndrome de *shaking palsy* ou *paralysis agitans*. Os 6 doentes descritos apresentavam tremor de repouso, diminuição da força muscular em determinadas fases do movimento, “passavam de um estado de passo lento para um ritmo de corrida” e tronco em flexão. No entanto, descrições de indivíduos com estas alterações motoras existiram anteriormente à de James Parkinson, já que, Hua’s Zhong Zang Classic no capítulo 37, na sexta dinastia (220-228 DC) apresenta a seguinte citação: “Anda rápido como que correndo involuntariamente incapaz de desacelerar”. Também, Sagar em 1776 descreve: “em Viena observei um homem de 50 anos que corria involuntariamente incapaz de manter a direcção como se evitasse obstáculos; para além disso, sofria de ptialismo” (Weiner, 2008; Lees et al, 2009).

Jean Martin Charcot, o pai da neurologia, decidiu chamar a este síndrome DP, para prestar tributo a James Parkinson por ter sido o primeiro a descrever a doença, mas também porque não estava satisfeito com os nomes *shaking palsy* e *paralysis agitans*, uma vez que nem sempre a paralisia e o tremor estavam presente (Weiner, 2008; Lees et al, 2009).

Para além disso, Charcot contribui para a descrição da DP, uma vez que, observou nos doentes com DP tremor de repouso, recategorizou a diminuição da força muscular como bradicinésia e identificou a presença de rigidez marcada num doente com tremor (Weiner, 2008).

Em 1893, os doentes que apresentavam bradicinésia sem tremor foram incluídos no diagnóstico de DP (Weiner, 2008; Lees et al, 2009).

3.2. Epidemiologia

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais comum e afecta 1% da população mundial com idade superior a 65 anos (Pereira & Garrett, 2010). Esta incidência aumenta com a idade sendo a prevalência em indivíduos com mais de 85 anos de 4% a 5% (Weintraub et al, 2008). Em Portugal, a prevalência da doença, segundo um estudo do Observatório Nacional de Saúde realizado em 2005, é de 392,4/100000 (Pereira & Garrett, 2010). A idade habitual de início da doença é na sexta década de vida. Existem, no entanto, cerca de 10% dos casos de doentes com início precoce antes dos 45 anos. A doença tem uma duração média, a partir do momento do diagnóstico, de 15 anos. Os homens têm um risco 1,5 superior em relação às mulheres de desenvolverem DP (Lees et al, 2009).

3.3. Clínica

A DP tem diferentes formas de apresentação, podendo, no entanto, os sintomas serem desvalorizados pelos doentes, conduzindo a um atraso no diagnóstico. As manifestações motoras características da DP são tremor de repouso, bradicinésia, rigidez e instabilidade postural (Weintraub et al, 2008). Os sintomas iniciam-se de forma assimétrica, e, há medida que a doença vai progredindo, evolui para o lado contralateral (Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009; Hindle, 2010).

O tremor de repouso, presente em cerca de 80% dos doentes (Ben-Shlomo & Sieradzan, 1995; Clarke, 2007; Weintraub et al, 2008), é mais comum nas extremidades distais, normalmente no punho e no polegar, tem uma frequência de 4-6 Hz e pode apresentar-se por movimentos *pill-rolling* do polegar com o indicador. Tremor das pernas em repouso, da mandíbula, da língua também pode estar presente (Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009).

A bradicinésia surge em 80%-90% dos doentes e é a principal causa de incapacidade nos indivíduos com DP. A lentificação dos movimentos pode manifestar-se por dificuldade a levantar-se quando sentado, dificuldade a sair e entrar no carro, hipofonese, expressão facial rígida e imóvel, ptialismo e marcha lenta. A acinésia, incapacidade para iniciar os movimentos, é a tradução de uma bradicinésia extrema. A micrografia manifesta-se quando o doente apresenta bradicinésia e rigidez na mão dominante (Brown et al, 2005; Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009; Hindle, 2010).

Cerca de 90% dos doentes com DP apresentam rigidez, que se traduz como resistência aos movimentos passivos tanto em extensão como em flexão em toda a amplitude do movimento, mais facilmente detectado nas articulações mais distais dos membros. A rigidez pode ser de dois tipos: em roda dentada ou em cano de chumbo. A primeira traduz-se por resistência de intensidade flutuante ao longo do movimento passivo. Na segunda a rigidez é contínua ao longo do movimento passivo (Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009; Hindle, 2010).

A instabilidade postural é um sinal que surge em fases mais avançadas da doença. Os doentes apresentam uma postura encurvada e flectida à deambulação, marcha arrastada com passos curtos, giro em bloco (múltiplos passos para girar) e retropulsão. É uma causa importante de incapacidade, predispondo para quedas (Brown et al, 2005; Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009; Hindle, 2010).

Os doentes com DP não apresentam apenas manifestações motoras. Cerca de 90% dos doentes apresentam pelo menos um sintoma não motor e 10% dos doentes apresentam 5 sintomas não motores. Os sintomas não motores que ocorrem nos indivíduos com DP, apresentadas na Tabela 1, podem agrupar-se em 5 grupos: Neuropsiquiátricas, Transtorno do controlo de impulsos, Doenças do sono, Disfunção autonómica, Disfunção sensorial (Weintraub et al, 2008).

Tabela 1: Sintomas não motores na Doença de Parkinson. (Adaptado de Weintraub et al, 2008).

Categoria	Alterações não motoras
Neuropsiquiátricas	Depressão Ansiedade Alterações cognitivas Demência Confusão ou Delírio Apatia
Transtorno do controlo de impulsos	Comportamento obsessivo Vício do jogo patológico Hipersexualidade Compras compulsivas Compulsão alimentar
Doenças do sono	Insónia Sonolência diurna Síndrome das pernas inquietas Apneia do sono Sonhos vívidos Narcolepsia
Disfunção autonómica	Disfagia Ptialismo Alteração da motilidade gastrointestinal Alterações miccionais Diaforese Hipotensão ortostática Disfunção sexual Xerostomia Obstipação
Disfunção sensorial	Disfunção olfactiva Disestesias Parestesias

Os sintomas não motores que mais contribuem para uma maior incapacidade são a depressão, as alterações cognitivas, demência e a psicose (Weintraub et al, 2008).

A depressão é a alteração neuropsiquiátrica mais frequente, afectando até 50% dos doentes. As alterações cognitivas, caracterizadas por défices nas funções executivas, alterações da memória, défices de atenção e alteração das capacidades visuo-espaciais, afectam cerca de 50% dos doentes sem demência. O número de doentes que apresentam demência varia com a série de indivíduos estudados, mas estima-se que seja de 30%, e surge, normalmente, nas fases mais tardias da doença. A psicose, as alucinações e os pensamentos delirantes são comuns e surgem em 15% a 40% dos doentes, surgindo nas fases mais tardias da doença, estando associadas a doentes com idade avançada, alterações cognitivas, alterações visuais, doenças do sono, depressão e duração longa e com severidade crescente de DP. A disfunção olfactiva surge em 70%-100% dos doentes e surge em fases precoces da doença (Aarsland et al, 2001; Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009).

3.4. Diagnóstico clínico

O diagnóstico de DP é realizado pela observação clínica do doente recorrendo aos critérios estabelecidos pelo *UK Parkinson's Disease Society Brain Bank*, apresentados na Tabela 2. O diagnóstico é maioritariamente baseado na clínica, uma vez que, actualmente, não existe nenhum marcador biológico para a doença e o diagnóstico patológico só pode ser realizado em autópsia (Ben-Shlomo et al, 1995; Leung et al, 2005; Weintraub et al, 2008; Lees et al, 2009). Hughes e colaboradores concluíram que o diagnóstico de DP recorrendo aos critérios clínicos tem uma precisão de 90%. O diagnóstico de DP é feito em três passos (Hughes et al, 1992)

Tabela 2: Critérios clínicos da *UK Parkinson's Disease Society Brain Bank*.
(Adaptado de Hughes et al, 1992).

Primeiro passo: diagnóstico de síndrome Parkinsoniana	Segundo passo: critérios de exclusão da doença de Parkinson	Terceiro passo: identificação de critérios de apoio
Bradicinesia e pelo menos uma das seguintes características: <ul style="list-style-type: none"> • Rigidez • Tremor de repouso com 4-6Hz • Instabilidade postural (sem causa visual, vestibular, cerebelar, ou por distúrbio proprioceptivo) 	História de: <ul style="list-style-type: none"> • Doença cerebrovascular • Traumatismos cranioencefálicos repetidos • Encefalite • Crises oculogiras • Antipsicóticos ou agentes antidopaminérgicos Mais de um familiar afectado Remissão permanente Sintomas unilaterais após 3 anos Paresia supranuclear Sintomas cerebelares Envolvimento autonómico precoce Demência precoce com alterações da memória, linguagem e praxis Sinal de Babinski positivo Tumor cerebral Hidrocéfalo comunicante Resposta negativa à L-dopa Exposição ao MPTP	Para o diagnóstico definitivo de Doença de Parkinson são necessários 3 ou mais dos seguintes critérios: <ul style="list-style-type: none"> • Início unilateral • Resposta excelente à L- dopa (70%-100%) • Tremor de repouso • Doença progressiva • Assimetria persistente afectando mais o lado onde se iniciou o quadro • Coreia severa induzida pela L-dopa • Resposta da L-dopa por 5 anos ou mais anos • Doença com mais de 10 anos de evolução • Hipósmia • Halucinações visuais

3.5. Exames auxiliares de diagnóstico

Alguns exames auxiliares de diagnóstico podem ser utilizados para confirmação do diagnóstico de DP em caso de dúvidas.

A utilização de testes para a avaliação da disfunção do olfacto é simples e a grande maioria dos doentes com DP apresenta défice olfactivo, normalmente, em fases precoces da doença, ao contrário de outras síndromes parkinsonianas (Lees et al, 2009).

A imagiologia por tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) com transportadores de Dopamina (DAT-SPECT) marcados com β -carboxi-iodofenil tropano (β -CIT) permite identificar alterações a nível do sistema de transportador de dopamina estriatal e pode ajudar à realização do diagnóstico de DP. A utilização da ressonância magnética (RM) no diagnóstico de DP permite excluir a presença de causas secundárias de DP ou patologia vascular subcortical (Lees et al, 2009).

Uma vez que 10% dos casos de DP são hereditários a utilização de testes genéticos envolvendo a pesquisa de mutações nos genes associados aos casos hereditários da doença podem ajudar no diagnóstico de DP (Siderowf & Stern, 2008).

3.6. Etiologia

A grande maioria dos casos de DP são casos esporádicos. Muitos estudos na última década tentaram identificar a causa da DP, mas não tiveram sucesso. Hoje em dia, a DP é encarada como uma doença multifactorial em que múltiplos factores de risco, tanto factores genéticos, como factores ambientais, interagem contribuindo para o aumento do risco dos indivíduos virem a desenvolver a doença. A idade é o principal factor associado ao desenvolvimento de DP esporádica e idiopática. A história familiar de doença é um factor de risco para a doença, o que, para além de reflectir a predisposição genética desta doença, foca também a importância de factores de risco partilhados pela família. A exposição a pesticidas, herbicidas e insecticidas são factores associados a um maior risco de desenvolvimento de DP

esporádica. O consumo de café e de chá está associado a uma redução do risco de desenvolvimento de DP (Lees et al, 2009; Pereira & Garrett, 2010).

Apesar de cerca de 90% dos casos de DP serem esporádicos existem 10% dos casos de origem genética em que os indivíduos afectados apresentam história familiar de doença (Weintraub et al, 2008; Hindle, 2010). Até ao momento foram identificados 18 *loci* associados à doença de Parkinson, 15 destes, da PARK-1 à PARK-15, identificados após estudos de *Linkage* e os *loci* PARK-16 ao PARK-18 identificados através de estudos de *genomewide association*. Foi inequivocamente demonstrado que mutações em genes localizados em 6 destes *loci* (*SCNA*, *LRRK2*, *PARK2*, *DJI*, *PINK1* e *ATP13A2*) são responsáveis pelas formas familiares da doença. Os *loci* associados à transmissão autossómica dominante são PARK 1/ PARK4 (*SCNA*) e PARK 8 (*LRRK2*). Os *loci* associados a doença autossómica recessiva são PARK 2 (*parkina*), PARK 6 (*PINK1*), PARK 7 (*DJI*) e PARK 9 (*ATP13A2*). A forma de transmissão dos genes referentes aos *loci* PARK 12 e PARK 13 não está completamente esclarecida (Bekris et al, 2010). Vários estudos demonstram que os dois genes mais frequentemente mutados na DP são o gene *LRRK2* e o gene *parkina*.

O gene *LRRK2*, também conhecido com Dardarina, está localizado no cromossoma 12, na região 12p12, tem 144kb de comprimento e é constituído por 51 exões. A mutação do gene *LRRK2* é a causa mais comum da forma da DP autossómica dominante (Pirkevi et al, 2009).

Este gene codifica a cinase rica em leucina, *LRRK2*, de 2527 aminoácidos (Thomas & Beal, 2007; Pirkevi et al, 2009; Bekris et al, 2010; Seol, 2010), com múltiplos domínios funcionais, nomeadamente, um domínio de repetição rico em leucinas, um domínio Ras de proteínas complexas (ROC), um domínio MAPKKK e um domínio WD40 (Thomas & Beal, 2007; Pirkevi et al, 2009; Bekris et al, 2010; Seol, 2010). As funções da dardarina não são bem conhecidas, mas sabe-se que tem função de tirosina *cinase-like*. O domínio ROC tem a

capacidade de ligar o trifosfato de guanosina (GTP), é essencial para o domínio MAPKKK exercer a sua função de cinase, mas não tem função de GTPase. Acredita-se que os outros domínios têm funções importantes na interacção entre proteínas (Bekris et al, 2010). A expressão da proteína ocorre em vários tecidos, incluindo o sistema nervoso central (córtex cerebral, medula, cerebelo, medula espinhal, *putamen* e *substantia nigra*), coração, rim, pulmão, fígado e leucócitos (Seol, 2010; Bekris et al, 2010). No interior da célula a proteína encontra-se no citoplasma, na membrana externa da mitocôndria, na membrana citoplasmática, nos lisossomas, no aparelho de Golgi, nas vesículas sinápticas e nas vesículas lipídicas (Thomas & Beal, 2007; Bekris et al, 2010; Seol, 2010).

Até ao momento, foram descritas mais de 40 mutações *missense* ou *nonsense* do gene *LRRK2*, mas, destas, apenas 6 mutações foram, comprovadamente, associadas ao desenvolvimento da doença (R1441C, R1441G, R1441H, Y1699C, G2019S e I2020T) (Bekris et al, 2010). A mutação mais frequente é a G2019S, correspondendo a 85% das mutações encontradas no gene *LRRK2* em doentes com DP. A sua frequência varia nas diferentes regiões geográficas, sendo a sua frequência mundial de 1% para os casos esporádicos e 4% nos pacientes com DP hereditária. A frequência mais elevada da mutação G2019S foi encontrada na população árabe do Norte de África (36% dos casos de DP hereditária e 39% dos casos de DP esporádica) e em Judeus Ashkenazi (28% dos casos hereditários de DP e 10% dos casos esporádicos de DP). A frequência desta mutação é mais elevada na população do Sul da Europa do que na população do Norte da Europa. Em Portugal, a mutação está presente em 4% dos doentes com DP esporádica e 14% dos doentes com DP hereditária (Healy et al, 2008).

A penetrância da mutação é incompleta e dependente da idade. Um consórcio de 21 centros da América do Norte e da Europa determinaram que a penetrância da mutação

G21019S é de 28% aos 59 anos, 51% aos 69 anos e de 74% aos 79 anos (Healy et al, 2008). Para Hardy e colaboradores esse facto não enfraquece a hipótese da patogenicidade de G2019S, mas pode explicar a existência de casos aparentemente esporádicos em indivíduos com esta mutação (Hardy et al, 2006).

O gene da parkina localiza-se no cromossoma 6, na região 6q26, tem um comprimento de 1,38Mb e é constituído por 12 exões (Thomas & Beal, 2007; Pirkevi et al, 2009; Bekris et al, 2010; Nuytemans et al, 2010). As mutações no gene da parkina são a causa genética mais comum nos casos de DP de início precoce (Marder et al, 2010).

Codifica uma proteína com 465 aminoácidos composta por três domínios. Tem um domínio N-terminal *ubiquitin-like*, um domínio C-terminal *RING box* e uma região de ligação PDZ. O domínio *RING box* pode ainda dividir-se em três domínios: um *RING 1*, um *RING 2* e uma região rica em cisteína IBR (*in between RING*) (Thomas & Beal, 2007; Pirkevi et al, 2009; Nuytemans et al, 2010).

A parkina é uma proteína do citoplasma, no entanto, podemos encontrá-la na membrana externa da mitocôndria, no retículo citoplasmático, nas vesículas sinápticas e no complexo de Golgi (Pirkevi et al, 2009; Bekris et al, 2010). A proteína tem função de E3 ubiquitina-ligase que forma um complexo com a proteína E2 via o domínio *RING*, permitindo a ubiquitinação de proteínas celulares para degradação via ubiquitina-proteossoma. Este processo é importante para a degradação de proteínas disfuncionais (Thomas & Beal, 2007; Pirkevi et al, 2009; Bekris et al, 2010; Nuytemans et al, 2010).

A probabilidade de encontrar mutações na parkina está inversamente associada à idade. Assim, para indivíduos com idade inferiores a 30 anos a frequência da mutações encontrada foi de 37% enquanto que para indivíduos com idades compreendidas entre 30 a 45 foi de

apenas 6% (Marder et al, 2010). As mutações da *parkina* são responsáveis por DP com início em idades precoces, entre a infância e a quarta década (Bekris et al, 2010). Até ao momento foram descritas 100 mutações para o gene da *parkina*, incluindo mutações *missense*, *nonsense*, deleções, rearranjos e multiplicações (Pirkevi et al, 2009; Bekris et al, 2010). As mutações neste gene vão alterar a localização celular da proteína, a solubilidade da proteína e a sua propensão da proteína para formar agregados (Bekris et al, 2010). Actualmente, é controverso se os indivíduos heterozigóticos para a mutação da *parkina* tem um risco aumentado para o desenvolvimento de DP. No entanto, são necessários estudos de maior escala para determinar o papel da heterozigotia deste gene como factor de risco para DP (Klein et al, 2007).

Recentemente, foi descrito que mutações em heterozigotia no gene glucocerebrosidase (*GBA*) são um factor de risco para o desenvolvimento de DP, acarretando um risco 5 vezes superior do portador vir a desenvolver DP em relação à população geral (Lees et al, 2009; Mitsui et al, 2009; Sidransky et al, 2009).

3.7. Fisiopatologia

A DP caracteriza-se por perda dos neurónios dopaminérgicos e neuromelanina da *substantia nigra pars compacta* e pela depleção de dopamina no estriato. Existem múltiplos mecanismos propostos para o desencadeamento da morte celular, no entanto ainda não se conhece o peso de cada um destes mecanismos e a relevância destes para o desenvolvimento da doença (Levy et al, 2009).

Os corpos de Lewy são, actualmente, o marcador neuropatológico para o diagnóstico de DP. São constituídos por agregados de proteínas insolúveis, maioritariamente, α -sinucleína (Schulz-Schaeffer, 2010). Os corpos de Lewy, estruturas esféricas, com 8-30 μm , com um

centro hialino rodeado por um anel periférico (Lees et al, 2009), localizam-se, preferencialmente, nos locais de maior perda neuronal, ou seja, na *substantia nigra* e no *locus coeruleus*. A classificação de Braak estagia a DP segundo as alterações patológicas presentes, baseadas na localização dos corpos de Lewy. O estadio 1 caracteriza-se por corpos de Lewy confinados ao núcleo motor dorsal e ao bulbo olfativo. No estadio 2 encontramos corpos de Lewy na ponte e na medula. O estadio 3 caracteriza-se pela presença de corpos de Lewy no mesencéfalo. No estadio 4 encontram-se corpos de Lewy no prosencéfalo e no mesocórtex. No estadio 5 e 6 observam-se corpos de Lewy nas áreas neocorticais (Hindle, 2010; Braak et al, 2003).

A α -sinucleína é uma proteína pré-sináptica associada às membranas, que está presente nas vesículas sinápticas e nas vesículas lipídicas. A α -sinucleína pode sofrer agregação, sendo este processo fundamental para neurodegeneração. A α -sinucleína monomérica é solúvel. As formas oligoméricas, também chamadas de protofibrilhas, também são solúveis, e podem coalescer originando fibrilhas insolúveis (Levy et al, 2009).

Actualmente, acredita-se que as protofibrilhas solúveis são as maiores responsáveis pela neurodegeneração e o mecanismo de lesão mediado pela α -sinucleína está relacionado com lesão sináptica, sendo a morte celular um processo secundário (Schulz-Schaeffer, 2010). A lesão sináptica, causada por pequenos agregados de α -sinucleína, pode causar retracção das espinhas dendríticas por interferência com a libertação de neurotransmissores (Schulz-Schaeffer, 2010). As protofibrilhas de α -sinucleína podem formar estruturas porosas que permeabilizam as membranas conduzindo à morte celular (Schulz-Schaeffer, 2010; Levy et al, 2009).

Os corpos de Lewy e a agregação da α -sinucleína podem resultar da disfunção dos sistemas de degradação de proteínas, quer através do sistema ubiquitina-proteossoma (SUP),

quer do sistema da autofagia-lisossoma (ilustrados na Figura 1). A disfunção mitocondrial, o stress oxidativo e a desregulação do cálcio são outros mecanismos propostos (Levy et al, 2009).

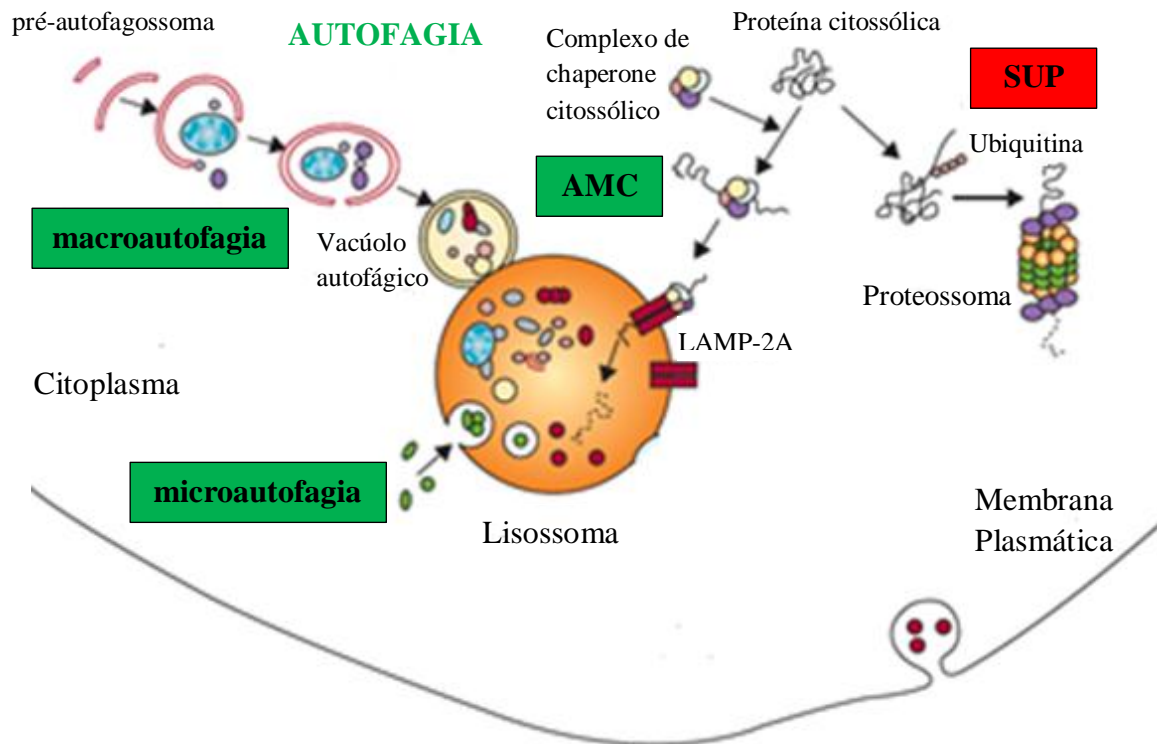


Figura 1 - Sistemas de degradação de proteínas. (Adaptado de Martinez-Vicente & Cuervo, 2007)

O SUP é um mecanismo que permite às células regular os níveis intracelulares de proteínas, bem como degradar proteínas com conformação anómala, como os agregados de α -sinucleína. O proteossoma é um grande complexo multiproteico que degrada proteínas marcadas com ubiquitina. Uma série de enzimas chamadas de ligases E1, E2 e E3 são responsáveis pela ligação da ubiquitina às proteínas alvo. A actividade do proteossoma diminui com a idade, particularmente nos neurónios da *substantia nigra pars compacta*, o que pode explicar a selectividade da vulnerabilidade destas células (Levy et al, 2009). A identificação do SUP enquanto mecanismo fisiopatológico envolvido na DP ganhou especial importância após a identificação do gene Parkina, que codifica uma proteína que actua como

mediador da ubiquitinação da glucocerebrosidase com função de E3 ubiquitina-ligase (Levy et al, 2009).

Outro sistema de degradação celular é o sistema autofagia-lisossoma, que permite a degradação de componentes intracelulares e que parece ter um papel importante na neurodegeneração. Existem três principais tipos de autofagia: macroautofagia, autofagia mediada por chaperones (AMC) e microautofagia. A macroautofagia é responsável pela degradação de agregados de proteínas e organelos citoplasmáticos, como a mitocôndria. A AMC (proteínas de choque térmico) é responsável pela degradação de proteínas citoplasmáticas, predominantemente solúveis, com uma determinada sequência alvo, que são transportadas para o interior do lisossoma através do transportador LAMP2A (*lysosomes-associated membrane protein 2A*). A microautofagia é um processo de degradação que consiste no sequestro directo do material a ser degradado pela membrana lisossoma (Cheung & Ip, 2009; Levy et al, 2009).

Vários estudos demonstram que estes mecanismos são importantes para a regulação da α -sinucleína. As formas solúveis da α -sinucleína sofrem degradação preferencial via SUP ou por AMC. As formas insolúveis de α -sinucleína sofrem degradação via macroautofagia. As formas mutantes de α -sinucleína inibem a AMC, uma vez que, apresentam grande afinidade na ligação ao receptor LAMP2A, inibem o transporte mediado pelo receptor, conduzindo à acumulação de α -sinucleína mas também de outros substractos. Para além da degradação da α -sinucleína, a via macroautofágica é responsável pelo turnover da mitocôndria. A disfunção deste organelo é um dos mecanismos propostos para a fisiopatologia da DP (Cheung & Ip, 2009; Levy et al, 2009).

Os neurónios são células metabolicamente muito activas e dependentes do metabolismo aeróbio. A disfunção mitocondrial pode levar à diminuição da síntese de ATP, aumento da

produção de substâncias reactivas do oxigénio e têm um papel fundamental na regulação da apoptose (Levy et al, 2009). A primeira vez que a disfunção mitocondrial foi descrita estava associada ao défice do complexo I da mitocôndria (Schapira & Gegg, 2011). A disfunção mitocondrial pode resultar de mutação de genes nucleares responsáveis pela regulação da função mitocondrial. Assim, a falha na degradação da mitocôndria pela disfunção do mecanismo de macroautofagia pode ser, portanto, um mecanismo patogénico na DP (Levy et al, 2009).

O stress oxidativo é um factor inegável na fisiopatologia da DP bem patente pela presença de lesão do DNA, peroxidação lipídica, oxidação proteica, níveis reduzidos de glutathiona e aumento da deposição de ferro no cérebro de indivíduos com DP, no entanto, existe a duvida se a sua presença é um achado tardio ou precoce da lesão neuronal (Levy et al, 2009). A dopamina pode ter um papel importante enquanto fonte de espécies reactivas do oxigénio, o que explicaria a selectividade da degeneração das células da *substantia nigra pars compacta* (Levy et al, 2009).

As células têm ainda um terceiro mecanismo para degradação de proteínas anómalas ou com conformação alterada, a via do stress do retículo endoplasmático. Este mecanismo tem três fases. A primeira consiste na diminuição da produção de novas proteínas que necessitariam de adquirir uma outra conformação. A segunda resulta na expressão dos genes envolvidos na conformação das proteínas. Na terceira fase há degradação das proteínas pelo proteossoma após transporte destas proteínas do retículo endoplasmático para o citoplasma. A activação prolongada do stress do retículo endotelial conduz à activação de mecanismos que promovem a morte celular. Desta forma, este mecanismo funciona como protector e agressor no contexto de DP, dependendo do grau e duração de activação (Levy et al, 2009).

O íão cálcio é um componente muito importante na sinalização nos neurónios. Os seus níveis citoplasmáticos são muito bem regulados, tendo conhecidos efeitos neurotóxicos quando se encontra desregulado. O aumento da concentração do cálcio activa várias vias pelas quais ocorre morte celular como a disfunção mitocondrial, stress oxidativo, disfunção do reticulo endotelial e desregulação da sinalização via enzimas dependentes do cálcio (Levy et al, 2009).

A inflamação é um processo que contribui para a neurodegeneração, tanto pela activação das células da glia, como pela libertação de moléculas inflamatórias. Não é, no entanto, um mecanismo fisiopatológico exclusivo de DP estando presente em outras doenças neurodegenerativas (Chung et al, 2010). A análise de cérebros de doentes com DP revela microgliose e astrocitose, bem como um aumento de citocinas e COX2 (Levy et al, 2009).

4. Doença de Gaucher

4.1. Epidemiologia

A Doença de Gaucher (DG) foi descrita pela primeira vez em 1882 por Philippe Gaucher numa mulher de 34 anos com hepatoesplenomegália, dor abdominal, hemorragia, com 31 kg à altura da autópsia com um baço de 5 kg (Hruska et al, 2008).

A DG é a doença lisossomal mais prevalente a nível mundial, tem uma forma de transmissão autossómica recessiva, sendo bastante comum na população de judeus Ashkenazi, na qual a incidência é de 1 em cada 855 indivíduos. Na população Portuguesa é de 1,4 em 100 000 recém-nascidos vivos (Sidransky, 2004; Pinto et al, 2004; Hughes, 2009). A DG resulta de uma deficiência na enzima glucocerebrosidase ou, em casos raros, da deficiência do co-factor da enzima, a saposina C, e caracteriza-se pela acumulação do seu substrato, a glucosilceramida (Sidransky, 2004; Hughes & Pastore, 2010). A enzima cataliza a hidrólise da glucosilceramida em ceramida e glucose (Bras et al, 2008), mas tem também a capacidade de metabolizar outros glucolípidos, como o glucosilesfingosina, uma forma deacilada da glucosilceramida (Hughes & Pastore, 2010).

4.2. Fisiopatologia

Na microscopia óptica, encontramos acumulação de lípidos no sistema retículo-endotelial, visualizando-se lisossomas engorgitados com lípidos nos macrófagos (Sidransky, 2004). Esses macrófagos, chamados de células de Gaucher, tem cerca de 20-100µm de

diâmetro com um núcleo excêntrico, com um citoplasma estriado e são células PAS (coloração ácido periódico-Schiff) positivas (Sidransky, 2004; Hughes & Pastore, 2010).

Os substratos da enzima glucocerebrosidase e acumulam-se no plasma e nos tecidos dos indivíduos com DG. Esta acumulação lipídica é responsável pelo aparecimento das células de Gaucher e, aparentemente, todas as células da linhagem macrocítica parecem estar envolvidas na fisiopatologia da DG. Estes macrófagos acumulam-se a nível do baço, fígado, medula óssea e osso. Acredita-se que a acumulação de lípidos nos macrófagos leva à mudança das moléculas de superfície destas células e à produção de citocinas diferentes da via de activação clássica (Hughes & Pastore, 2010).

Encontramos, portanto, elevados níveis de interleucina-1b, antagonista de receptor interleucina-1, IL-6, TNF- α , M-CSF e receptor solúvel da IL-2 CD14. A osteopenia pode ser provocada pela IL-1b, TNF- α , IL-6 e IL-10, um estado procoagulante pode surgir pela IL-1b, TNF- α e IL-6 e gamopatias e mieloma múltiplo pela IL-6 e IL-10 (Hughes & Pastore, 2010).

A acumulação de substrato pode desencadear outros mecanismos responsáveis pelas lesões na DG, nomeadamente, pela via do stress do retículo endoplasmático e pela alteração da homeostase do cálcio (Hughes & Pastore, 2010).

A alteração da conformação da enzima glucocerebrosidase induz a activação da via do stress do retículo endoplasmático, com degradação da enzima com conformação anómala pelo SUP (Hughes & Pastore, 2010).

A glucosilceramida aumenta a libertação de cálcio, via indução do agonista, dos compartimentos intracelulares através do receptor da rianodina, o que pode resultar em morte celular, sendo este o mecanismo proposto para a fisiopatologia da DG neuropática (Hughes & Pastore, 2010).

4.3. Clínica

Clinicamente estes doentes podem apresentar uma grande variabilidade de fenótipos podendo ir desde morte *in útero* até doentes assintomáticos (Sidransky, 2004). A doença é dividida em três tipos clínicos de acordo com a sua progressão, idade de início e comprometimento neurológico (Sidransky, 2004).

Assim, os doentes com tipo 1 caracterizam-se por não apresentarem alterações neurológicas representando cerca de 95% dos doentes com DG (Amaral et al, 2000; Sidransky, 2004). Incidência deste tipo da doença é de cerca de 1/10000 (Trindade e Silva et al, 2007). A idade de início dos sintomas pode variar, sendo comum o seu aparecimento na idade adulta. Existem, no entanto, casos que permanecem assintomáticos durante toda a vida, sendo portanto desconhecida a incidência real da DG tipo 1. Estes doentes apresentam organomegália (hepatomegália e esplenomegália), anemia, trombocitopenia e envolvimento ósseo (Sidransky, 2004).

Os doentes com o tipo 2 caracterizam-se pelo aparecimento da doença na infância e por alterações neurológicas (Sidransky, 2004). É uma forma rara de apresentação surgindo em cerca de 1/100000 de recém-nascidos (Trindade e Silva et al, 2007). Surge, na maioria dos casos, nos primeiros 6 meses de vida, apresentando, estes indivíduos, deterioração neurológica rápida e progressiva, envolvimento visceral extenso e severo, acabando por levar ao óbito destes indivíduos nos primeiros anos de vida (Westbroek et al, 2011).

O primeiro sinal de disfunção do sistema nervoso central é, frequentemente, a disfunção do oculomotor (estrabismo, sacadas, paralisia ou parésia bulbar). Estas alterações podem ser acompanhadas por hipertonia, rigidez, opistotonus e disfagia à medida que o envolvimento

neurológico vai evoluindo. A doença pode manifestar-se ainda no meio intra-uterino por hidrósia fetal não-imune ou ictiose congénita (Westbroek et al, 2011; Sidransky, 2004).

Os doentes classificados no tipo 3 tem sintomas neuropáticos subagudo, que progridem mais lentamente do que no tipo 2 (Sidransky, 2004; Amaral et al, 2000). A incidência desta forma da DG é de 1/50000 entre suecos Norrbotten (Trindade e Silva et al, 2007). Estes doentes têm um curso da doença mais grave que os doentes com tipo 1, mas surge mais tardiamente do que o tipo 2 e apresentam envolvimento visceral, alterações oculares com movimentos sacádicos horizontais, podendo desenvolver mioclonias, ataxia, convulsões, demência e calcificações da aorta (Sidransky, 2004; Westbroek et al, 2011).

4.4. Etiologia

A DG é uma doença autossómica recessiva que resulta, portanto, da presença de mutações em ambos os alelos do gene *GBA*.

4.4.1. Estrutura e função do gene *GBA*

O gene *GBA* encontra-se no cromossoma 1, na região 1q21, tem 7,6 kb de comprimento, compreendendo 11 exões e 10 intrões (Hruska et al, 2008; Hughes & Pastore, 2010). A região onde se encontra o gene *GBA* é extremamente rica em genes, sendo possível encontrar na região de 85 kb no braço longo do cromossoma 1, 7 genes funcionais e 2 pseudogenes. A 16 kb da porção 3' terminal do gene *GBA* encontra-se um pseudogene com 5,7 kb de comprimento com a mesma organização de exões e intrões que o gene *GBA*, com deleção de

55bp no exão 9 e 96% de homologia com o *GBA* (Sidransky, 2004; Hruska et al, 2008; Hughes & Pastore, 2010).

O gene funcional mais próximo é o da metaxina que se localiza a jusante do *GBA*, sendo transcrito convergentemente com o *GBA*. Também existe um pseudogene da metaxina que se localiza entre o *GBA* e o pseudogene *GBA* (Sidransky, 2004; Hruska et al, 2008).

O cDNA do gene *GBA* tem aproximadamente 2 kb. Existem dois codões de iniciação, um no exão 1 e outro no exão 2, e ambos são traduzidos eficientemente, produzindo dois polipeptídeos diferentes. As proteínas produzidas contêm um polipeptídeo sinalizador de 39 e 19 resíduos, respectivamente, que são processados durante a passagem pelo retículo endoplasmático numa enzima funcional de 497 resíduos (Hruska et al, 2008). A enzima é constituída por 4 cadeias de oligossacarídeos ligadas a resíduos de asparagina, tendo uma conformação tridimensional composta por 3 domínios não contíguos estabilizados por 3 pontes dissulfito (Hughes & Pastore, 2010). A glicosilação é essencial para o desenvolvimento da conformação cataliticamente activa da enzima (Liou et al, 2006), cujo local catalítico se encontra no domínio 3. A análise tridimensional da estrutura da proteína não revelou correlação entre a localização espacial das mutações e a severidade da doença. A função dos domínios 1 e 2 é desconhecida, mas os resultados funcionais das mutações nesses locais sugerem que são importantes para a função da enzima (Hughes & Pastore, 2010).

A enzima glucocerebrosidase é uma hidrolase lisossómica solúvel podendo estar associada à membrana (Alattia et al, 2007). Estudos realizados em fibroblasto revelam que após a sua síntese, a enzima é transportada para o interior do lisossoma onde tem uma semi-vida de 60 horas, sendo a glicosilação muito importante para a sua manutenção (Liou et al, 2006). Mutações no gene *GBA* vão comprometer a função da glucocerebrosidase levando a

uma acumulação de substrato que pode atingir 20 a 100 vezes os seus valores normais nos tecidos (Hughes & Pastore, 2010).

A acção catalítica da glucocerebrosidase tem duas etapas. A primeira consiste na glucosilação do local activo pelo substrato. Na segunda etapa ocorre a desglucosilação com libertação de uma molécula de β -glucose. A base de Lewis neste local activo é o Glu340 e o resíduo ácido-base é o Glu235. A ligação O-glicosídica do substrato é protonada pelo Glu235 e quebrada, subsequentemente, pelo Glu340. Estas reacções levam à libertação da ceramida e à ligação covalente da glucose à enzima. Por fim, a glucose é libertada do resíduo Glu340 por desprotonação da água pelo resíduo Glu235 e quebra da ligação enzima-glucose pelo OH^- (Liou et al, 2006).

A proteína saposina C constituída por 80 aminoácidos, associada à fosfatidilserina, actua como cofactor da *GBA*. A saposina C tem ainda a função de protecção da proteólise da enzima *GBA* e interage com os lípidos permitindo uma maior acessibilidade dos *headgroups* à hidrolase (Hughes & Pastore, 2010; Sun et al, 2010).

4.4.2. Mutações

Foram descritas até ao momento mais de 300 mutações do gene *GBA* (Velayati et al, 2010). Estas podem ser mutações *missense*, *nonsense*, *splicing*, deleções e inserções de um ou mais nucleotídeos e alelos complexos resultantes da conversão, recombinação e duplicação com o pseudogene (Hruska et al, 2008; Hughes & Pastore, 2010). Na população de origem Europeia as duas mutações mais frequentes são a N370S e a L444P, correspondendo a 2 terços dos alelos encontrados em indivíduos com DG (Bekris et al, 2010).

Na população de Judeus Ashkenazi com DG a mutação mais encontrada foi a N370S assim como em doentes portugueses com DG (Bekris et al, 2010).

O genótipo que classicamente está associado ao tipo 1 é o N370S em homozigotia ou em compostos heterozigóticos (Sidransky, 2004), no entanto, a possibilidade de fazer previsões a partir do genótipo encontrado são extremamente limitadas (Hruska et al, 2008).

A mutação N370S, localizada no exão 9, resulta de uma troca da adenina pela guanina no nucleótido 1226. Esta mutação provoca a substituição de um aminoácido de asparagina por serina no codão 370 da glucocerebrosidase (Tsuji et al, 1988).

A transição de um nucleótido de timina por uma citosina no nucleótido 1448, no exão 10 do gene *GBA*, resulta na troca de um aminoácido de leucina por um de prolina no resíduo 444 da proteína funcional e a esta mutação chama-se L444P. Esta mutação pode ocorrer ainda por recombinação com o pseudogene *GBA*, uma vez que, a posição homóloga é ocupada pela citosina (Tsuji et al, 1987).

As mutações recombinantes do gene *GBA* resultam do elevado grau de homologia e da proximidade ao pseudogene. A recombinação pode surgir por *crossing over* desigual entre o gene e o pseudogene ou por eventos de conversão do gene funcional. Os locais de eventos de recombinação são variáveis, podendo ocorrer desde o intrão 2 até ao exão 11. Mais ainda, os mecanismos de recombinação podem diferir, surgindo tanto por recombinação recíproca como por recombinação não recíproca (Hruska et al, 2008).

Deste modo, o alelo recombinante *RecNciI* é frequentemente detectado pela pesquisa de mutações associadas ao pseudogene como L444P e A456P. No entanto, a pesquisa de mutações associadas a alelos recombinante não permite encontrar todos os alelos recombinantes. Para melhor descrever o alelo recombinante devemos utilizar a combinação

entre a sequenciação directa e a análise por *Southern blot*. Quando se identificam mutações associadas ao pseudogene, deve-se realizar a sequenciação do gene inteiro, pesquisando alterações exónicas e intrónicas entre o *GBA* e o pseudogene *GBA*, a fim de definir o comprimento da sequência incorporada. O *Southern blot* permite distinguir se o rearranjo resulta de conversão, de duplicação ou de deleção (Hruska et al, 2008).

5. Associação entre a Doença de Gaucher e a Doença de Parkinson

A ligação entre a DG e o Parkinsonismo foi detectada pela observação clínica de sintomas parkinsónicos em doentes com DG (Tayebi et al, 2001). O fenótipo parkinsónico nos indivíduos com DG pode variar desde DP sensível à L-dopa, até demência rapidamente progressiva. A forma mais comum de parkinsonismo nos indivíduos com sintomas ligeiros de DG é tremor, bradicinésia, rigidez e, frequentemente, défice cognitivo com início em idades precoces e refractário à L-dopa (Sidransky, 2004).

Para além disso, observou-se uma maior incidência de DP em familiares de indivíduos afectados pela DG (Tayebi et al, 2003; Goker-Alpan et al, 2004).

Em consequência destas observações, múltiplos estudos almejavam identificar a frequência de mutações no gene *GBA* na população de doentes com DP. O estudo realizado por Lwin e colaboradores em 2003, que consistiu na avaliação de amostra cerebrais de 57 indivíduos com DP com diagnóstico clínico ou patológico e de amostras cerebrais de 44 indivíduos sem DP, conclui que as mutações do gene *GBA* são mais prevalentes nos indivíduos com DP do que nos controlos (prevalência nos indivíduos com DP foi de 21%, enquanto que nos controlos foi de 4,5%). Para além disso, observaram que os indivíduos portadores de mutação manifestavam a doença em idades mais precoces (Lwin et al, 2004).

Também, os estudos realizados por Gan-Or e colaboradores em 2008 e em 2009 em populações de judeus Ashkenazi com DP, revelaram que os doentes portadores da mutação num dos alelos do gene *GBA* tinham um início da doença, em média, 3,5 anos mais cedo que indivíduos sem mutações (Gan-Or et al, 2008, 2010). Mais ainda, verificou que as mutações “mais severas” estavam associadas a um aparecimento da doença 5 anos antes da idade média de aparecimento da doença nos indivíduos sem mutação, ao passo que as mutações “menos

severas” estavam associadas ao aparecimento da doença 3,5 anos mais cedo que os indivíduos sem mutações (Gan-Or et al, 2008). Identificou, também que doentes portadores de mutações no gene *GBA* tinham um risco superior de desenvolver bradicinésia (Gan-Or et al, 2010).

Em 2009, um estudo que envolveu 12 países, que compilou os resultados obtidos por 16 centros internacionais, com uma amostra de 5691 doentes e 4898 controlos, identificou uma associação positiva entre as mutações no gene *GBA* e a DP, bem como, identificou o aparecimento da doença em idades mais precoces em comparação com indivíduos com DP sem mutações no gene *GBA*. Neste estudo observou-se que a análise das mutações em alguns centros consistiu apenas na determinação das duas mais frequentes (L444P e N370S) e noutros centros envolveu a sequenciação completa do gene *GBA*. Verificou-se que a idade de aparecimento da doença em indivíduos portadores de mutações no gene *GBA* foi 3,9 anos mais cedo do que nos indivíduos sem mutação. A apresentação clínica da doença não foi muito diferente entre o grupo dos indivíduos portadores e não portadores de mutações, no entanto verificou-se menor incidência de bradicinésia, tremor de repouso, início assimétrico e rigidez (Sidransky et al, 2009).

Com este grande estudo multicêntrico foi possível afirmar que existe uma associação positiva entre a presença de mutações em heterozigotia do gene *GBA* e que nestes indivíduos a idade de início da doença é mais precoce.

A frequência das mutações no gene *GBA* foi calculada em vários estudos para diferentes populações. Assim, na população portuguesa de doentes com DP a frequência de portadores é de 6,1% (Bras et al, 2009), na população de doentes ingleses é de 4,2% (Neumann et al, 2009) e a frequência de portadores é de 4,7% nos doentes gregos (Kalinderi et al, 2009).

O estudo realizado por Clark e colaboradores em 2009, realizado em 187 indivíduos com diagnóstico neuropatológico de doenças com corpos de Lewy (DP e Demência com corpos de Lewy), com ou sem doença de Alzheimer, 60 casos de indivíduos com doença de Alzheimer sem corpos de Lewy, e uma população controlo de 32 indivíduos, em que verificaram que os indivíduos com Demência com corpos de Lewy tinham uma maior frequência de mutações no gene *GBA* que os controlos (Clark et al, 2009). Para além disso, foi observado em vários estudos uma maior frequência das mutações no gene *GBA* em indivíduos com corpos de Lewy corticais do que em indivíduos com corpos de Lewy limitados ao tronco cerebral (Goker-Alpan et al, 2006; Clark et al, 2009).

Foi assim validado uma ligação entre a presença de mutações do gene *GBA*, a DP associada a um início em fases mais precoces e a relação com o aparecimento de demência que motivou a pesquisa de uma possível relação entre as mutações de gene *GBA* e o fenótipo de défice cognitivo e demência em DP.

5.1. Défice cognitivo

Deste modo, Neumann e colaboradores, em 2009, estudaram 790 pacientes britânicos com DP, foi realizada a pesquisa de 14 mutações no gene *GBA* e a avaliação clínica dos doentes. A idade de início da doença nos portadores da mutação era 6 anos mais cedo que nos indivíduos sem mutação. Verificou-se ainda que 38% dos indivíduos portadores da mutação apresentavam DP de início precoce, ou seja, que surge antes dos 50 anos e observou que nesta série de doentes de DP, 48% dos doentes portadores de mutação apresentaram sintomas de défice cognitivo ou demência, sendo que 40% dos doentes com défice cognitivo apresentavam DP de início precoce (Neumann et al, 2009).

Também, reforçando o aumento da prevalência de alterações cognitivas nos indivíduos com mutações no gene *GBA* e com DP, Setó-Salvia e colaboradores estudaram, em 2011, uma população de 225 indivíduos com DP idiopática, 17 indivíduos com Demência de corpos de Lewy e uma população de 186 controlos, tendo sido sequenciada toda a região codificante do gene *GBA*. Todos os participantes eram Europeus de raça caucasiana. As mutações no gene *GBA* estavam presentes em 9,8% dos indivíduos com DP, em 11,8% dos indivíduos com Demência de corpos de Lewy e em apenas 0,5% da população de controlo. O alelo mais frequente nos indivíduos com DP foi o L444P (frequência de 27,2%), e a segunda mutação mais frequente nestes indivíduos foi N370S (frequência de 22,7%). A idade de início da doença nos doentes com mutações no gene *GBA* foi mais precoce do que nos indivíduos sem mutações no gene *GBA*, no entanto, esta diferença não apresentou significância estatística. Para a análise entre a associação entre as mutações no gene *GBA* e o défice cognitivo, foi comparado o aparecimento de demência com a presença ou ausência de mutações, concluindo-se que nos indivíduos portadores de mutações no gene *GBA* o aparecimento de demência foi bastante mais frequente do que nos indivíduos sem mutações (50% vs 24%) (Setó-Salvia et al, 2011).

No entanto, nem sempre se tem observado défice cognitivo aumentado em doentes com DP portadores de mutação no gene *GBA*, nomeadamente, este achado não foi verificado em dois estudos para a população Japonesa e Francesa (Lesage et al, 2011; Mitsui et al, 2009).

5.2. Mecanismos fisiopatológicos

Apesar de ter sido validado que as mutações em heterozigotia do gene *GBA* são um factor de risco para a DP o mecanismo fisiopatológico envolvido ainda não se encontra totalmente

esclarecido, existindo várias teorias que tentam explicar a que nível e de que forma, as alterações metabólicas resultantes do gene *GBA* mutado podem desencadear o aparecimento das manifestações parkinsónicas (Aharon-Peretz et al, 2004; Sidransky, 2004; Bras et al, 2008; DePaolo et al, 2010).

Teorias de ganho e perda de função foram propostas na tentativa de elucidar os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na DP associada a mutações do gene *GBA*. As teorias de ganho de função sugeriam o contributo da enzima glucocerebrosidase para a agregação de α -sinucleína, enquanto que nas teorias de perda de função a doença resultaria de função deficiente da enzima glucocerebrosidase (Velayati et al, 2010).

As mutações com ganho de função resultam da acumulação tóxica da β -glucocerebrosidase, que pode conduzir a insuficiência do sistema lisossomal por alteração dos mecanismos de autofagia-lisossoma ou pela sobrecarga do SUP. Os mecanismos por perda de função propostos resultam da alteração da composição lipídica das células (Goldin, 2010; Velayati et al, 2010).

A acumulação da glucocerebrosidase com uma conformação anómala no lúmen do retículo endoplasmático conduz ao stress do retículo que leva à activação do SUP para degradação das proteínas. A glucocerebrosidase anómala sofre ubiquitinação e é degradada. A parkina, sendo uma E3 ubiquitina-ligase, actua como mediador da ubiquitinação da glucocerebrosidase. Nos casos em que o stress sobre o retículo endoplasmático persiste, há activação de sinais que levam à morte celular. A parkina actua no sentido de reduzir a toxicidade do stress sobre o retículo endoplasmático nestas situações ligando-se à glucocerebrosidase anómala e por conseguinte vai haver acumulação dos seus substratos naturais, tais como a α -sinucleína que irá agregar e que acabará por conduzir à morte celular (Ron et al, 2010; Velayati et al, 2010).

A α -sinucleína é uma proteína solúvel que se liga aos lípidos das membranas plasmáticas e das vesículas sinápticas. Assim, mutações no gene *GBA* com perda de função que resultam na acumulação de lípidos, nomeadamente, esfingolípidos, podem conduzir à alteração da composição das membranas, libertando a α -sinucleína, levando à sua agregação e formando fibrilhas de amiloide insolúvel. Neste caso, o tipo de lípidos que constituem as vesículas são relevantes para o tipo de interacção que se estabelece (Velayati et al, 2010).

A disfunção do lisossoma pode provocar o desequilíbrio da homeostase lipídica. Nesta situação, a desregulação do transporte de lípidos e colesterol do lisossoma, conduzem a um aumento do tamanho do lisossoma e à interrupção da proteólise, o que provoca um aumento dos níveis de proteínas não degradadas. Para além disso, os níveis de ceramida são extremamente bem regulados, por múltiplas vias metabólicas (Bras et al, 2008; DePaolo et al, 2010; Goldin, 2010; Velayati et al, 2010).

Em 2009, o Dr. Stanly Prusiner colocou a hipótese de a α -sinucleína se comportar como um prião. Os priões são pequenas proteínas hidrofóbicas que podem mudar de conformação em determinadas condições. A α -sinucleína sofreria então alterações na sua conformação que conduziriam à sua agregação em determinadas células. Consequentemente, deslocar-se-ia entre as células neuronais, infectando outras moléculas de α -sinucleína noutras células. Finalmente, a infecção atingiria a *substantia nigra*, zona extremamente rica em α -sinucleína (Goldin, 2010).

Nesta situação, a célula responsável pela lesão é o macrófago. Acredita-se que estas células podem funcionar de duas formas, como transportadores do prião para o sistema nervoso, ou podem combater a infecção por destruição da proteína. Na DG, os macrófagos são as células mais afectadas, acumulando vesículas lipídicas, por incapacidade de degradação das membranas glicolípídicas durante a fagocitose de glóbulos vermelhos, originando

membranas intracelulares. A α -sinucleína é uma proteína sanguínea que quando ingerida pelos macrófagos, e entrando em contacto com as vesículas ricas em glucosilceramida, sofrem reorganização da sua estrutura, adquirindo a forma de prião, tendo também a capacidade de sofrer agregação. Se estas células libertarem o seu conteúdo na vizinhança de um neurónio, desencadeia-se um ciclo de transformação de outras moléculas de α -sinucleína que vão agregar-se culminando com o aparecimento de DP (Goldin, 2010).

Nos portadores de mutações no gene *GBA*, a lesão por priões, seria explicada pela *two hit theory*, em que, ocorreria uma mutação somática no alelo não mutado do *GBA* num precursor dos macrófagos. Desta forma, como o número de células com ambos os alelos mutados é pequena, o genótipo identificado seria de heterozigotia para a mutação do gene *GBA* (Goldin, 2010).

6. Considerações finais

A presença de mutações no gene *GBA* é considerada um factor de risco para o desenvolvimento da DP. Os mecanismos fisiopatológicos que explicam essa relação não estão completamente elucidados, mas tem vindo a ser sugerido que a glucocerebrosidase e a α -sinucleína estejam implicadas numa via comum por acumulação de proteínas resultante de défice dos mecanismos de degradação de proteínas, alteração da composição lipídica e transmissão de priões.

Os estudos realizados recentemente na população de doentes com DP permitiram identificar o surgimento da doença em idades mais precoces, mas também uma maior frequência de défice cognitivo nos indivíduos portadores de mutações no gene *GBA*. No entanto, a presença de défice cognitivo não foi ainda validado para todas as populações estudadas. Neste sentido, um maior número de estudos será necessário para confirmar esta associação.

7. Agradecimentos

A realização desta tese, apesar de ser apresentada a título individual, contou com o apoio de várias pessoas, tanto a nível científico como a nível pessoal, às quais não posso deixar de agradecer.

Assim sendo, quero expressar os meus sinceros agradecimentos à Dra. Maria do Rosário Almeida, orientadora desta tese, e à Dra. Maria Cristina Januário Santos, co-orientadora desta tese, pelo seu apoio, competência, rigor e pela disponibilidade que sempre demonstraram.

À minha família, em especial ao meu pai, pelo apoio, incentivo e paciência que tiveram comigo, tendo sido indispensáveis para conseguir concretizar mais esta etapa importante da minha formação.

8. Bibliografia

- Aarsland D, Andersen K, Larsen J P, Lolk A, Nielsen H, Kragh-Sørensen P (2001) Predictors of nursing home placement in Parkinson's disease: a population-based, prospective study. *J Am Geriatr Soc* 48(8): 938-942.
- Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R (2004) Mutations in the Glucocerebrosidase Gene and Parkinson's Disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 351: 1972-1977.
- Alattia J R, Shaw J E, Yip C M, Privé G G (2007) Molecular imaging of membrane interfaces reveals mode of β -glucosidase activation by saposin C. *PNAS*; 104(44): 17394-17399.
- Amaral O, Marcão A, Sá Miranda M, Desnick R J, Grace M E (2000) Gaucher disease: expression and characterization of mild and severe acid beta-glucosidase mutations in Portuguese type 1 patients. *Eur J Hum Genet.* 8(2): 95-102.
- Bekris L M, Mata I F, Zabetian C P (2010) The genetics of Parkinson Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 23(4): 228-242.
- Ben-Shlomo Y, Sieradzan K (1995) Idiopathic parkinsons disease: epidemiology, diagnosis and management. *British Journal of General Practice* 45: 261-268.
- Braak H, Del Trdici K, Rüb U, de Vos R A, Jansen Steur E N, Braak E (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 24(2): 197-211.
- Bras J, Paisan-Ruiz C, Guerreiro R, Ribeiro MH, Morgadinho A, Januario C, Sidransky E, Oliveira C, Singleton A (2009) Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Portugal. *Neurobiol Aging.* 30(9): 1515-7.

Bras J, Singleton A, Cookson M R, Hardy J (2008) Emerging pathways in genetic Parkinson's disease: Potential role of ceramide metabolism in Lewy body disease. *FEBS Journal* 275(23): 5767-5773.

Brown R C, Lockwood A H, Sonawane B R (2005) Neurodegenerative Diseases: An Overview of Environmental Risk Factors. *Environmental Health Perspectives* 113: 1250-1256.

Cheung Z H, Ip N Y (2009) The emerging role of autophagy in Parkinson's disease. *Molecular Brain* 2: 29.

Chung Y C, Ko H W, Bok E, Park E S, Huh S H, Nam J H, Jin B K (2010) The role of neuroinflammation on the pathogenesis of Parkinson's disease. *BMB Rep.* 43(4): 225-32.

Clark L N, Kartsaklis L A, Wolf Gilbert R, Dorado B, Ross B M, Kisselev S, Verbitsky M, Mejia-Santana H, Cote LJ, Andrews H, Vonsattel J P, Fahn S, Mayeux R, Honig L S, Marder K (2009) Association of glucocerebrosidase mutations with dementia with lewy bodies. *Arch Neurol.* 66(5): 578-83.

Clarke C E (2007) Parkinson's disease, *BMJ* 335: 441-445.

DePaolo J, Goker-Alpan O, Samaddar T, Lopez G, Sidransky E (2010) The association between mutations in the lysosomal protein glucocerebrosidase and parkinsonism. *Mov Disord* 24(11): 1571-1578.

Gan-Or Z, Bar-Shira A, Mirelman A, Gurevich T, Kedmi M, Giladi N, Orr-Urtreger A (2010) LRRK2 and GBA mutations differentially affect the initial presentation of Parkinson disease. *Neurogenetics.* 11(1): 121-125.

Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, Shifrin C, Rosner S, Gurevich T, Bar-Shira A, Orr-Urtreger A (2008) Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology*. 70(24): 2277-2283.

Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, Nussbaum RL, McInerney-Leo A, Sidransky E (2004) Parkinsonism among Gaucher disease carriers. *J Med Genet*. 41(12): 937-40.

Goker-Alpan O, Giasson BI, Eblan MJ, Nguyen J, Hurtig HI, Lee VM, Trojanowski JQ, Sidransky E (2006) Glucocerebrosidase mutations are an important risk factor for Lewy body disorders. *Neurology*. 67(5): 908-10.

Goldin E (2010) Gaucher disease and parkinsonism, a molecular link theory. *Mol Genet Metab*. 101(4): 307-10.

Hardy J, Cai H, Cookson MR, Gwinn-Hardy K, Singleton A (2006) Genetics of Parkinson's disease and parkinsonism. *Ann Neurol*. 60(4): 389-98.

Healy D G, Falchi M, O'Sullivan SS, Bonifati V, Durr A, Bressman S, Brice A, Aasly J, Zabetian CP, Goldwurm S, Ferreira JJ, Tolosa E, Kay DM, Klein C, Williams DR, Marras C, Lang AE, Wszolek ZK, Berciano J, Schapira AH, Lynch T, Bhatia KP, Gasser T, Lees AJ, Wood NW (2008) Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2 – associated Parkinson's disease: a case-control study. *Lancet Neurol*. 7(7): 583-90.

Hindle J V (2010) Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. *Age and Ageing* 39: 156-161.

Hruska K S, LaMarca M E, Scott C R, Sidransky E (2008) Gaucher Disease: Mutation and Polimorphism Spectrum in the Glucocerebrosidase Gene. *Human Mutation* 29(5): 567-583.

- Hughes D A (2009) Enzyme, substrate, and myeloma in Gaucher disease. *American Journal of Hematology*. 84: 199–201.
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ (1992) Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 55(3): 181-4.
- Hughes D A, Pastores G M (2010) The pathophysiology of GD – current understanding and rationale for existing and emerging therapeutic approaches. *Wiener Medizinische Wochenschrift* 160/23-24: 594-599.
- Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Paisan-Ruiz C, Katsarou Z, Hardy J, Fidani L (2009) Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Greece. *Neurosci Lett*. 2009 452(2): 87-9.
- Klein C, Lohmann-Herich K, Rogaeve E, Schlossmacher M G, Lang A E (2007) Deciphering the role of heterozygous mutations in genes associated with parkinsonism. *Lancet Neurol* 6(7): 652-62.
- Lees A J, Hardy J, Revesz T (2009) Parkinson's disease. *Lancet* 373(9680): 2055-66.
- Lesage S, Anheim M, Condroyer C, Pollak P, Durif F, Dupuits C, Viallet F, Lohmann E, Corvol JC, Honoré A, Rivaud S, Vidailhet M, Dürr A, Brice A (2011) Large-scale screening of the Gaucher's disease-related glucocerebrosidase gene in Europeans with Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*. 20(1): 202-210.
- Leung H, Mok V (2005) Parkinson's disease: aetiology, diagnosis, and management. *Hong Kong Med J* 11: 476-89.

- Levy O A, Malagelada C, Greene LA (2009) Cell death pathways in Parkinson's disease: proximal triggers, distal effectors, and final steps. *Apoptosis*. 14(4): 478-500.
- Liou B, Kazimierczuk A, Zhang M, Scott C R, Hedge R S, Grabowski G A (2006) Analyses of variant acid- β -glucosidases: effects of Gaucher disease mutations. *J Biol Chem* 281 (7): 4242-4253.
- Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E (2004) Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab*. 81(1): 70-3.
- Marder K S, Tang M X, Mejia-Santana H, Rosado L, Louis E D, Comella C L, Colcher A, Siderowf A D, Jennings D, Nance M A, Bressman S, Scott W K, Tanner C M, Mickel S F, Andrews H F, Waters C, Fahn S, Ross B M, Cote L J, Frucht S, Ford B, Alcalay R N, Rezak M, Novak K, Friedman J H, Pfeiffer R F, Marsh L, Hiner B, Neils G D, Verbitsky M, Kisselev S, Caccappolo E, Ottman R, Clark L N (2010) Predictors of Parkin Mutations in Early-Onset Parkinson Disease. *Arch Neurol*. 67(6): 731-738.
- Martinez-Vicente M, Cuervo A M (2007) Autophagy and neurodegeneration: when the cleaning crew goes on strike. *Lancet Neurol*. 6(4): 352-61.
- Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, Ashida R, Takahashi Y, Goto J, Fukuda Y, Date H, Iwata A, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T, Tsuji S (2009) Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* 66(5): 571-6.
- Neumann J, Bras J, Deas E, O'Sullivan SS, Parkkinen L, Lachmann RH, Li A, Holton J, Guerreiro R, Paudel R, Segarane B, Singleton A, Lees A, Hardy J, Houlden H, Revesz T, Wood N W (2009) Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. *Brain*. 132(7): 1783-1794.

- Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C (2010) Genetic Etiology of Parkinson Disease Associated with Mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 Genes: A Mutation Update. *Hum Mutat.* 31(7): 763–780.
- Pereira D, Garrett C (2010) Factores de risco da Doença de Parkinson: Um Estudo Epidemiológico. *Acta Med Port* 23: 15-24.
- Pinto R, Caseiro C, Lemos M, Lopes L, Fontes A, Ribeiro H, Pinto E, Silva E, Rocha S, Marcão A, Ribeiro I, Lacerda L, Ribeiro G, Amaral O, Miranda M C S (2004) Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet.* 12: 87–92.
- Pirkevi C, Lesage S, Brice A, Başak A N (2009) From genes to proteins in mendelian Parkinson's disease: an overview. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology* 292(12): 1893-901.
- Ron I, Rapaport D, Horowitz M (2010) Interaction between parkin and mutant glucocerebrosidase variants: possible link between Parkinson disease and Gaucher disease. *Human Molecular Genetics* 19(19): 3771-3781.
- Schapira A H V, Gegg M (2011) Mitochondrial Contribution to Parkinson's Disease Pathogenesis. *Parkinson's Disease*. Article ID 159160.
- Schulz-Schaeffer W J (2010) The synaptic pathology of α -synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathol.* 120: 131-143.
- Seol W (2010) Biochemical and molecular features of LRRK2 and its pathophysiological roles in Parkinson's disease. *BMB reports* 43(4): 233-244.

Setó-Salvia N, Pagonabarraga J, Houlden H, Pascual-Sedano B, Dols-Icardo O, Tucci A, Paisán-Ruiz C, Campolongo A, Antón-Aguirre S, Martín I, Muñoz L, Bufill E, Vilageliu L, Grinberg D, Cozar M, Blesa R, Lleó A, Hardy J, Kulisevsky J, Clarimón J (2011) Glucocerebrosidase mutations confer a greater risk of dementia during Parkinson's disease course. *Mov Disord.* doi: 10.1002.

Siderowf A, Stern M (2008) Premotor Parkinson's disease: clinical features, detection, and prospects for treatment. *Ann Neurol* 64(suppl 1): S139-S147.

Sidransky E (2004) Gaucher disease: complexity in a "simple" disorder. *Molecular Genetics and Metabolism* 83: 6-15.

Sidransky E, Nalls M A, Aasly J O, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa E R, Bar-Shira A, Berg D, Bras J, Brice A, Chen C M, Clark L N, Condroyer C, De Marco E V, Dürr A, Eblan M J, Fahn S, Farrer M J, Fung H C, Gan-Or Z, Gasser T, Gershoni-Baruch R, Giladi N, Griffith A, Gurevich T, Januario C, Kropp P, Lang A E, Lee-Chen GJ, Lesage S, Marder K, Mata I F, Mirelman A, Mitsui J, Mizuta I, Nicoletti G, Oliveira C, Ottman R, Orr-Urtreger A, Pereira LV, Quattrone A, Rogaeva E, Rolfs A, Rosenbaum H, Rozenberg R, Samii A, Samaddar T, Schulte C, Sharma M, Singleton A, Spitz M, Tan E K, Tayebi N, Toda T, Troiano A R, Tsuji S, Wittstock M, Wolfsberg TG, Wu Y R, Zabetian CP, Zhao Y, Ziegler SG (2009) Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 361(17): 1651-61.

Sun Y, Liou B, Ran H Skelton M R, Williams M T, Vorhees C V, Kitatani K, Hannun Y A, Witte D P, Xu Y H, Grabowski G A (2010) Neuropathic Gaucher disease in the mouse: viable combined selective saposin C deficiency and mutant glucocerebrosidase (V394L)

mice with glucosylsphingosine and glucosylceramide accumulation and progressive neurological deficits. *Hum Mol Genet* 19(6): 1088-97.

Tayebi N, Callahan M, Madike V, Stubblefield B K, Orvisky E, Krasnewich D, Fillano J J, Sidransky E (2001) Gaucher disease and parkinsonism: a phenotypic and genotypic characterization. *Mol Genet Metab* 73: 313-321.

Tayebi N, Walker J, Stubblefield B K, Orvisky E, LaMarca M E, Wong K, Roseunbaum H, Schiffmann R, Bembi B, Sidransky E (2003) Gaucher disease with parkinsonian manifestations: does glucocerebrosidase deficiency contribute to a vulnerability to parkinsonism. *Mol Genet Metab* 76: 104-109.

Thomas B, Beal M F (2007) Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics* 16(2): R183-R194.

Trindade e Silva L P, Silva H, Cabrera H (2007) Doença de Gaucher. *Acta Med Port* 20: 175-178.

Tsuji S, Choudary P V, Martin B M, Stubblefield B K, Mayor J A, Barranger J A, Ginns E I (1987) A mutation in the glucocerebrosidase gene in neuropathic Gaucher's disease. *N Engl J Med* 316: 570-575.

Tsuji S, Martin B M, Barranger J A, Stubblefield B K, LaMarca M E, Ginns E I (1988) Genetic heterogeneity in tipe I Gaucher disease: multiple genotypes in Ashkenazic and non-Ashkenazic individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 2349-2352.

Velayati A, Yu W H, Sidransky E (2010) The Role of Glucocerebrosidase Mutations in Parkinson Disease and Lewy Body Disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep* 10: 190-198.

Weiner W J (2008) There is no Parkinons Disease. *Arch Neurol* 65(6): 705-708.

Weintraub D, Comella C L, Horn S (2008) Parkinson's – Part 1: Pathophysiology, Symptoms, Burden, Diagnosis, and Assessment. *Am J Manag Care* 14: S40-S48.

Westbroek W, Gustafson AM, Sidransky E (2011) Exploring the link between glucocerebrosidase mutations and parkinsonism. *Trends Mol Med*. 17(9): 485-93.