

Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

Abordagem de aspectos genéticos do Parkinsonismo Atípico por meio de análises moleculares e de biologia de sistemas com foco em genes de doenças lisossômicas

Amanda Pasqualotto

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Profa. Dra. Ida Vanessa Doederlein Schwartz

Co-orientador: Dra. Marina Siebert

Porto Alegre

Abril, 2024

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

A presente tese foi desenvolvida na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular do departamento de Genética, utilizando as dependências do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), o Centro de Pesquisa Clínica, o Centro de Pesquisa Experimental, Laboratório *Basic Research and Advanced Investigations in Neuroscience* (BRAIN) e o Ambulatório de Distúrbios do Movimento do HCPA.

O trabalho teve apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo seguinte Edital Universal CNPq, Chamada MCTI/CNPQ No 28/2018, Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundo de Incentivo à pesquisa e Eventos do HCPA (FIPE – HCPA).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos os pacientes e familiares que confiaram em nosso estudo e generosamente aceitaram participar da pesquisa. Conhecer cada um de vocês e aprender com suas histórias foi uma experiência incrível e enriquecedora.

À Profa. Ida Schwartz, minha orientadora, meu sincero agradecimento por aceitar guiar-me nessa jornada e por proporcionar um ambiente de aprendizado tão enriquecedor. Seu comprometimento com a genética médica inspirou-me profundamente, e suas palavras de encorajamento foram fundamentais nos momentos em que duvidei de mim mesma.

Agradeço especialmente à Marina Siebert por sua disposição constante em ouvir minhas dúvidas e ideias, e por sua habilidade em apontar novos caminhos para a pesquisa. Sua orientação foi inestimável para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Artur Schumacher Schuh e ao Prof. Rieder por seu valioso apoio e orientação em relação ao ambulatório de distúrbios do movimento do HCPA. Sua expertise e dedicação foram pilares essenciais para o desenvolvimento e conclusão desta tese.

Ao Prof Richard Finnell, meu orientador durante o doutorado-sanduíche. Agradeço profundamente pela oportunidade de conhecê-lo e aprender com sua vasta experiência. Suas orientações não apenas no âmbito científico, mas também em aspectos da vida, foram inestimáveis para o meu crescimento pessoal e acadêmico. Agradeço também a toda a equipe do laboratório por sua acolhida calorosa e pelo apoio constante durante os seis meses em que estive aí. Vocês foram verdadeiramente maravilhosos e fizeram com que eu me sentisse em casa.

À Profa. Fernanda Sperb Ludwig por sua orientação e ensinamentos valiosos ao longo do período de doutorado.

Às minhas colegas de ambulatório e coleta de dados, Paula e Cíntia, e ao Matheus, gostaria de agradecer pelas inúmeras horas dedicadas nos consultórios para coleta de dados dos pacientes

Ao Everaldo por sua incrível disposição em ajudar em todos os aspectos. Desde a obtenção de um simples reagente até questões mais complexas, ele sempre encontrava uma maneira de oferecer assistência.

Ao Elmo por sua constante ajuda e apoio em todas as questões relacionadas ao PPGBM, desde a seleção até a finalização do doutorado.

Aos meus estimados colegas do laboratório BRAIN, Dévora, Rafael, Gustavo, Mariana, Gabriela e Débora. Sua presença constante foram fundamentais para o progresso deste trabalho. Sempre disponíveis para ouvir, discutir sobre experimentos e oferecer assistência nas análises, vocês tornaram essa jornada muito mais tranquila e enriquecedora.

Aos meus amigos Jéssica, Ana e Gabriel, companheiros desde a época de iniciação científica. Obrigada por estarem sempre dispostos a me ajudar, ouvir e compartilhar momentos inesquecíveis. Desde os dias de estudo intenso até os momentos de lazer, vocês estiveram ao meu lado, trazendo alegria e apoio constantes.

Aos meus amigos e colegas da UNISINOS, especialmente ao Felipe e ao Igor. Durante a fase final do doutorado, quando estávamos sobrecarregados de trabalho, vocês sempre estiveram presentes para me animar e encorajar.

Aos meus amigos e segunda família nos EUA, Cristal, Mateus e Estela. Vocês fizeram uma diferença imensa em minha vida durante o período do doutorado-sanduíche. Seu apoio inabalável, amizade sincera e cuidado constante foram como incríveis nos momentos desafiadores.

Ao meu companheiro de vida, Nataniel. Tive a grande honra de conhecê-lo no laboratório quando ele estava prestes a defender o doutorado, e desde então, sua presença tem sido um apoio inestimável em minha jornada. Meu amor, obrigado por tudo. Sem você, tenho certeza de que esses anos de doutorado teriam sido muito mais desafiadores. Sua presença, apoio e incentivo constante foram fundamentais para eu chegar até aqui. Sou profundamente grata por sua companhia, compreensão e amor, que tornaram cada obstáculo mais suportável e cada conquista mais significativa.

Aos meus pais por seu apoio constante e por estarem sempre presentes para me acompanhar em mais um sonho, desta vez, o doutorado. Seu amor incondicional, encorajamento e sacrifícios ao longo dos anos foram fundamentais para o meu sucesso.

E por fim à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro concedido durante este doutorado. Sem o suporte dessas instituições, este trabalho não teria sido possível. Seu compromisso com o avanço da pesquisa científica e o desenvolvimento acadêmico é fundamental para o progresso da ciência em nosso país.

SUMÁRIO

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Doenças Neurodegenerativas	14
1.2 Parkinsonismo	17
1.3 Parkinsonismo atípico.....	18
1.3.1 Atrofia de múltiplos sistemas	19
1.3.2 Demência com corpos de Lewy.....	21
1.3.3 Degeneração corticobasal	23
1.3.4 Paralisia Supranuclear Progressiva.....	26
1.3.5 Fatores de risco para Doenças Neurodegenerativas	30
1.3.6 Lisossomos e neurodegeneração	31
1.3.7 Lisossomos	32
1.3.8 Doenças Lisossômicas de depósito.....	33
1.3.9 Distúrbios de armazenamento lisossômico e lipídios	36
1.3.10 Genes de doenças lisossômicas nos casos de Parkinsonismo.....	36
1.3.11 Gene <i>GBA1</i>	38
1.3.12 Gene <i>LIPA</i>	39
1.3.13 Gene <i>NPC1</i> e <i>NPC2</i>	40
1.3.14 Gene <i>SMPD1</i>	40
1.3.15 Gene <i>PSAP</i>	41
2. OBJETIVOS.....	42
3. JUSTIFICATIVA	43
4. RESULTADOS	45
4.1 Capítulo 1	46
4.2 Capítulo 2	58
5. DISCUSSÃO.....	59

6.	CONCLUSÕES	63
7.	PERPECTIVAS.....	65
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
9.	ANEXOS.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α	Letra grega alfa
AMS	Atrofia de múltiplos sistemas
ABraOM	Arquivo Brasileiro Online de Mutações
<i>APP</i>	Gene da proteína precursora da amiloide
DA	Doença de Alzheimer
DCB	Degeneração corticobasal
DCL	Demência com corpos de Lewy
DG	Doença de Gaucher
DLD	Doença de lisossômica de depósito
<i>GBA1</i>	Gene da glucosilceramidase beta 1
GCase	enzima lisossomal glucocerebrosidase
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
<i>MAPT</i>	Gene da proteína tau associada aos microtúbulos
<i>NPC1</i>	Gene transportador intracelular de colesterol NPC 1
<i>NPC2</i>	Gene transportador intracelular de colesterol NPC 2
<i>LIPA</i>	Gene lipase A, tipo de ácido lisossomal
<i>PSAP</i>	Gene prosaposina
PA	Parkinsonismo atípico
SMPD1	Gene da esfingomielina fosfodiesterase 1.
<i>SNCA</i>	Gene da alfa sinucleína
SCB	Síndrome corticobasal

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 - β -amiloide, Tau, and α -Synucleina. Patologias proteicas sobrepostas de $A\beta$, tau e α -Syn em diversas doenças neurodegenerativas.	14
Figura 2 - Achados imuno-histoquímicos do CBD.	25
Figura 3 - Características histopatológicas da PSP.	28

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 – Causas das doenças de armazenamento lisossômico, as organelas afetadas e os principais locais de patologia.	35
Tabela 2 - Parkinsonismo atípico e genes de doenças lisossômicas.....	38

RESUMO

Introdução: O parkinsonismo atípico (PA) consiste nas seguintes doenças: paralisia supranuclear progressiva (PSP), atrofia de múltiplos sistemas (AMS), degeneração corticobasal (DCB) e demência de corpos de Lewy (DCL). Alguns genes foram implicados como potencialmente envolvidos na fisiopatologia das formas de PA. Já se sabe que pacientes com doença de Gaucher (DG) que apresentam variantes patogênicas em ambos os alelos do gene *GBA1* e seus familiares apresentaram sinais de parkinsonismo com mais frequência do que o esperado. Além disso, outros genes relacionados a doenças lisossômicas distintas da DG parecem estar relacionados ao parkinsonismo. O conhecimento dos fatores genéticos e dos mecanismos moleculares envolvidos no PA permitiu ampliar o conhecimento dessas doenças. Sendo o PA uma doença rara e complexa, a utilização de ferramentas de biologia de sistemas poderá contribuir para a compreensão das bases moleculares desta doença.

Objetivos: Identificar e analisar aspectos genéticos e metabólicos do parkinsonismo atípico, visando a compreensão dos mecanismos subjacentes a essa condição.

Métodos: Capítulo 1: Foi conduzida uma busca sistemática na base de dados DisGeNET. As ferramentas STRING 11.0 e Cytoscape 3.8.2 foram utilizadas para análise da rede de interação proteína-proteína (PPI). Capítulo 2: Foram incluídos 23 pacientes que atendiam aos critérios diagnósticos atuais para PAs. Todos os exons dos genes lisossômicos *GBA1*, *SMPD1*, *LIPA*, *NPC1*, *NPC2* e *PSAP* foram sequenciados por sequenciamento de nova geração.

Resultados: Capítulo 1: A busca sistemática no banco de dados DisGeNET identificou 485 genes envolvidos com PA. Sobrepondo esses genes, conseguimos detectar um total de 31 genes *hub-bottleneck* para os 4 tipos de PA. Além disso, nossas análises de enriquecimento funcional demonstraram o envolvimento desses genes *hub-bottleneck* em três vias *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) principais, as quais estão relacionadas à doença de Parkinson, de Alzheimer e do metabolismo do colesterol. Capítulo 2: Seis pacientes com PA apresentaram variantes heterozigóticas localizadas nos genes-alvo. Essas variantes também foram encontradas em 7 controles (pacientes com suspeita de doença lisossômica de depósito). Variantes no *GBA1* foram encontradas em 2 pacientes e em 2 controles, sendo elas: p.Glu365Lys no paciente com AMS e em dois controles e

p.Arg534Cys no paciente com PSP; variantes no *NPCI* foram encontradas em 3 pacientes: p.Asn222Ser no paciente com PSP e paciente com AMS, e p.Pro434Ser no paciente com PSP e em 3 controles. A variante *NPC2* p.Val30Met foi encontrada em um paciente com AMS; e a variante *SMPDI* p.Gly492Ser foi encontrada em um paciente com DCL.

Conclusão: Nossas investigações levaram à conclusão de que as seis variantes nos genes ligados a doenças lisossômicas apresentam uma possível associação com o PA. A aplicação de uma abordagem de biologia de sistemas revelou a identificação de 31 genes *hub-bottleneck*, notavelmente interconectados, sugerindo seu importante papel na patogênese do PA. Esses achados proporcionam uma compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes à doença, destacando a complexa rede de interações genéticas envolvidas. Esses 31 genes identificados como centrais e altamente interligados podem desempenhar um papel-chave na progressão e no desenvolvimento do PA.

ABSTRACT

Introduction: Atypical parkinsonism (AP) consists of the following diseases: progressive supranuclear palsy (PSP), multiple system atrophy (MSA), corticobasal degeneration (CBD) and Lewy body dementia (LBD). Some genes have been implicated as potentially involved in the pathophysiology of forms of AP. It is already known that patients with Gaucher disease (GD) who present pathogenic variants in both alleles of the *GBA1* gene and their relatives show signs of parkinsonism more frequently than expected. Furthermore, other genes related to lysosomal diseases separate from GD appear to be related to parkinsonism. Knowledge of the genetic factors and molecular mechanisms involved in AP has allowed us to expand our knowledge of these diseases. As AP is a rare and complex disease, the use of biological systems tools may contribute to understanding the molecular basis of this disease.

Aim: identify and analyze genetic and metabolic aspects of atypical parkinsonism, improving understanding of the mechanisms underlying this condition.

Methods: Chapter 1: A systematic search of the DisGeNET database. The STRING 11.0 and Cytoscape 3.8.2 tools were used to analyze the protein-protein interaction (PPI) network. Chapter 2: 23 patients who met current diagnostic criteria for PAs were included. All exons of the lysosomal genes *GBA1*, *SMPD1*, *LIPA*, *NPC1*, *NPC2* and *PSAP* were sequenced by next generation sequencing.

Results: Chapter 1: A systematic search of the DisGeNET database deals with 485 genes involved in PA. Overlapping these genes, we were able to detect a total of 31 hub-bottleneck genes for the 4 types of AP. Furthermore, our functional enrichment analyzes implicate the involvement of these hub-bottleneck genes in three major Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways, which are related to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, and cholesterol metabolism. Chapter 2: Six patients with PA had heterozygous variants located in target genes. These variants were also found in 7 controls (patients with suspected lysosomal storage disease). Variants in *GBA1* were found in 2 patients and 2 controls, namely: p.Glu365Lys in the patient with AMS and two controls and p.Arg534Cys in the patient with PSP; variants in *NPC1* were found in 3 patients: p.Asn222Ser in the PSP patient and AMS patient, and p.Pro434Ser in the PSP patient and 3 controls. The *NPC2* p.Val30Met variant was found in a patient with AMS; and the *SMPD1* p.Gly492Ser variant was found in a patient with DLB.

Conclusion: Our investigations led to the conclusion that the six variants in genes related to lysosomal diseases have a possible association with AP. Application of a systems biology approach revealed the identification of 31 remarkably interconnected hub-bottleneck genes, showing their important role in the pathogenesis of AP. These findings provide insight into the molecular mechanisms underlying the disease, highlighting the complex network of genetic interactions involved. These 31 genes identified as central and highly interconnected may play a key role in the progression and development of AP.

APRESENTAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO DA TESE

Parkinsonismo atípico (PA) refere-se a um conjunto de doenças que se apresentam com manifestações clínicas de uma síndrome parkinsoniana associada a outros sinais e sintomas distintivos da doença de Parkinson (DP). Além dos sinais cardinais da DP, tais como tremor, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural, encontramos outras manifestações neurológicas associadas (Deuschländer *et al.*, 2018).

O grupo de PA é constituído pelas seguintes doenças: paralisia supranuclear progressiva (PSP), atrofia de múltiplos sistemas (AMS), degeneração corticobasal (DCB) e demência por corpúsculos de Lewy (DCL) (Giagkou; Stamelou, 2018). Atualmente, não existe um tratamento específico para PSP, AMS, DCB e DCL. A farmacoterapia é baseada em medicamentos para amenizar alguns dos sintomas. Um diagnóstico acurado das formas de PA é complicado, e isso se dá principalmente devido à variabilidade fenotípica, sobreposição de sintomas entre os PAs e a falta de testes doença-específicos por meio de biomarcadores (Hirschbichler *et al.*, 2017). Apesar de não se conhecer a etiologia dos PAs, estudos vêm sugerindo que há uma contribuição de vias lisossômicas no mecanismo dessas doenças (Asselta *et al.*, 2014; Lwin *et al.*, 2004; Sidransky *et al.*, 2010).

O conhecimento de fatores genéticos e de mecanismos moleculares envolvidos no PA tem possibilitado ampliar o entendimento dessas doenças. Sendo o PA uma doença rara e complexa, o uso de ferramentas de biologia de sistemas poderá contribuir na caracterização de genes *hub-bottleneck* (genes que possuem maiores interações em uma via), juntamente com a identificação de suas vias metabólicas para maior entendimento das bases desta doença.

Diante das questões expostas, a presente tese de doutorado organiza-se em 2 capítulos, que visam avaliar as variantes e os genes relacionados ao Parkinsonismo atípico.

A primeira parte da tese é composta pela introdução e pelos objetivos da tese. O **Capítulo 1** é referente ao artigo “*Identification of metabolic pathways and key genes associated with Atypical Parkinsonism using a systems biology approach*”, publicado na revista *Metabolic Brain Disease* (Springer Nature). Nele buscou-se caracterizar os genes *hub-bottleneck* para cada tipo de PA, as vias biológicas, bem como as associações genéticas, o que poderia contribuir para a compreensão das bases moleculares do PA utilizando uma abordagem de biologia de sistemas.

O **Capítulo 2** corresponde ao artigo “*Lysosomal disease variants in Brazilian patients with atypical parkinsonism syndromes and the relationship of lysosomal disease variants*” em fase de elaboração e fechamento. Este estudo foi contemplado com o apoio financeiro do CNPq Edital Universal CNPq, Chamada MCTI/CNPQ No 28/2018.

A parte final traz a discussão, as conclusões e as perspectivas, relacionando os resultados encontrados a cada um dos objetivos da tese.

Por fim, na seção de anexos, estão disponíveis todos os materiais referentes à aprovação ética e ao aceite dos artigos que compõem a tese. Estão disponíveis, também, os demais artigos científicos publicados pela autora durante o período do doutorado, bem como outras produções relevantes.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doenças Neurodegenerativas

Os distúrbios neurodegenerativos podem ser amplamente classificados por suas apresentações clínicas, sendo os distúrbios do movimento extrapiramidais e piramidais e os distúrbios cognitivos ou comportamentais os mais comuns. Geralmente os pacientes irão apresentar distúrbios mistos e, alguns poucos, podem apresentar distúrbios definidos como puros. Apesar das doenças neurodegenerativas serem tipicamente definidas por acúmulos de proteínas específicas e vulnerabilidade anatômica, as mesmas podem compartilhar processos fundamentais associados à disfunção neuronal progressiva e morte, como estresse proteotóxico e suas anormalidades concomitantes na ubiquitina, função lisossomal, estresse oxidativo, indução de morte celular programada celular programada e neuroinflamação. O diagnóstico padrão-ouro atual é a avaliação neuropatológica na autópsia (Dugger; Dickson, 2017; Gibb; Lees, 1988; Schmidt *et al.*, 2001).

As doenças neurodegenerativas mais comuns são amiloidoses, tauopatias e sinucleinopatias (Figura 1). Conformações anormais de proteínas nesses distúrbios e sua distribuição celular e neuroanatômica constituem as principais características histopatológicas da doença (Sengupta; Kaye, 2022).

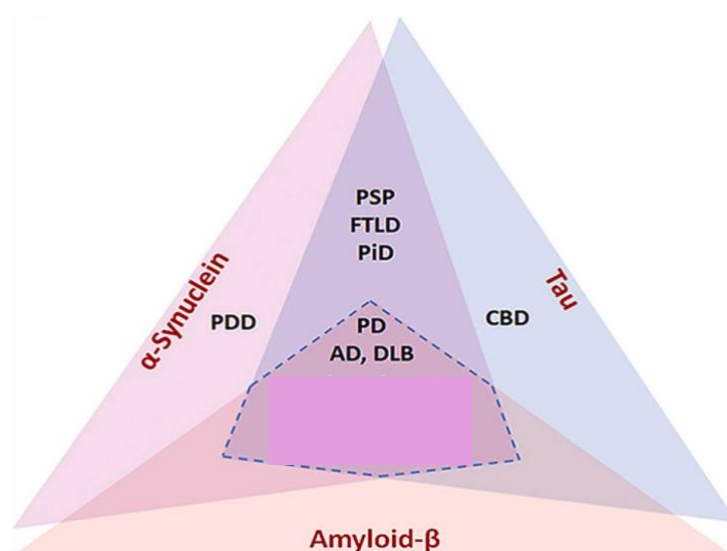


Figure 1 - β -amiloide, Tau, and α -Synucleina. Patologias proteicas sobrepostas de $\alpha\beta$, tau e α -Syn em diversas doenças neurodegenerativas. PSP: Paralisia supranuclear progressiva CBD: degeneração corticobasal. DLB: demência com corpos de Lewy. FTLD: Degeneração lobar frontotemporal. AD: doença de Alzheimer. PDD:

Doença de Parkinson desenvolve demência, PiD: doença de Pick Adaptado de Urmi Sengupta, Rakez Kayed,(2022).

As tauopatias são constituídas por um grupo de doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer (DA), paralisia supranuclear progressiva (PSP), doença de Pick (PiD) e degeneração corticobasal (DCB). São distúrbios heterogêneos caracterizados pela deposição da proteína tau, que é associada a microtúbulos e encontrada em axônios no cérebro. A distinção entre tauopatias primárias e secundárias foi cunhada para diferenciar doenças caracterizadas por agregados de tau como as principais lesões de doenças nas quais o distúrbio de tau é combinado com outro distúrbio (Lebouvier; Pasquier; Buée, 2017). Seu principal papel é a estabilização dos microtúbulos e, portanto, o transporte axonal. Seis isoformas da tau, geradas pelo *splicing* alternativo de um único gene (*MAPT*), localizado no cromossomo 17, são encontradas no cérebro humano (Arendt; Stieler; Holzer, 2016; Lebouvier; Pasquier; Buée, 2017).

Estas são ainda diferenciadas por fenótipos neuropatológicos distintos com base no envolvimento de diferentes estruturas cerebrais, regiões, tipos de células e agregação de distintas isoformas de tau (3R, 4R ou uma mistura de isoformas 3R/4R). Existem as tauopatias primárias que incluem astrogliopatia, tau relacionada ao envelhecimento (ARTAG), doença de grãos argirofílicos (DGA), DCB, tauopatia primária relacionada à idade (PART) e a PSP, entre outras (Kovacs, 2017; Lebouvier; Pasquier; Buée, 2017). As tauopatias secundárias incluem uma série de distúrbios ou condições com diversas causas, como a DA e a encefalopatia traumática crônica (Arendt; Stieler; Holzer, 2016). A DA é a mais prevalente das tauopatias e é considerada uma tauopatia secundária pois as mutações que causam a DA nos genes da presenilina (*PSEN1* e *PSEN2*) e no gene da proteína precursora da amilóide (*APP*) são caracterizadas por alterações iniciais ou primárias no metabolismo da amilóide (Hardy *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2022).

Já as sinucleinopatias referem-se a um grupo de distúrbios caracterizados por agregados de α -sinucleína anormalmente dobrados no sistema nervoso periférico e central. As diferenças na localização celular e no padrão de deposição de α -sinucleína levam a entidades clinicamente distintas de sinucleinopatias: insuficiência autonômica pura, atrofia de múltiplos sistemas (AMS), demência com corpos de Lewy (DCL) e doença de Parkinson (DP) (Coon; Singer, 2020; Fellner *et al.*, 2021; Spillantini; Goedert, [s. d.]). A falha autonômica nas sinucleinopatias está relacionada à disfunção e neurodegeneração associada

à agregação anormal de α -sinucleína, com evidências acumuladas de disseminação célula a célula de α -sinucleína. Os depósitos α -sinucleína também estão presentes em outras doenças, como a DA e no distúrbio comportamental do sono REM (Brás *et al.*, 2020; Sengupta; Kaye, 2022).

A DP foi descrita em 1817 por James Parkinson. É uma doença neurodegenerativa progressiva complexa. Patologicamente, a DP é definida pela perda de neurônios dopaminérgicos na substância *nigra pars compacta*, localizada no mesencéfalo e associada a corpos de Lewy, que são inclusões citoplasmáticas, que incluem agregados insolúveis de α -sinucleína (Tysnes; Storstein, 2017). A prevalência da DP aumenta com a idade e afeta 1% da população acima de 60 anos (Von Campenhausen *et al.*, 2005). Vários estudos relatam dados sobre a epidemiologia da DP, no entanto, as diferenças metodológicas entre os estudos dificultam a comparação direta das estimativas de prevalência. É geralmente aceito que a prevalência da doença varia de 1-2 por 1.000 em populações não selecionadas (de Lau; Breteler, 2006; Von Campenhausen *et al.*, 2005).

A DP é caracterizada por patologia mais disseminada em outras regiões do cérebro e envolve neurônios não dopaminérgicos. O diagnóstico clínico da DP é baseado principalmente em características motoras, como tremor de repouso assimétrico lentamente progressivo, rigidez e bradicinesia. Embora características não motoras, que incluem anosmia, constipação, depressão e distúrbio do comportamento do sono REM, possam se desenvolver anos antes do desenvolvimento motor (Dickson, 2012; Kalia; Lang, 2015).

A causa da DP é desconhecida na maioria dos casos identificados. Nos últimos anos, foram identificados fatores de risco genéticos. Parentes de primeiro grau de pacientes afetados têm um risco 2 a 3 vezes maior de desenvolver a doença em comparação com indivíduos da população em geral ou controles (Savica *et al.*, 2016). Causas monogênicas de DP foram identificadas, mas eram consideradas muito raras, até que as mutações da quinase repetida rica em leucina 2 (*LRRK2*) foram identificadas (Gilks *et al.* 2005; Higashi *et al.* 2007), que causam até 40% dos casos em casos selecionados em populações (Lesage; Brice, 2012). Geralmente acredita-se que causas genéticas conhecidas podem ser relevantes em mais de 5% da população total de DP e que causas monogênicas são raras, mas alguns sugerem que causas monogênicas podem estar envolvidas em até 5 a 10% da população de DP (Lill, 2016).

Variantes em heterozigose no *GBA1*, variantes do gene da α -sinucleína e variantes no gene tau são exemplos de fatores de risco genéticos para DP (Kalia; Lang, 2015; Rana *et al.*, 2013). O gene *GBA1* codifica a enzima lisossômica glucocerebrosidase, que mantém a homeostase dos glicosfingolípídios. Aproximadamente 5 a 15% dos pacientes com DP têm variantes no gene *GBA1*, tornando-o o fator de risco genético mais importante para a DP (Riboldi; Di Fonzo, 2019; Schapira, 2015).

Tabagismo, álcool e níveis de urato são exemplos de fatores ambientais que podem influenciar o risco, além de fatores genéticos reconhecidos e desconhecidos (Kalia; Lang, 2015). No entanto, alguns dados também sugerem que a influência de fatores ambientais pode ser menos significativa (Bellou *et al.*, 2016).

1.2 Parkinsonismo

O parkinsonismo é uma síndrome clínica caracterizada por bradicinesia, rigidez, tremor de repouso e instabilidade postural. A DP idiopática é a causa mais comum desta síndrome, embora existam várias outras etiologias importantes que devem ser consideradas. Estes incluem os distúrbios parkinsonianos atípicos, AMS, DCL, DCB e PSP, bem como causas secundárias de parkinsonismo (Levin *et al.*, 2016). Estas diversas entidades patológicas podem ser distinguidas com base nas principais características clínicas, o que é fundamental para fins de diagnóstico, tratamento e prognóstico.

A bradicinesia é o sintoma clínico mais importante e, na verdade, essencial para o diagnóstico do parkinsonismo. Bradicinesia acarreta a função anormal dos circuitos neuronais dos gânglios corticobasais, levando à disfunção motora, manifestada como movimentos lentos e de pequena amplitude. O reconhecimento clínico da bradicinesia requer a identificação de condições que podem afetar o controle dos membros (por exemplo, balanço reduzido do braço, caligrafia fina, falta de destreza), fala, deglutição, marcha, expressão facial ou postura. Além disso, o parkinsonismo geralmente inclui rigidez extrapiramidal, tremor de repouso e instabilidade postural, que também são considerados características de disfunção dos gânglios da base (Ling *et al.*, 2012; Williams; Litvan, 2013).

Existem inúmeras causas para essa síndrome, que podem ser classificadas em (1) primárias, decorrentes de processo neurodegenerativo idiopático, e em (2) secundárias, provocadas por distúrbios conhecidos como: acidente vascular cerebral, neoplasias, traumas cranioencefálicos, efeitos tardios de infecções no sistema nervoso, efeito colateral de

medicamentos, entre outros (Shin *et al.*, 2012; Watanabe *et al.*, 2013). Dentre as primárias, a mais frequente síndrome parkinsoniana é a DP. Contudo, em aproximadamente 15 a 20% dos pacientes de causa primária apresentam um parkinsonismo chamado de atípico (Mark, 2001; Mcfarland, 2016).

1.3 Parkinsonismo atípico

Parkinsonismo atípico (PA) refere-se a um conjunto de síndromes que se apresentam com manifestações clínicas de uma síndrome parkinsoniana associada a outros sinais e sintomas distintivos da DP. PA também é conhecido como o grupo de doenças Parkinson-plus, além dos sinais cardinais da DP, tais como tremor, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural, encontramos outras manifestações neurológicas associadas. Assim como a DP, os quadros de PA tendem a acometer indivíduos depois dos 50 anos de idade, têm curso progressivo e, na fase inicial, as manifestações clínicas são muitas vezes indistinguíveis (Deutschländer *et al.*, 2018).

O maior desafio em distinguir as síndromes parkinsonianas atípicas da DP é a considerável sobreposição de sintomas e algumas características entre elas, particularmente no início do curso da doença. Para complicar ainda mais, muitos distúrbios neurodegenerativos primários têm características que se assemelham a DP.

Não há nenhum exame laboratorial na prática clínica que possa prever o risco ou distinguir com segurança a DP das síndromes parkinsonianas atípicas (El-Agnaf *et al.*, 2003). A α -sinucleína está presente nos fluidos periféricos, mas a sua concentração no sangue é fortemente influenciada pelos glóbulos vermelhos, que são a fonte de 99% da proteína (Shi *et al.*, 2010). Embora a os exames de imagem possam ser úteis, o diagnóstico permanece baseado principalmente na avaliação clínica.

O grupo de PA é constituído pelas seguintes síndromes: AMS, DCL, DCB e PSP. Do ponto de vista patológico, a AMS, a DCL, assim como a DP são conhecidas como sinucleinopatias pelo fato de estarem associadas ao acúmulo de α -sinucleína intracelular. As demais formas são classificadas como taupatias, pois se relacionam à disfunção da proteína tau intracelular (Giagkou; Stamelou, 2018).

1.3.1 Atrofia de múltiplos sistemas

A AMS é caracterizada como um distúrbio neurodegenerativo progressivo de início na fase adulta que afeta o sistema nigroestriatal, cerebelo, ponte, tronco cerebral e núcleos da medula espinhal que estão envolvidos na função autonômica. A doença se manifesta como insuficiência autonômica, parkinsonismo e ataxia, podendo ser combinado. A AMS é clinicamente classificada com base no fenótipo motor de apresentação nos subtipos: parkinsoniano (AMS-P) e cerebelar (AMS-C) (Jellinger; Wenning, 2016; Stefanova *et al.*, 2009; Wenning K *et al.*, 2004).

Esta doença é considerada rara com incidência média anual de 1,6 casos por 100.000 pessoas após os 40 anos de idade e 3 casos por 100.000 pessoas com idade > 50 anos (Wenning K *et al.*, 2004). A incidência relatada, e a prevalência, são pelo menos dez vezes menores do que as relatadas para DP. As estimativas de incidência e prevalência para AMS variam entre estudos de diferentes regiões, embora não haja um padrão consistente de variação regional, e ambos os sexos são igualmente afetados (Jellinger, 2018). A idade mediana de início dos sintomas é na sexta década de vida (Wenning *et al.*, 2013), o início mais precoce na quarta década de vida (AMS de início jovem) e início mais tardio na sétima ou oitava décadas de vida (AMS de início tardio). Esse padrão de idade ao diagnóstico foram observados em casos confirmados por autópsia (Wenning *et al.*, 1997).

Neuropatologicamente, a AMS é definida pela perda regional de células nervosas e pela presença de abundantes inclusões filamentosas de α -sinucleína em oligodendrócitos: inclusões citoplasmáticas gliais ou inclusões de Papp-Lantos (Grazia Spillantini *et al.*, 1998; Papp; Kahn; Lantos, 1989). Um número menor de inclusões de α -sinucleína também está presente nas células nervosas (Fujiwara *et al.*, 2002).

A causa da AMS é desconhecida, no entanto, tal como acontece com outras doenças neurodegenerativas, parece que pode haver uma interação complexa de mecanismos genéticos e ambientais (Jellinger, 2018). Sendo principalmente uma doença esporádica, com história familiar de parkinsonismo ou ataxia, são definidas como condições não suportadas pelos critérios diagnósticos (Gilman *et al.*, 2008). Os critérios diagnósticos para AMS envolvem quatro níveis de certeza diagnóstica: AMS neuropatologicamente estabelecida, AMS clinicamente estabelecida, AMS clinicamente provável e possível AMS prodrômica (Wenning *et al.*, 2022).

Diferentemente da DP, há evidências limitadas de um fundo genético da AMS. Embora existam relatos de casos com agregação familiar confirmada *post mortem* (Fujioka *et al.*, 2014). A triagem genética para variantes em genes associados a condições neurodegenerativas relacionadas, incluindo *SNCA* (codificação de α -sinucleína), geralmente produz resultados inconsistentes (Al-Chalabi *et al.*, 2009; Bougea, 2023). Estudos de associação genômica ampla em pacientes de ascendência europeia revelaram vários *loci* de genes potencialmente relevantes, incluindo *MAPT* (Gu *et al.*, 2018).

Uma variante de perda de função no gene *COQ2*, que codifica a coenzima Q10, enzima sintetizadora de (*COQ10*) foi relatado em casos familiares de japoneses, essa associação foi relatada sendo particularmente forte para AMS-C (The Multiple-System Atrophy Research Collaboration 2013; Ogaki *et al.* 2014).

GBA1 produz a enzima beta-glicocerebrosidase, que cliva o glicocerebrosídeo do glicolípido glicosilceramida. Variantes patogênicas no *GBA1* levam à agregação de glicocerebrosídeo em vários tecidos e à Doença de Gaucher (Vieira and Schapira 2022). Variantes no *GBA1* também são fatores genéticos comuns para DP e DCL. A frequência de variantes ligadas ao *GBA1* no AMS foi de 1,75% nos grupos japoneses, europeus e norte-americanos (Mitsui *et al.* 2015.) Entre 17 casos de AMS confirmados por autópsia, variantes no *GBA1* – N370S, T369 M e R496 – foram detectadas em 4 pacientes com AMS (Sklerov *et al.*, 2017). Isto pode indicar múltiplos envolvimento de danos lisossomais mediados por *GBA1* em diferentes formas de Parkinsonismo. Portanto, apesar de algumas descobertas preliminares, ainda são escassas evidências sobre o *GBA1* estar associado a AMS (Bougea, 2023).

Biomarcadores sensíveis e específicos são necessários para melhorar o diagnóstico precoce e a precisão diagnóstica em AMS. Avanços promissores estão em andamento em neuroimagem, incluindo computação automatizada e baseada em *machine learning*, análise de dados de diferentes contrastes de ressonância magnética ou de imagens metabólicas ou microgliais com PET (Jucaite *et al.*, 2022; Poewe *et al.*, 2022).

Poucos ensaios clínicos controlados estão disponíveis para orientar as decisões de tratamento para estes pacientes, e a maioria das intervenções é baseada em estudos não controlados, revisões retrospectivas de prontuários, relatos de casos, estudos realizados em outras doenças ou opinião de especialistas (Poewe *et al.*, 2022).

1.3.2 Demência com corpos de Lewy

Inicialmente os corpos de Lewy foram identificados nos neurônios pelo neurologista alemão Dr. Friedrich Lewy em 1912, durante suas investigações sobre a neuropatologia da DP. Somente na década de 1990 é que a composição principal dos corpos de Lewy, a proteína α -sinucleína, foi completamente compreendida (Sanford, 2018; Spillantini *et al.*, 1997).

Sobre a função exata da α -sinucleína, não é completamente compreendida, mas há indícios de que esta desempenha um papel na remodelação da membrana celular nos terminais neuronais. Quando há acúmulo de agregados mal dobrados e superexpressos de α -sinucleína nos neurônios ou ao redor das células gliais, ocorre a formação dos corpos de Lewy (Varkey *et al.*, 2010; Westphal; Chandra, 2013).

A neuropatologia da DCL está centralizada na agregação de oligômeros proteicos superexpressos de α -sinucleína, os quais formam estruturas conhecidas como corpos de Lewy. Na DCL, esses corpos de Lewy depositam-se principalmente no citoplasma dos neurônios, em contraste com a AMS, onde os corpos de Lewy se depositam tanto no citoplasma das células gliais quanto dos neurônios. A formação e acúmulo desses corpos de Lewy levam a danos e fragmentação mitocondriais, desencadeando, em última análise, a cascata de apoptose e morte celular. Esse processo patológico contribui para os sintomas característicos e o declínio cognitivo observados na DCL (Sanford, 2018).

A DCL se caracteriza por um declínio cognitivo progressivo, acompanhado por alucinações visuais recorrentes, flutuações no estado cognitivo, sinais extrapiramidais parkinsonianos e uma sensibilidade aumentada ao uso de neurolépticos. No exame neuropatológico, observa-se a presença de corpos de Lewy em regiões corticais e subcorticais do cérebro. Essa combinação de sintomas e achados patológicos distintivos contribui para o diagnóstico diferencial da DCL em relação a outras formas de demência (Sanford, 2018; Yousaf *et al.*, 2019).

A DCL impacta aproximadamente 1,4 milhões de americanos, consolidando-se como a segunda demência neurodegenerativa mais prevalente, logo após a DA. A idade é o principal fator de risco para o desenvolvimento da DCL, sendo que a maioria dos casos se manifesta clinicamente entre os 70 e 85 anos. Homens apresentam um risco maior de desenvolver DCL em comparação às mulheres (Savica *et al.*, 2017). É importante notar que até 80% dos pacientes com DP, eventualmente desenvolvem demência, complicando a distinção entre a DCL e o DP com demência (Emre *et al.*, 2007).

É amplamente reconhecido que a DCL é frequentemente subdiagnosticada. Existe uma significativa discrepância entre o número de casos diagnosticados clinicamente e aqueles identificados por meio de neuropatologia durante autópsias pós-mortem. Na verdade, estima-se que mais de 50% dos casos de DCL jamais recebam o diagnóstico clínico adequado. Esse subdiagnóstico pode ser atribuído, em parte, à complexidade dos sintomas e à sobreposição com outras formas de demência, dificultando o reconhecimento preciso durante a avaliação clínica em vida (Palmqvist *et al.*, 2009).

Sobre genes relacionados com DCL, até o momento, apenas três genes foram firmemente estabelecidos como envolvidos na DCL, são eles *APOE*, *GBAI* e *SNCA*. As variantes no gene *SNCA* podem modular o risco ou causar diferentes fenótipos de DCL. Além disso, os fatores de risco já estabelecidos para a DCL também são conhecidos por aumentarem o risco de desenvolvimento da DA (*APOE*) ou da DG (*GBAI*). Vale ressaltar que a DA e a DP não compartilham fatores de risco genéticos comuns entre elas (Moskvina *et al.*, 2013).

Variantes em heterozigose do gene *GBAI* representam um dos fatores de risco genéticos mais comuns para a doença de DP e DCL. Essas variantes são identificadas em 3 à 20% dos pacientes em diferentes populações (Guerreiro *et al.*, 2018; Lesage *et al.*, 2011). Quando presentes em homozigose ou heterozigose composta, as variantes do *GBAI* têm a capacidade de causar a DG, como já relatado anteriormente. Essa associação genética destaca a complexidade das interações genéticas subjacentes às doenças neurodegenerativas, incluindo a relação entre as variantes do *GBAI* e a predisposição para a DP e a DCL (Blauwendraat *et al.*, 2020).

A hipótese de que a perda da atividade da enzima lisossomal glucocerebrosidase (GCase) codificada pelo gene *GBAI*, leva a uma capacidade reduzida de degradar a α -sinucleína, codificada por *SNCA*. Já foram identificadas variantes do gene *GBAI* que não estão associadas à DG, mas que, no entanto, conferem um risco aumentado para o desenvolvimento da DP e DCL. A hipótese subjacente é que, embora essas variantes provoquem uma atividade reduzida da enzima GCase, essa atividade não é tão drasticamente reduzida a ponto de causar a DG (Blauwendraat *et al.*, 2020). Essa observação sugere a complexidade dos mecanismos genéticos e enzimáticos subjacentes às doenças neurodegenerativas. Algumas variantes no *GBAI* já foram descritas em algumas populações.

As variantes mais comuns incluem E326K, T369M, N370S e L444P, cujas frequências variam de acordo com a etnia (Blauwendraat et al. 2018; Leija-Salazar et al. 2019).

Já se sabe que a DCL é frequentemente subdiagnosticada. Os pacientes precisam ser examinados em média por 3 a 4 médicos, antes de um diagnóstico preciso ser realizado. Para diagnóstico da DCL se utilizam critérios específicos como as características clínicas típicas que incluem demência progressiva, cognição flutuante, alucinações visuais vívidas e síndrome parkinsoniana (Mckeith *et al.*, 2017).

Atualmente, não existem tratamentos modificadores da doença disponíveis para a DCL, e não há evidências de alto nível que respaldem qualquer forma de tratamento. A maioria dos ensaios clínicos para o tratamento farmacológico dos sintomas da DCL inclui um número muito pequeno de participantes. O foco predominante está no alívio dos sintomas, o que se apresenta como um desafio na DCL, pois, ao mesmo tempo que alguns medicamentos podem melhorar um sintoma, podem agravar outros. Geralmente, é necessário utilizar vários medicamentos para tratar diferentes sintomas, e o risco de efeitos colaterais e interações medicamentosas é considerável (Hershey; Coleman-Jackson, 2019; Stinton *et al.*, 2015).

1.3.3 Degeneração corticobasal

DCB refere-se a uma condição neuropatológica que envolve uma doença neurodegenerativa identificada pela prevalência da deposição patológica de proteína tau em diversos tipos de células e regiões anatômicas (Constantinides *et al.*, 2019; Kovacs, 2015). Já a Síndrome Corticobasal (SCB) é o termo utilizado para descrever uma das síndromes clínicas características associadas à patologia do DCB (Boeve; Lang; Litvan, 2003; Doran *et al.*, 2003; Lang, 2005). A apresentação clínica é determinada pela distribuição da perda neuronal e pelas patologias de tau (Saranza *et al.*, 2019). Portanto, uma variedade extensa de sintomas clínicos está ligada à patologia do DCB e, de maneira semelhante, a SCB está associada a outras neuropatologias (Ling et al. 2010).

A DCB é considerada relativamente rara, no entanto, há uma carência de estudos epidemiológicos precisos com confirmação patológica, dada a considerável heterogeneidade clínico-patológica e a ausência de critérios estabelecidos. Estima-se que o DCB seja aproximadamente dez vezes mais raro do que a PSP (Constantinides *et al.*, 2019; Mahapatra

et al., 2004). Sua incidência é calculada em torno de 0,6–0,9 casos por 100.000 pessoas por ano, representando 4–6% dos casos de parkinsonismo.

Apesar de um estudo projetar uma prevalência de 4,9–7,3 por 100.000 habitantes com base em dados de incidência e sobrevivência média, uma coorte de 120.000 pacientes não relatou nenhum caso de DCB (Constantinides *et al.*, 2019; Lo, 2022; Mahapatra *et al.*, 2004). A idade média de início da doença é aproximadamente 64 anos (Melissa J. Armstrong, 2013). Pode haver uma leve predominância feminina (Rinne *et al.*, 1994; Schneider *et al.*, 1997) e a sobrevida média é estimada em 6,5 anos (Melissa J. Armstrong, 2013).

O DCB é caracterizado por um início assimétrico de movimentos lentos dos membros, acompanhado de rigidez, distonia, tremor e movimentos oculares desordenados, resultando em uma incapacidade grave. Contudo, devido à sua complexidade clínica e à sobreposição com outras síndromes parkinsonianas, o DCB frequentemente é subdiagnosticado (Litvan *et al.*, 1997).

Os critérios patológicos para DCB foram estabelecidos por Dickson *et al.* em 2002 (Dickson *et al.*, 2002). Essa condição é identificada por lesões patológicas em neurônios e células gliais, contendo proteína tau associada a microtúbulos anormalmente hiperfosforilados. Acredita-se que a disfunção de tau seja o fator determinante na patogênese do DCB. Já se associou que as variantes em *MAPT* associadas à disfunção da proteína tau são suficientes para causar neurodegeneração e demência (Goedert, 2016). Por essa razão, o DCB é classificado como uma tauopatia, compartilhando essa característica com a PSP, degeneração frontotemporal (DFT) e DA (Constantinides *et al.*, 2019; Saranza *et al.*, 2019).

A patologia tau neuronal no DCB é identificada pela presença de imunorreatividade citoplasmática granular difusa em neurônios e pequenos corpos citoplasmáticos esféricos, conhecidos como corpos corticobasais, sobretudo na substância negra (Arima, 2006)(Fig 1). Neurônios acromáticos foram inicialmente considerados patognomônicos por Rebeiz *et al.*, especialmente quando localizados na substância cinzenta cortical ou, menos frequentemente, nos gânglios da base (Rebeiz; Kolodny; Richardson, 1968). Contudo, tornou-se evidente que a presença de tau em astrócitos desempenha um papel mais significativo na distinção entre a PSP e a DCB. Nesse contexto, as placas astrocíticas (Figura 2 E e F) são indicativas da DCB, enquanto a PSP é caracterizada por astrócitos tufados. Vale ressaltar que, mesmo com exames anatomopatológicos, a diferenciação segura entre PSP e DCB ainda é desafiadora, com uma especificidade de 90% (Dickson *et al.*, 2002).

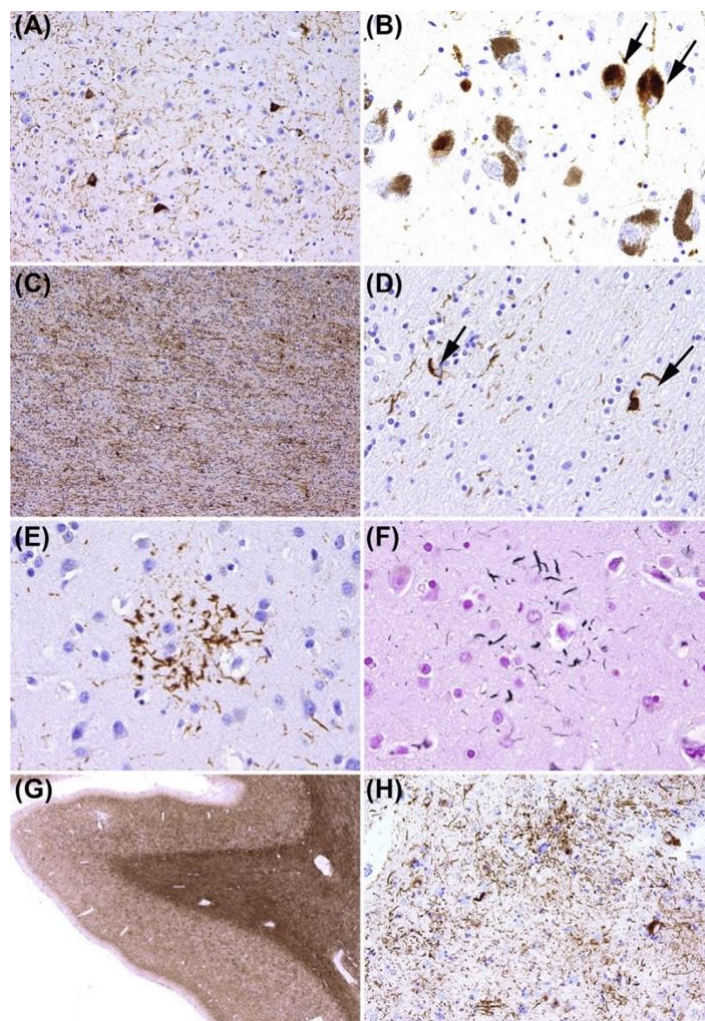


Figura 2 - Achados imuno-histoquímicos do DCB. (A, B) Patologia da tau neuronal, caracterizada por imunorreatividade citoplasmática neuronal difusa e fios no córtex (A) e presença de corpos corticobasais na substância negra (B; indicado por setas). (C, D) Estruturas semelhantes a fios e perfis intracitoplasmáticos semelhantes a espirais ou coma em oligodendroglia chamados corpos enrolados (indicados por setas) na substância branca. (E, F) Placa astrocítica Tau positiva (E) detectável pela coloração com prata Gallyas (F) na substância cinzenta. (G, H) Patologia tau neuronal e glial em áreas corticais e subcorticais em CBD avançado. Adaptado de Gerard M. Saranza, Jennifer L. Whitwell et al. 2019.

Predominantemente reconhecido como uma doença esporádica, embora tenham sido relatados casos familiares associados a uma variante na proteína tau (*MAPT* - N296N) (Spillantini *et al.*, 2001). Nesses casos familiares, observaram-se características neuropatológicas do DCB, mas o fenótipo clínico era de demência de início precoce, com destaque para sintomas comportamentais. Além disso, foram descritas estas variantes G389R, N410H e P301S no gene *MAPT* em casos de SCB esporádica (Bugiani *et al.*, 1999; Kouri *et al.*, 2014; Rossi *et al.*, 2008).

Em uma análise dos polimorfismos da tau em 57 pacientes com DCB confirmados patologicamente, revelou uma maior frequência dos haplótipos HQ e H1/H1 nesta coorte, semelhante ao observado em pacientes com PSP. Nenhuma variante patogênica no gene *MAPT* foi evidenciada em nenhum dos pacientes (Houlden *et al.*, 2001). Um extenso estudo de associação genômica identificou uma significativa sobreposição genética entre DCB e PSP na região *MAPT* H1, bem como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em ou próximos de *MOBP*, *CXCR4*, *EGFR* e *GLDC* (Yokoyama *et al.*, 2017).

No que tange aspectos de tratamento, ainda não há tratamento modificador da doença aprovado para o DCB. No entanto, muitos dos sintomas da SCB podem ser tratados. O parkinsonismo associado à SCB pode ser abordado com levodopa, embora a resposta seja frequentemente fraca e apenas transitória (Kompolti *et al.*, 1998). Para a distonia na SCB, a toxina botulínica tem se mostrado eficaz, proporcionando uma melhoria temporária na funcionalidade do membro afetado (Cordivari *et al.*, 2001).

Embora haja poucos estudos indicando a eficácia, a fisioterapia é considerada importante na SCB, visando melhorar a funcionalidade diária, prevenir contraturas e aliviar a rigidez (Steffen *et al.*, 2014).

1.3.4 Paralisia Supranuclear Progressiva

A PSP é uma doença neurodegenerativa progressiva, geralmente esporádica e com início na idade adulta, antes considerada simplesmente como uma causa comum de PA, é agora reconhecida como um espectro de síndromes motoras e comportamentais associadas a uma neuropatologia tau específica de quatro repetições (4R) vistas na autópsia (Boxer *et al.*, 2017; Williams; Litvan, 2013).

A sua manifestação clássica, conhecida como síndrome de Richardson (PSP-RS), é caracterizada por instabilidade postural inicial, resultando em quedas frequentes, juntamente com sinais oculomotores distintivos. Estes últimos afetam principalmente os movimentos oculares verticais, apresentando lentidão nos movimentos sacádicos que, ao longo do tempo, podem evoluir para uma paralisia do olhar supranuclear. Além disso, a doença pode apresentar rigidez muscular, dificuldade na deglutição, fala arrastada e alterações na personalidade (Boxer *et al.*, 2017; Giagkou; Höglinger; Stamelou, 2019).

Estas manifestações são acompanhadas de parkinsonismo, alterações comportamentais, e paralisia pseudobulbar. Anteriormente reconhecida como uma doença

rara com manifestações características, atualmente a PSP possui uma variedade de fenótipos diferentes que muitas vezes se sobrepõem com características de outras doenças neurodegenerativas (Respondek; Hoglinger, 2016).

O fenótipo clássico da PSP, denominado PSP-RS, como citado anteriormente, é identificado por um parkinsonismo simétrico de rápida evolução, que não responde à Levodopa, apresentando rigidez axial. Quedas, geralmente ocorrendo no primeiro ano da doença, e a paralisia do olhar supranuclear são características distintivas. Por outro lado, um fenótipo mais leve conhecido como PSP-Parkinsonismo (PSP-P), é observado em alguns pacientes. Este fenótipo se caracteriza por parkinsonismo assimétrico, por vezes associado ao tremor de repouso típico, que responde parcialmente à Levodopa (Fabbrini; Fabbrini; Suppa, 2019; Williams; Lees, 2009).

A PSP possui uma prevalência média de 5,3 casos por 100.000 pessoas, conforme relatado por estudos como Bower et al. (1997), Schrag et al. (1999) e Nath et al. (2001) (Bower *et al.*, 1997; Nath *et al.*, 2001; Schrag; Ben-Shlomo; Quinn, 1999). A idade média de início da doença é aproximadamente aos 63 anos, com uma sobrevida média de cerca de 9 anos a partir do início dos sintomas (Burn; Lees, 2002; Golbe; Ohman-Strickland, 2007; Rajput; Rajput, 2001; Williams; Litvan, 2013). Esse aumento pode ser atribuído a diferenças metodológicas entre os estudos e, também pode refletir uma maior conscientização sobre a PSP-RS. A taxa de incidência da PSP-RS foi inicialmente relatada como sendo de 1,1/100.000 pessoas-ano (Bower *et al.*, 1997; Giagkou; Höglinger; Stamelou, 2019).

Do ponto de vista patológico, o cérebro de pacientes com PSP exhibe atrofia em diversas regiões, incluindo o mesencéfalo, tegmento pontino, núcleo subtalâmico e córtex frontal. Além disso, ocorre despigmentação da substância negra, especialmente em sua parte ventromedial. O exame microscópico do cérebro revela características como perda neuronal, gliose (proliferação de células gliais em resposta a danos) e acúmulo de proteína tau em estruturas subcorticais, com destaque para o núcleo subtalâmico, gânglios da base e tronco cerebral (Dickson, 2004; Fabbrini; Fabbrini; Suppa, 2019). Nos exames histopatológicos da PSP, observam-se agregados intracelulares de tau somatodendríticos, que podem ser evidenciados por técnicas de coloração por imuno-histoquímica utilizando anticorpos específicos contra a proteína tau fosforilada (Dickson, 1999). A presença desses agregados de tau é uma característica distintiva na análise microscópica, contribuindo para o entendimento da base neuropatológica da PSP (Figura 3) (Höglinger *et al.*, 2010).

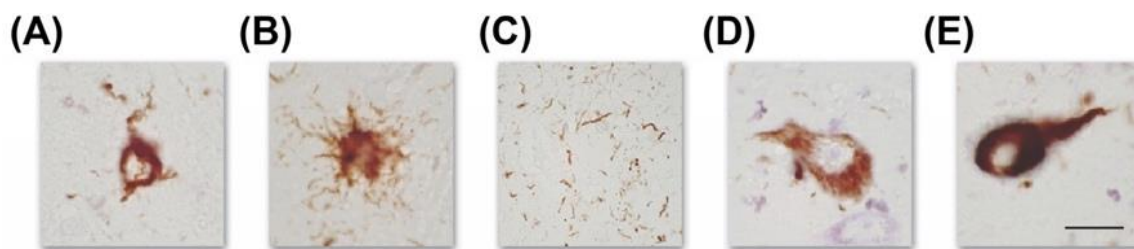


Figura 3 - Características histopatológicas da PSP. O exame imuno-histoquímico do estriado de paciente falecido com PSP utilizando um anticorpo (AD2) criado contra a proteína tau humana fosforilada nos resíduos de serina 396 e 404, demonstra agregados citosólicos em oligodendrócitos (corpos enrolados), (A), em astrócitos (tufo astrocítico) , (B), em processos neuronais (fios de neuropilos), (C) e em neurônios (pré-emaranhados), (D) e emaranhados neurofibrilares, (E). Barra de escala 1/4 50 mm. Adaptado de Günter U. Höglinger, Maria Stamelou et al, 2010.

Para o diagnóstico de PSP, são utilizados os atuais critérios do Instituto Nacional de Distúrbios Neurológicos e Derrame (NINDS) e da Sociedade de Paralisia Supranuclear Progressiva (SPSP), que se baseiam na confirmação clínica, da tendência a quedas e deficiências oculomotoras. São, portanto, muito sensíveis à síndrome de Richardson, mas menos adequados para detectar os outros cursos clínicos que a PSP segue (Höglinger *et al.*, 2017).

PSP é predominantemente esporádica, para a grande maioria dos casos. No entanto, em situações raras, a PSP pode apresentar um componente familiar ou estar associada a variantes no gene *MAPT*, o qual tem a capacidade de desencadear a patologia da PSP e seus fenótipos associados (Respondek; Hoglinger, 2016). É importante notar que as variantes no gene *MAPT* não estão restritas à patologia da PSP, pois também podem estar relacionadas a outras tauopatias (Forrest *et al.*, 2018).

Mesmo nos casos esporádicos, a genética desempenha um papel, influenciando tanto o risco de um indivíduo desenvolver a PSP quanto a probabilidade de manifestar um fenótipo específico da doença. A contribuição do gene *MAPT* para o desenvolvimento da PSP é evidente mesmo em casos sem uma história familiar conhecida da doença. Já se conhece que primeiro fator de risco genético identificado foi um haplótipo que abrangia uma região contendo o gene *MAPT* (Baker *et al.*, 1999). Estudos de *genome-wide association studies* (GWASs) confirmaram a importância do haplótipo H1 no risco de desenvolvimento de PSP e identificaram vários SNPs independentes que também estão localizados no gene *MAPT*

(Höglinger et al. 2011).

Outros estudos avaliaram o gene *LRRK2*, em um estudo com pacientes com parkinsonismo responsivo à levodopa em uma família do oeste de Nebraska, onde foi identificada uma variante em *LRRK2*, onde exibiram uma variedade de características patológicas no cérebro (Zimprich *et al.*, 2004). Dentro dessa família, os membros afetados apresentaram diferentes formas de patologia, incluindo DP com corpos de Lewy, doença difusa com corpos de Lewy, degeneração nigral sem características histopatológicas distintas ou patologia semelhante à PSP. Aqueles com patologia semelhante à PSP mostraram sintomas como paralisia supranuclear, perda neuronal na substância negra e presença de patologias tau, como emaranhados neurofibrilares globosos, astrócitos tufados e corpos enrolados oligodendrogliais, sem a presença de corpos de Lewy. Em outro estudo na análise de variantes em *LRRK2* na DP familiar ou esporádica de Creta, dois irmãos com parkinsonismo foram identificados com uma mutação R1441H em *LRRK2*. Os irmãos apresentaram posteriormente instabilidade postural, paralisia supranuclear do olhar, demência e outros sintomas/sinais típicos da PSP (Spanaki et al. 2006).

Ao contrário desses estudos, outros não conseguiram identificar tais variantes em pacientes com PSP. No entanto, é importante observar que esses estudos examinaram apenas um número limitado de casos de PSP para variantes no gene *LRRK2* (Hernandez *et al.*, 2005; Madžar; Schulte; Gasser, 2009).

Nos últimos anos, as variantes do gene *GBA1* têm sido clinicamente associadas à DP e a DCL (Asselta *et al.*, 2014; Blauwendraat *et al.*, 2018; Clark *et al.*, 2009; Goker-Alpan *et al.*, 2006). Curiosamente, também foram relatados vários casos únicos com manifestações de DA clássica (Clark *et al.*, 2009) e alguns casos de PSP (Lim *et al.*, 2023; Picillo *et al.*, 2017a; Pilotto *et al.*, 2016).

Atualmente, não há tratamento que modifique a progressão da PSP. Os tratamentos disponíveis têm como objetivo aliviar sintomas e auxiliar nas atividades diárias dos pacientes. Geralmente, a abordagem farmacológica da PSP não se baseia em ensaios clínicos controlados, mas sim na experiência clínica e em séries de casos não controlados. Os medicamentos utilizados muitas vezes são aqueles que mostraram benefícios em outras doenças neurodegenerativas, especialmente na DP. O foco está em proporcionar alívio sintomático e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, dado o desafio de encontrar intervenções que impactem diretamente na progressão da PSP (Giagkou; Stamelou, 2018;

Höglinger *et al.*, 2010; Koros; Stamelou, 2016).

Dada a ausência de tratamentos, é fundamental incorporar cuidados de suporte na vida diária dos pacientes. Isso inclui a implementação de fisioterapia, programas para prevenção de quedas, terapia ocupacional e treinamento de deglutição. À medida que a doença progride, a dependência se torna mais pronunciada, tornando crucial a priorização da segurança e conforto tanto dos pacientes, quanto dos cuidadores em estágios posteriores (Giagkou; Höglinger; Stamelou, 2019).

1.3.5 Fatores de risco para Doenças Neurodegenerativas

Em 2019, aproximadamente 50 milhões de pessoas em todo o mundo foram afetadas por doenças neurodegenerativas, muitas das quais resultam em demência. Este número é projetado para aumentar significativamente, atingindo 152 milhões até 2060 (Alzheimer's Disease International 2019). A prevalência global de doenças neurodegenerativas associadas à demência, conforme calculado pela meta-análise europeia de demência a partir de estudos europeus, é de 1,6% para homens e 1% para mulheres na faixa etária dos 65-69 anos, aumentando para 11% e 12,6%, respectivamente, na faixa etária de 85-89 anos (Liu et al. 2014).

O envelhecimento é o fator de risco mais significativo para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, sendo que a maioria desses distúrbios geralmente se manifesta em idosos (Hou *et al.*, 2019; Johnson, 2015). Foi comprovado que a incidência anual da DA aumenta de forma exponencial à medida que a idade avança (Rocca *et al.*, 2011; Schrijvers *et al.*, 2012).

Dado que as doenças neurodegenerativas são comuns na população idosa, e indivíduos que não tem nenhum dano são raros, especialmente em indivíduos muito idosos, surge a possibilidade de que o envelhecimento cerebral esteja intrinsecamente relacionado à neurodegeneração, formando um *continuum* (Small et al. 2011; Wyss-Coray 2016). A progressão das doenças neurodegenerativas é influenciada por fatores genéticos e ambientais, o que se considera como manifestações de um envelhecimento acelerado (Wyss-Coray, 2016).

Estudos moleculares revelaram a presença de depósitos anormais de proteínas agregadas, como tau hiperfosforilada (p-tau), β -amilóide ($A\beta$) e α -sinucleína, nos tecidos cerebrais de indivíduos mais velhos. No entanto, ainda não está claro se os níveis desses depósitos estão diretamente ligados ao grau de comprometimento cognitivo (Elobeid *et al.*, 2016). Alguns estudos indicaram que o risco para doença neurodegenerativa pode estar associado a defeitos precoces no desenvolvimento, sugerindo que as alterações estruturais no cérebro podem ocorrer muito antes do comprometimento cognitivo se manifestar. Essa complexa interação entre envelhecimento, fatores genéticos, ambientais e eventos precoces no desenvolvimento destaca a natureza multifacetada e dinâmica das doenças neurodegenerativas (Dean *et al.*, 2014).

1.3.6 Lisossomos e neurodegeneração

O lisossomo é uma organela crucial presente nas células eucarióticas. Inicialmente reconhecido por sua função na degradação intracelular, desempenha papéis abrangentes na manutenção da homeostase e da viabilidade celular (Settembre *et al.* 2013). O papel crítico dos lisossomos na via da autofagia os coloca na encruzilhada de vários processos intracelulares, incluindo a regulação da proteotoxicidade e da inflamação (Finkbeiner, 2020).

A neuroinflamação desempenha um papel significativo na neurodegeneração, embora haja debate sobre se ela representa uma causa, uma consequência ou ambos. Microglia, astrócitos e outros tipos de células não neuronais no cérebro estão envolvidos em diversos processos fisiológicos essenciais, como suporte neurotrófico, proteção contra patógenos, remoção de detritos celulares, suporte físico e metabólico e transporte de cargas através da barreira hematoencefálica (Obermeier; Verma; Ransohoff, 2016; Verkhratsky, 2020).

Muitos genes lisossomais associados a doenças neurodegenerativas são conhecidos por serem cruciais para o adequado funcionamento de tipos de células não neuronais. Por exemplo, em Doenças lisossômicas de depósito (DLDs) como a doença de Niemann-Pick tipo C (NPC) e DG, foram relatados fenótipos relevantes para problemas em astrócitos e microglia (Aflaki *et al.*, 2020; Colombo *et al.*, 2021; Pressey *et al.*, 2012). Em um modelo murino de NPC, cérebros de camundongos com deleção do gene *NPC1* exibiram uma gliose

reativa pronunciada e precoce, enquanto a microglia nesses camundongos apresentou aumento na fagocitose e renovação prejudicada da mielina (Colombo *et al.*, 2021; Pressey *et al.*, 2012). No caso da DG, astrócitos derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC) de pacientes com variantes no gene *GBA1* demonstraram aumento da proliferação, hipertrofia grave do citoesqueleto e comprometimento na depuração de α -sinucleína liberada neuralmente (Aflaki *et al.*, 2020).

1.3.7 Lisossomos

A descoberta pioneira de De Duve na década de 1950, que lhe rendeu o Prêmio Nobel, estabeleceu os lisossomos como organelas centrais nas células, desempenhando papéis essenciais na degradação e metabolismo (de Duve, 2005). Os lisossomos são organelas dinâmicas, heterogêneas e limitadas por uma única membrana, variando em posicionamento, morfologia, tamanho, conteúdo enzimático e substratos. Suas membranas contêm centenas de proteínas, entre integrais e periféricas, incluindo diversos transportadores e canais iônicos (Bagshaw; Mahuran; Callahan, 2005; Chapel *et al.*, 2013).

Os lisossomos recebem e digerem materiais gerados por endocitose de pequenas moléculas e proteínas da superfície celular, fagocitose de partículas grandes, como cadáveres de células apoptóticas e bactérias patogênicas, ou autofagia de conteúdo citoplasmático, incluindo mitocôndrias danificadas, retículo endoplasmático e lisossomos (Bright; Davis; Luzio, 2016; Chapel *et al.*, 2013; Maejima *et al.*, 2013).

Os produtos resultantes da digestão são exportados e reutilizados como blocos de construção para manter a homeostase celular. Como resultado, os lisossomos são há muito considerados como centros de reciclagem dentro das células. A disfunção lisossômica está associada a uma ampla variedade de distúrbios humanos, incluindo DLDs e condições neurodegenerativas (Bagshaw; Mahuran; Callahan, 2005; Cox; Cachón-González, 2012; Yang; Wang, 2021).

Estes desempenham papéis essenciais em diversos processos celulares, indo além de sua função como centros de reciclagem. Atuam como centros de sinalização críticos para a detecção de energia, transdução de sinal e regulação da autofagia (Perera; Zoncu, 2016). Além disso, estabelecem interações com outras organelas intracelulares, como mitocôndrias

e retículo endoplasmático, contribuindo para uma regulação homeostática (Bonifacino; Neefjes, 2017; Hipolito; Ospina-Escobar; Botelho, 2018; Perera; Di Malta; Ballabio, 2019).

1.3.8 Doenças Lisossômicas de depósito

As DLDs são erros inatos do metabolismo que afetam a função dos lisossomos. Se caracterizam pelo acúmulo gradual de material não digerido nos lisossomos, resultando em disfunção celular em diversos órgãos, como cérebro, músculos, ossos, pele, coração e baço, entre outros. A maioria das DLDs é originada por variantes em genes que levam à redução da atividade enzimática de uma hidrolase lisossômica específica, ocasionando um bloqueio em uma via catabólica específica e o acúmulo de um tipo particular de material de armazenamento (Platt *et al.*, 2018).

A disfunção lisossômica está relacionada com a causa dos distúrbios metabólicos chamada DLDs (Platt *et al.*, 2018). Atualmente, existem mais de 50 distúrbios de DLDs e sua prevalência combinada é estimada em 1 em 5.000 nascidos vivos. Contudo, as DLDs também podem surgir de modificações em proteínas acessórias, como cofatores envolvidos no tráfego de enzimas lisossômicas do retículo endoplasmático para os lisossomos. Além disso, proteínas transmembranas lisossômicas desempenham um papel crucial no transporte e reciclagem de metabólitos e íons, assim como na manutenção de um ambiente lúmen lisossômico ideal (Marques e Saftig, 2019). Por fim, variantes genéticas que impactam a biogênese, tráfego ou maturação de organelas relacionadas aos lisossomos também foram associadas a essas doenças (Huizing *et al.*, 2008).

Estes distúrbios resultam de variantes em uma ampla variedade de genes, que codificam tanto proteínas lisossômicas, quanto diversas proteínas não lisossômicas envolvidas na função lisossômica (Tabela 1). Em casos de deficiências enzimáticas específicas, observa-se o acúmulo de um tipo específico de material no lisossomo, configurando o que é denominado como armazenamento primário. A classificação dos DLDs é estabelecida com base na natureza desse armazenamento primário, sendo denominados como esfingolipidoses, mucopolissacaridoses, glicoproteinoses, entre outros (Platt; Boland; van der Spoel, 2012). Adicionalmente, outras substâncias, predominantemente fosfolipídios, glicoesfingolipídios e colesterol, que não estão diretamente relacionados ao defeito primário,

apresentam acúmulo em vários distúrbios lisossômicos, configurando o que é denominado como armazenamento secundário(Platt et al. 2018; Martina et al. 2020).

Tabela 1 – Causas das doenças de armazenamento lisossômico, as organelas afetadas e os principais locais de patologia.

Mecanismo de armazenamento lisossomal	Exemplos de doenças	Defeito da proteína lisossômica (gene)	Substrato(s) armazenado(s)	Principais sistemas de órgãos periféricos afetados
Deficiências de enzimas lisossômicas	Aspartilglucosaminuria	aspartilglucosaminidase (glicosilasparaginase, AGA)	Aspartil glucosamina (N-acetilglucosaminil-asparagina)	Ossos, tecido conjuntivo
	Doença de Fabry	α -Galactosidase (GLA)	(Lyso-)Globotriaosylceramide	Rim, coração
	Doença de Gaucher tipos 1, 2, e 3	β -Glucocerebrosidase (GBA)	Glucosilceramida, glucosilesfingosina	Baço/fígado, medula óssea
	Gangliosidose GM1	β -Galactosidase (GLB1)	GM1-gangliosídeo, oligossacarídeos	Ossos, coração
	Doença de Krabbe	Galactocerebrosidase (GALC)	Galactosilceramida	Coração
	Mucopolissacaridoses	Enzimas envolvidas no catabolismo de mucopolissacarídeos	Mucopolissacarídeos	Cartilagem, ossos, coração, pulmões
	Deficiência múltipla de sulfatase	SUMF1 (enzima geradora de formilglicina necessária para ativar sulfatases)	Múltiplos, incluindo glicosaminoglicanos sulfatados	Baço/fígado, ossos, pele
Doença de Pompe	α -Glucosidase (GAA)	Glicogênio	Músculo esquelético	
Defeito no transporte de enzimas lisossômicas	Mucopolipidose tipo II	N-acetil glucosamina fosforil transferase α/β (GNPTAB)	Carboidratos, lipídios, proteínas	Esqueleto, coração
	Mucopolipidose tipo IIIA	N-acetil glucosamina fosforil transferase α/β (GNPTAB)	Carboidratos, lipídios, proteínas	Esqueleto, coração
Defeitos em proteínas lisossômicas não enzimáticas solúveis	Doença de Niemann-Pick tipo C2	NPC2 (proteína solúvel de ligação ao colesterol)	Colesterol e esfingolipídios	Fígado
Defeitos nas proteínas da membrana lisossomal	Cistinose	Cistinosina (transportador de cisteína, CTNS)	Cistina	Rim, olhos
	Mucopolipidose IV	Mucopolipina-I (MCOLN1)	Mucopolissacarídeos e lipídios	Olhos
	Doença de Niemann-Pick tipo C1	NPC1 (proteína de membrana envolvida no transporte lipídico)	Colesterol e esfingolipídios	Fígado

Adaptado de Platt et al, 2012.

1.3.9 Distúrbios de armazenamento lisossômico e lipídios

A maioria dos DLDs resulta em alguns fenótipos neurodegenerativos, causando a acumulação gradual de diversos materiais em diferentes regiões. As proteínas lisossômicas são normalmente encontradas em vários tipos celulares, mas os neurônios são particularmente afetados por esses distúrbios de DLDs. Isso se deve à natureza dos neurônios, que não se dividem, incapazes, portanto, de diluir os materiais acumulados ou de serem substituídos após a perda. Além disso, os neurônios processam quantidades significativas de gangliosídeos, um grupo variado de lipídios essenciais nas membranas neuronais e sinapses, e que se acumulam em praticamente todos os distúrbios lisossômicos (Sandhoff; van Echten, 1994; Walkley, 2004).

Quando se aborda o cérebro, destaca-se que os glicoesfingolipídios compõem a maior parte dos lipídios presentes no mesmo. Em sua maioria, assumem a forma de glicosilceramida. O processo catabólico desses lipídios ocorre no lisossomo por meio de um subgrupo de hidrolases lisossômicas. A deficiência dessas enzimas resulta em uma categoria específica de distúrbios lisossômicos conhecidos como esfingolipidoses, os quais exercem um impacto direto na função neuronal (Sandhoff & Kolter, 2003).

Um exemplo de distúrbio é a doença de Niemann-Pick tipos A e B, originada por uma clivagem hidrolítica defeituosa da esfingomiélinina no lisossomo (Brady *et al.*, 1966; Kolodny, 2000). Essa condição é caracterizada pelo acúmulo de colesterol, glicocerebrosídeo, lactosilceramida e gangliosídeos. Em situações de estresse lisossômico, a enzima de clivagem da esfingomiélinina transloca-se da membrana lisossômica para a membrana plasmática, onde reorganiza os microdomínios da balsa lipídica, resultando em alterações nas vias de sinalização celular (Schuchman, 2010).

Devido às suas elevadas demandas metabólicas os neurônios são particularmente suscetíveis a irregularidades nas vias de sinalização que sustentam o metabolismo celular. Isso resulta em maior vulnerabilidade ao estresse celular, excitotoxicidade e morte celular (Macauley *et al.* 2008).

1.3.10 Genes de doenças lisossômicas nos casos de Parkinsonismo

Alguns genes têm sido relacionados por estarem potencialmente envolvidos na fisiopatologia das formas de PA. A observação clínica de que pacientes com a DG e seus

familiares possuíam sinais de parkinsonismo mais frequentemente do que o esperado levou a associação de variantes genéticas à DP (Lill 2016) ePA (Mitsui *et al.*, 2015). A DG é uma doença lisossômica autossômica recessiva causada por uma deficiência na enzima glicocerebrosidase. Essa deficiência ocorre devido a variantes em ambos os alelos no gene *GBA1*. Em heterozigose, variantes neste gene parecem ser um importante fator de risco para a DP, chegando a ter um *odds ratio* de 5.43 (IC 95% 3.89 - 7.57) em um estudo internacional (Sidransky *et al.*, 2009). Um estudo do nosso grupo encontrou resultados similares na população brasileira, com um *odds ratio* de 5 para DP, e uma frequência de variantes no *GBA1* de 3% nos casos (Socal *et al.*, 2009). O grupo de pesquisa observou também que, na nossa população, os pacientes com Machado-Joseph apresentando sintomas de parkinsonismo possuíam uma maior frequência de variantes no *GBA1* (33%) do que aqueles não apresentavam sintomas de parkinsonismo (0%; P = 0.03) (Siebert *et al.*, 2012).

Entretanto, portadores de variantes no *GBA1* parecem ter também um risco maior para o PA (Nalls *et al.*, 2013; Pilotto *et al.*, 2016; Sklerov *et al.*, 2017). Variantes no gene *GBA1* já foram encontradas em casos de AMS, PSP, DCB e DCL (Asselta *et al.*, 2014; Goker-Alpan *et al.*, 2006; Nalls *et al.*, 2013; Sklerov *et al.*, 2017). Um estudo multicêntrico mostrou que indivíduos com DCL tinham maior risco de ter uma variante no *GBA1*, com um *odds ratio* de 8,28 (IC 95% 4,78-11,88), quando comparado aos controles (Nalls *et al.*, 2013). Em um estudo de 2017, casos de AMS com confirmação por autópsia apresentaram variantes no *GBA1* com uma frequência de 23,5% (Sklerov *et al.*, 2017). Estes estudos sugerem que há uma importância de vias lisossomais na etiologia do PA. Inclusive, uma etiologia possivelmente similar, visto que essas mutações no *GBA1* ocorrem tanto em AMS, PSP, DLB e DCL.

Outros genes causadores de doenças lisossômicas parecem ter uma relação com parkinsonismo. O gene *PSAP* codifica o cofator saposina C, uma proteína ativadora da glicocerebrosidase (Ho and O'Brien 1971). Indivíduos com variantes patogênicas nesse gene já foram descritos na DG e na DP (Christomanou *et al.*, 1989; Kang *et al.*, 2018; Ouled Amar Bencheikh *et al.*, 2018; Tylki-Szymańska *et al.*, 2011; Vaccaro *et al.*, 2010). Variantes em homozigose nos genes *SMPD1*, *NPC1* e *NPC2* causam a doença lisossômica de Niemann-Pick dos tipos A, B e C. Interessantemente, já foram descritos casos de Niemann-Pick na literatura com sintomas de parkinsonismo em que encontraram variantes em heterozigose nesses genes (Benussi *et al.*, 2019; Josephs; Matsumoto; Lindor, 2004; Klunemann *et al.*,

2013). Além disso, Robak et al. (2017) descreve um enriquecimento de variantes nos genes *GBA1*, *SMPD1*, *LIPA*, *NPC1*, *NPC2* e *PSAP* (todos relacionados às doenças lisossômicas) nos casos DP (Robak et al., 2017). A tabela 2 resume os trabalhos em que buscaram variantes em genes de doenças lisossômicas.

Tabela 2 - Parkinsonismo atípico e genes de doenças lisossômicas.

Estudos	PA	Gene	N de variantes/N total de pacientes	N de variantes/N total de controles
Nalls et al., 2013 (estudo multicêntrico)	DCL	<i>GBA1</i>	54/667 (8,1%)	19/1943 (0,9%)
	AMS	<i>GBA1</i>	1/118 (0,8%)	
Asselta et al., 2014	DCL	<i>GBA1</i>	4/29 (13,8%)	7/1111(0,6%)
	PSP	<i>GBA1</i>	2/100 (2%)	
	DCB	<i>GBA1</i>	0/34	
Mitsui et al., 2015	AMS	<i>GBA1</i>	17/969 (1,7%)	17/1509 (1,1%)
Clark et al., 2015	DCL	<i>GBA1</i>	28/59 (47,4%)	6/33 (18,2%)
	DCL	<i>SMPD1</i>	12/59 (20,3%)	
Sklerov et al., 2017	AMS	<i>GBA1</i>	4/17 (23,5%)	

AMS: Atrofia de múltiplos sistemas; DCB: Degeneração corticobasal; DCL: Demência com corpos de Lewy; PSP: paralisia supranuclear progressiva. Tabela elaborada pela autora.

1.3.11 Gene *GBA1*

O gene *GBA1* está situado no cromossomo 1 (1q21) é dividido em 11 éxons e compreende 7,6 kb de DNA genômico. Ele codifica a glicocerebrosidase (GCCase), uma enzima lisossomal envolvida no metabolismo da glicosilceramida. O *GBA1* possui um pseudogene, conhecido como *GBAP*, que apresenta 96% de homologia de sequência, representa 5,7 kb do genoma e está localizado a 16 kb do gene funcional (Horowitz et al., 1989; Winfield et al., 1997). As variantes desse gene estão relacionadas à DG, uma condição sistêmica com diferentes graus de envolvimento do sistema nervoso central.

Surpreendentemente, há alguns anos, observou-se que variantes no mesmo gene estavam associadas a um aumento na incidência da DP, tanto em pacientes com DG quanto em portadores assintomáticos (Lwin *et al.*, 2004; MJ; JM; E, 2005; Sidransky, 2006).

Desde as primeiras observações sobre a relação entre *GBA* e DP, essa associação tem sido extensivamente explorada. Diferentes hipóteses foram formuladas para explicar o papel causador dessa mutação na DP (Gegg; Schapira, 2018). A GCCase faz parte da via endolisossomal, que parece desempenhar um papel crucial na patogênese da DP. De fato, muitas formas familiares monogênicas diferentes de DP são causadas por genes envolvidos nessa via (Klein; Mazzulli, 2018). Além disso, a GCCase mutada não consegue se dobrar adequadamente, podendo acumular-se em diferentes compartimentos celulares dos neurônios dopaminérgicos, desencadeando uma resposta ao estresse celular que pode ser prejudicial às células, sendo assim, a atividade comprometida da GCCase parece causar o acúmulo de alfa-sinucleína (Blandini *et al.*, 2019).

1.3.12 Gene *LIPA*

O gene *LIPA* está localizado no cromossomo humano 10q23.2–23.3 e é composto por 10 exons distribuídos por cerca de 38 kb (Li; Zhang, 2019). Este gene codifica a enzima lipase ácida lisossomal (LAL). Em humanos, representa a única enzima conhecida com atividade em pH ácido no lisossomo. Essa enzima desempenha um papel crucial na hidrólise de ésteres de colesterol e triglicerídeos. A importância fundamental do LAL na fisiologia e nas doenças é evidenciada pelos fenótipos observados em camundongos e humanos com deficiência de LAL (Zhang 2018).

Variantes bialélicas no gene *LIPA* resultam em deficiência LAL que está associada a diversos fenótipos de doença de armazenamento de éster de colesterol. Resulta em distúrbios genéticos raros, caracterizados pelo acúmulo significativo de ésteres de colesterol e triglicerídeos em hepatócitos e macrófagos, em vários órgãos, levando subsequentemente a danos nos tecidos (Zhang; Porto, 2013). A forma mais grave e de risco imediato para a vida dessa doença ocorre em bebês, conhecida como doença de Wolman (Abramov; Schorr; Wolman, 1956).

1.3.13 Gene *NPC1* e *NPC2*

O gene *NPC1* ocupa a região do locus 18q11-q12 e estende-se por 57 kb de DNA genômico, sendo composto por 25 éxons. Este gene é responsável pela codificação de uma glicoproteína transmembrana composta por 1278 aminoácidos, distribuídos em 13 domínios. Essa glicoproteína está na membrana dos lisossomos e endossomos tardios (Carstea et al. 1997).

Esta proteína transporta lipoproteínas de baixa densidade para compartimentos endossomais/lisossômicos tardios, onde são hidrolisadas e liberadas como colesterol livre. Defeitos neste gene causam a doença de Niemann-Pick tipo C, um distúrbio neurodegenerativo autossômico recessivo raro caracterizado pelo acúmulo excessivo de colesterol e glicoesfingolípídios em compartimentos endossomais/lisossômicos tardios (Vanier, 2010).

O gene *NPC2* (inicialmente conhecido como HE1), localizado no cromossomo 14q24.3, abrange 13,5 Kb e contém 5 exons (Naureckiene *et al.*, 2000). Ele codifica uma proteína solúvel de 151 aminoácidos presente no lúmen dos lisossomos. É uma proteína solúvel, que se liga ao colesterol e é capaz de reverter parcialmente o acúmulo de lipídios celular (Naureckiene *et al.*, 2000).

As proteínas NPC1 e NPC2 desempenham papéis conjuntos e sequenciais na mediação da liberação de colesterol não esterificado do compartimento endo/lisossomal. O mecanismo preciso pelo qual essas proteínas operam não é totalmente compreendido, mas com base em dados recentes, foi proposta a hipótese de um modelo de transferência de colesterol hidrofóbico (Li *et al.*, 2016).

1.3.14 Gene *SMPD1*

O gene *SMPD1* é composto por seis exons e ocupa uma região de 5 kb no cromossomo 11p15.4-p15.1 (Schuchman; Wasserstein, 2015). Este gene codifica a proteína esfingomielinase ácida (ASM) humana que possui 631 aminoácidos, incluindo um domínio saposina, um ligante rico em prolina, um domínio catalítico de metalofosfatase e um domínio C-terminal. A presença de seis potenciais locais de glicosilação tipo N, oito dissulfetos e dois íons de zinco na ASM desempenha papéis cruciais no processo de dobramento e na estabilidade da proteína (Zhou et al. 2016).

Ela consegue manter a homeostase adequada dos esfingolípídios e participa na renovação da membrana, a ASM interage com outras hidrolases lipídicas nos lisossomos (Schuchman and Wasserstein 2015). Durante períodos de estresse, a ASM se desloca rapidamente dos lisossomas para a membrana plasmática, onde hidrolisa a esfingomielina em ceramida. Esse processo resulta na reorganização dos microdomínios lipídicos da membrana, estimulando assim a sinalização subsequente (Falcone et al. 2004).

Variantes patogênicas neste gene causam as doenças de Niemann-Pick Tipos A e B, que são distúrbios de armazenamento lisossomal autossômico recessivo, causados pela atividade deficiente da enzima esfingomielinase ácida (da Veiga Pereira *et al.*, 1991). ASM hidrolisa a esfingomielina em ceramida e fosfocolina em endossomos e lisossomos tardios. A deficiência de ASM resulta no acúmulo de esfingomielina nos lisossomos e anormalidades lipídicas nas membranas celulares (Schuchman; Wasserstein, 2015).

1.3.15 Gene *PSAP*

A prosaposina é lisossomal composta por 527 aminoácidos, codificada pelo gene *PSAP* localizado no cromossomo 10q22.1, que sofre clivagem pós-tradução para produzir quatro proteínas chamadas saposinas (Sap) A, B, C e D. Vale ressaltar que as saposinas A – D desempenham um papel no processo de ativação de várias hidrolases lisossômicas, embora não estejam diretamente envolvidas na hidrólise dos glicoesfingolípídeos. Portanto, variantes nas saposinas causam deficiências de hidrolases lisossômicas e, conseqüentemente, DLD (Tamargo et al. 2012).

Variantes no gene *PSAP* que causam deficiência de Sap-C são conhecidas estar subjacente ao DG atípico (MIM 610539) e pode assemelhar-se ao DG1 ou ao DG3 (Chérin *et al.*, 2010). Sap-C atua como um ativador da enzima GCase necessária para a degradação da glicosilceramida. A deficiência de Sap-A devido a variantes de *PSAP* causa a doença de Krabbe atípica e a produção inadequada de Sap-B leva à leucodistrofia metacromática (Tamargo et al. 2012; Cesani et al. 2016; Calderwood et al. 2020).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Identificar e analisar aspectos genéticos e metabólicos do parkinsonismo atípico, visando a compreensão aprofundada dos mecanismos subjacentes a essa condição.

2.2 Objetivos específicos

1. Identificar os genes *hub-bottleneck* de cada tipo de PA.
2. Analisar as vias metabólicas relacionadas aos genes *hub-bottleneck* para o entendimento das bases da doença.
3. Determinar a frequência de alterações de sequência nos genes *GBA1*, *SMPD1*, *LIPA*, *NPC1*, *NPC2* e *PSAP* nos pacientes com PA.
4. Descrever o fenótipo de pacientes com parkinsonismo atípico portadores de variantes nos genes de doenças lisossômicas analisados.

3. JUSTIFICATIVA

O estudo do parkinsonismo atípico tem sido um desafio constante, dada a complexidade das manifestações clínicas e a heterogeneidade das causas subjacentes. Recentemente, surge um novo horizonte promissor na pesquisa diagnóstica, concentrando-se nos genes associados a doenças lisossômicas. Essa abordagem inovadora oferece uma perspectiva única para a compreensão e avaliação do parkinsonismo atípico.

Nosso grupo de pesquisa possui uma trajetória consolidada no estudo de doenças raras, especialmente os erros inatos do metabolismo, no âmbito do serviço de genética médica do HCPA. Temos desempenhado um papel ativo em diversos projetos relacionados a doenças lisossômicas, destacando-se nossa atuação significativa na pesquisa sobre a DG. Um dos projetos específicos que temos desenvolvido concentra-se na interseção entre a DG e parkinsonismo. Já é conhecida a associação entre variantes no gene *GBA1* e a manifestação da DP. Nossa pesquisa visa aprofundar essa compreensão, explorando as implicações genéticas e moleculares dessa conexão.

As doenças lisossômicas têm sido historicamente estudadas em um contexto isolado. No entanto, a evidência emergente sugere uma interconexão entre essas condições e distúrbios neurodegenerativos, incluindo o parkinsonismo. Ao abordar esta lacuna de conhecimento, buscamos destacar a relevância de analisar genes associados a doenças lisossômicas como uma ferramenta para pacientes com PA.

A identificação precoce de variantes associadas a doenças lisossômicas em pacientes com parkinsonismo atípico pode abrir caminho para intervenções terapêuticas específicas, contribuindo para uma abordagem mais eficaz e personalizada, sabendo que essas síndromes ainda não tem um tratamento específico, apenas para o alívio de sintomas.

Assim, este estudo se justifica pela necessidade de expandir nosso entendimento sobre as inter-relações entre doenças lisossômicas e parkinsonismo atípico, mas também visa melhorar a precisão do diagnóstico clínico. Ao unir essas duas áreas, podemos avançar em direção a uma compreensão das bases moleculares do PA, promovendo avanços significativos no manejo clínico e na qualidade de vida dos pacientes.

Em suma, a análise dos genes associados a doenças lisossômicas representa uma abordagem inovadora e promissora para o estudo do PA. Ao traçar conexões entre esses

distúrbios aparentemente separados, podemos direcionar a forma de diagnóstico, abrindo novos caminhos para a medicina personalizada e a melhoria dos cuidados ao paciente.

4. RESULTADOS

Artigos científicos/manuscritos

4.1 Capítulo 1



Identification of metabolic pathways and key genes associated with atypical parkinsonism using a systems biology approach

Amanda Pasqualotto^{1,2} · Vinicius da Silva³ · Felipe Mateus Pellenz^{4,5} · Artur Francisco Schumacher Schuh^{6,7} · Ida Vanessa Doederlein Schwartz^{1,2,10,11} · Marina Siebert^{2,8,9}

Received: 6 June 2023 / Accepted: 23 December 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2024

Abstract

Atypical parkinsonism (AP) is a group of complex neurodegenerative disorders with marked clinical and pathophysiological heterogeneity. The use of systems biology tools may contribute to the characterization of hub-bottleneck genes, and the identification of its biological pathways to broaden the understanding of the bases of these disorders. A systematic search was performed on the DisGeNET database, which integrates data from expert curated repositories, GWAS catalogues, animal models and the scientific literature. The tools STRING 11.0 and Cytoscape 3.8.2 were used for analysis of protein-protein interaction (PPI) network. The PPI network topography analyses were performed using the CytoHubba 0.1 plugin for Cytoscape. The hub and bottleneck genes were inserted into 4 different sets on the InteractiveVenn. Additional functional enrichment analyses were performed to identify Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways and gene ontology for a described set of genes. The systematic search in the DisGeNET database identified 485 genes involved with Atypical Parkinsonism. Superimposing these genes, we detected a total of 31 hub-bottleneck genes. Moreover, our functional enrichment analyses demonstrated the involvement of these hub-bottleneck genes in 3 major KEGG pathways. We identified 31 highly interconnected hub-bottleneck genes through a systems biology approach, which may play a key role in the pathogenesis of atypical parkinsonism. The functional enrichment analyses showed that these genes are involved in several biological processes and pathways, such as the glial cell development, glial cell activation and cognition, pathways were related to Alzheimer disease and Parkinson disease. As a hypothesis, we highlight as possible key genes for AP the *MAPT* (microtubule associated protein tau), *APOE* (apolipoprotein E), *SNCA* (synuclein alpha) and *APP* (amyloid beta precursor protein) genes.

Keywords Atypical parkinsonism · Systems biology · Multiple system atrophy · Corticobasal degeneration · Progressive supranuclear palsy · And Lewy body dementia

✉ Ida Vanessa Doederlein Schwartz
ischwartz@hcpa.edu.br

- 1 Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil
- 2 BRAIN Laboratory, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil
- 3 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil
- 4 Serviço de Endocrinologia, -Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil
- 5 Graduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

- 6 Serviço de Neurologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil
- 7 Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil
- 8 Unit of Laboratorial Research, Experimental Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil
- 9 Programa de Pós Graduação em Hepatologia e Gastroenterologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil
- 10 Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil
- 11 Department of Genetics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

Published online: 02 February 2024

Springer

Introduction

Atypical parkinsonism (AP) refers to a heterogeneous group of neurodegenerative disorders clinically characterized by the presence of parkinsonism plus “atypical” features for Parkinson disease (PD), such as early cognitive impairment, autonomic dysfunction, early falls, ataxia, apraxia, dystonia, myoclonus, amyotrophy, gaze palsy, cortical sensory loss, alien limb phenomenon or failure to respond to dopaminergic treatment (Deuschländer et al. 2018). They can be classified into four major syndromes according to the clinical presentation: progressive supranuclear palsy (PSP), multiple system atrophy (MSA), corticobasal degeneration (CBD), also called corticobasal syndrome, and Lewy body dementia (Giagkou and Stamelou 2018). However, some patients may manifest overlapping symptoms. Currently, there is no specific treatment for AP.

Due to the clinicopathologic similarities and the lack of consistent results among subtypes, AP raises issues from a pathological perspective (Scholz and Bras 2015). PSP patients show atrophy of the midbrain, pontine and subthalamic tegmentum and substantia nigra depigmentation as the main pathological findings. This syndrome along with CBD is classified as a tauopathy, which refers to neurodegenerative disorders with prominent tau pathology in neuronal or glial cells due to the deposition of neurofibrillary tangles in the brain, composed of tau protein hyperphosphorylated which impairs ability to interaction with microtubules, leading to cell dysfunction (Rösler et al. 2019). The PSP hallmark is the accumulation of insoluble 4R (four carboxy-terminal repeat domains) tau protein deposits in the cortical and subcortical areas of the brain. There is already evidence of ongoing neuronal degeneration, demonstrated by increased levels of cerebrospinal fluid levels of neurofilament light chain concentrations in PSP patients (Holmberg et al. 1998). The neuronal tau pathology in the CBD mainly affects the forebrain, while in PSP it mainly affects the hindbrain structure (Fabbrini et al. 2019). The pathological features for CBD includes astrocytic plaques, tau-positive striatal and cortical neurons and glial lesions, both in white and gray substances (Dickson et al. 2002; Stamelou et al. 2021).

In addition to PD, MSA and Lewy body dementia are characterized as synucleinopathies due to the accumulation of intracellular α -synuclein. The neuropathological hallmark of MSA is aberrant α -synuclein deposition in glia and neurons forming glial and neuronal cytoplasmic inclusions that cause cell dysfunction and death (Jellinger 2018). The neurodegeneration of MSA is related to a set of factors such as ectopic α -synuclein accumulation in the oligodendrocytes, proteasomal and mitochondrial dysfunction (Jellinger and Wenning 2016), dysregulation of myelin lipids,

genetic polymorphism, neuroinflammation (Stefanova et al. 2007; Fellner and Stefanova 2013; Don et al. 2014; Chen et al. 2015), proteolytic disturbance, autophagy and others (Brown et al. 2005; Ubhi et al. 2009). Lewy body dementia has its pathophysiology related to the aggregation of α -synuclein oligomers in Lewy bodies, in which its deposit mainly occur in the cytoplasm of neurons. This is the opposite of MSA, where Lewy bodies accumulate in the cytoplasm of glial cells and neurons. Lewy body buildup damages cells and results in cell death (Stefanis 2012; Sanford 2018).

To diagnose each type of AP, specific criteria are used, such as in Lewy body dementia, typical clinical features include progressive dementia, fluctuating cognition, vivid visual hallucinations, and parkinsonian syndrome (McKeith et al. 2017). The diagnostic criteria for MSA involve four levels of diagnostic certainty: neuropathologically established MSA, clinically established MSA, clinically probable MSA, and possible prodromal MSA (Wenning et al. 2022). For CBD we have current consensus criteria that describe different clinical phenotypes that may be associated with CBD pathology. Imaging techniques can be used to demonstrate asymmetric parietal atrophy and hypometabolism, as well as presynaptic and postsynaptic nigrostriatal degeneration (Melissa J. Armstrong 2013). For the diagnosis of PSP, the current National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) and Society for Progressive Supranuclear Palsy (SPSP) criteria for the diagnosis of PSP are used, which are based on clinical confirmation of the tendency to falls and oculomotor impairments. They are, therefore, very sensitive for Richardson’s syndrome, but less suitable for detecting the other clinical courses that PSP follows (Höglinger et al. 2017).

Recently, knowledge of the genetics of these patients has enabled new ideas regarding the diagnosis and treatment (Sidransky et al. 2009; Mitsui et al. 2015; Lill 2016; Chia et al. 2021). Understanding genetic factors and molecular mechanisms involved in AP has allowed it to broaden the understanding of these diseases, predicting disease risk, onset, and progression (Diez-Fairen et al. 2021).

The systems biology uses a wide range of quantitative experimental and computational data to elucidate gene, proteins and epigenetic components and their interconnections within cells, tissues, organs and organismal level functions (Tavassoly et al. 2018). As AP is a rare and complex syndrome, the use of systems biology tools may contribute to the characterization of hub-bottleneck genes (genes that have greater interactions in a pathway and key connectors in protein networks), along with the identification of their metabolic pathways for a better understanding of the basis of those disease (Miryala et al. 2018). Systems biology approaches can aid in understanding complex biological

systems, providing an exceptional platform to integrate diverse types of data with molecular and pathway information, leading to the development of predictive models for complex diseases such as AP. This study is an exploratory study that sought to use bioinformatics tools. The aim of this study was to characterize the hub-bottleneck genes for each type of AP, biological pathways, as well as the genetic associations, which could contribute to the understanding of the molecular basis of AP using a systems biology approach.

Methods

Search for genes related to types of atypical parkinsonism

DisGeNET is an open access web platform for the exploration and analysis of genetic traits of several known human diseases, as well as their phenotypic manifestations. The platform contains data from the largest publicly available repositories cataloging genomic wide association studies (GWAS), animal models, and scientific literature (Piñero et al. 2017a).

A systematic search for genes associated with each type of AP was performed on the DisGeNET database v.7.0 (Piñero et al. 2017a) the following query terms: “multiple system atrophy” (C0393571), “corticobasal degeneration” (C0393570), “progressive supranuclear palsy” (C0038868) and “Lewy body disease” (C0752347). Lewy body dementia was not available as a query search. Consequently, the term Lewy body disease (LBD) was used. Lewy body disease is a feature of several conditions, including Parkinson disease, Lewy body dementia and Parkinson disease dementia (PDD) (McKeith et al. 2017). Critical clinical components of LBD are also found in Alzheimer Disease (DA). Although diagnostic criteria for these neurodegenerative diseases have been well established and recently revised for LBD, accurate clinical diagnosis is often difficult because LBD, PD, PDD, and AD share common epidemiological, clinical, and pathological features (Foguem and Manckoundia 2018). The search was performed in April 2023. Genes identifiers were mapped to HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) (Povey et al. 2001).

Protein-protein interaction (PPI) network

The list of genes for the four types of AP (MSA, LBD, PSP and CBD) was obtained from the DisGeNET v.7.0 database. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed for each AP type using the Retrieval of Interacting Genes/Proteins tool v.11.5 (STRING, <https://string-db.org/>) (Szklarczyk et al. 2019). The objective of the STRING

database is to collect, score and integrate all publicly available sources of protein-protein interaction information and computational predictions by achieving a comprehensive global network, including direct and indirect interactions. An interaction score > 0.4 and $P < 0.05$ were considered as statistically significant. The data obtained from this analysis was imported into Cytoscape 3.8.2 for the network analysis and visualization (Shannon et al. 2003).

Network topological analyses

Hub genes and bottleneck genes of these networks were defined using the CytoHubba 0.1 plugin for Cytoscape, and the top 10% of each disease with the highest degree value were classified as hubs and the top 10% of each disease with the highest betweenness value were classified as bottlenecks (Pang et al. 2016; Heberle et al. 2015). The hub-bottleneck genes interaction was performed using the InteractiVenn tool.

Functional enrichment analyses

Functional enrichment analyses were performed to identify gene ontology (GO) terms and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways. These analyses were conducted using the list of hub-bottleneck genes obtained in the previous described analyses. The GO analyses established the biological processes (BP), cell components (CC), and molecular functions (MF) involved with the hub-bottleneck (Harris et al. 2006). In this regard, the ClueGOPlugin v.2.5.7 plugin in association with the Cluepedia plugin (both from Cytoscape) were used aiming to identify the GO terms (Bindea et al. 2009).

Pathways annotation from the KEGG (Minoru Kanehisa and Susumu Goto 2000) were used to investigate biological pathways. P-values were adjusted for multiple comparisons using the False Discovery Rate (FDR) method, and KEGG terms with $FDR < 0.05$ and two or more related genes were considered significantly enriched for the set of interest. KEGG pathways annotations were obtained using the pathDIP v4.0.21.3 database (Rahmati et al. 2017).

In addition, the lists of hub-bottlenecks genes for each disease were inserted, as well as the combined hub-bottleneck genes for each AP type. Only pathways with $p < 0.05$ were shown. Bonferroni test was used in advanced statistics options.

Statistical analyses

Cytoscape v3.8.2 (Shannon et al. 2003) software was used to demonstrate the PPI network for the different types of AP-related genes and to analyze the network topology. The

Table 1 PPI network analysis performed for all genes classified as hub-bottlenecks

Type of AP	Genes
Progressive supranuclear palsy	<i>CASP3, TNF, MAPT, APP, EGFR, APOE, BDNF, SOD1, PTEN, LRRK2</i> and <i>GFAP</i>
Multiple system atrophy	<i>SNCA</i>
Corticobasal syndrome	<i>APOE</i> and <i>MAPT</i>
Lewy body dementia	<i>APP, SNCA, CASP3, TNF, INS, MAPT, BDNF, APOE, IL6, HSP90AA1, NGF, GFAP, VEGFA, HSPA4, LRRK2, PARK7</i> and <i>DLG4</i>

statistical test used for the enrichment analyses was based on the hypergeometric test, adjusted for multiple hypotheses using the Benjamini-Hochberg FDR test. Interactions with a *q-value* < 0.05 are highly enriched. The Plotly chart studio (<https://chart-studio.plotly.com>) was used to construct the graphics.

Results

Network analyses: protein-protein interaction

The systematic search in the DisGeNET database identified 19 genes involved with MSA, 35 with CBD, 255 with LBD and 176 with PSP (Supplementary Table S1). The PPI network generated in the STRING database contained 16 nodes and 33 edges for MSA, 22 nodes and 70 edges for CBD, 224 nodes and 2137 edges for LBD, and 151 nodes and 1021 edges for PSP.

Identification of hub-bottleneck genes

We identified 11 hub-bottleneck genes for PSP, 1 for MSA and 2 for CBD, while 17 hub-bottleneck genes were described for LBD (Table 1) (Fig. 1). Moreover, the complete set of hub-bottleneck genes for each disease are shown in Figs. 2, 3, 4 and 5.

Cluster analysis of LBD and PSP

Cluster analysis of LBD using all genes was performed using the MCODE plugin as previously described in the **Methods** section, resulting in the identification of 5 individual clusters (Table 2). The same analysis was performed for PSP, which allowed the identification of 6 clusters (Table 3). The cluster analysis was not possible with AMS and CBD, as they formed a cluster with less than 3 genes.

Functional enrichment analysis

In the LBD functional enrichment analysis, 58 KEGG pathways were found as involved with the 17 hub-bottleneck genes. Six genes (*APOE, APP, CASP3, MAPT, SNCA* and *TNF*) were involved in the Alzheimer disease pathway and 7 genes (*CASP3, BDNF, INS, MAPT, NGF, TNF* and *VEGFA*) were involved with the MAPK signaling pathway. In the MSA functional enrichment analyses, two KEGG pathways were point out to the only one hub-bottleneck gene (*SNCA*). These pathways were related to Alzheimer disease and Parkinson disease. Functional enrichment analyses for the PSP identified 47 pathways, among them 5 genes were involved in the MAPK signaling pathway (*CASP3, EGRF, MAPT, BDNF* and *TNF*), while 3 genes were annotated for the

Fig. 1 Venn diagram with the hub and bottleneck gene. **A**- progressive supranuclear palsy, **B**- multiple system atrophy **C**- corticobasal degeneration and **D**- Lewy body dementia

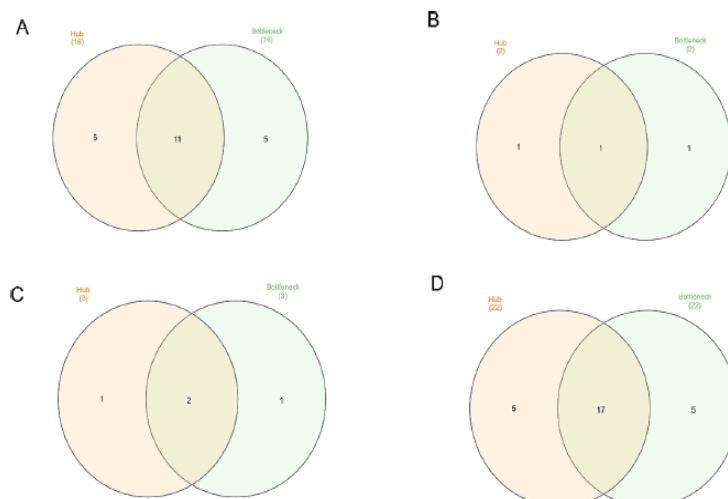


Fig. 2 Network referring to progressive supranuclear palsy hub, bottleneck and hub-bottleneck genes. Hub-bottleneck in green. Hub genes in purple and bottleneck genes in yellow

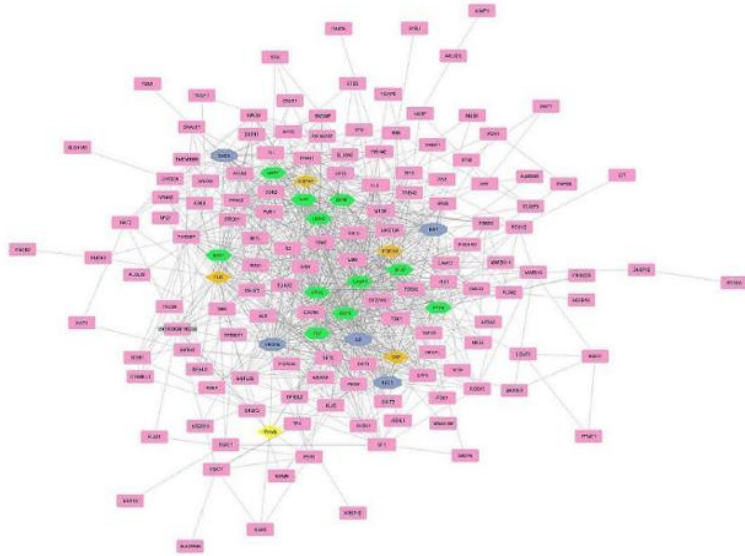
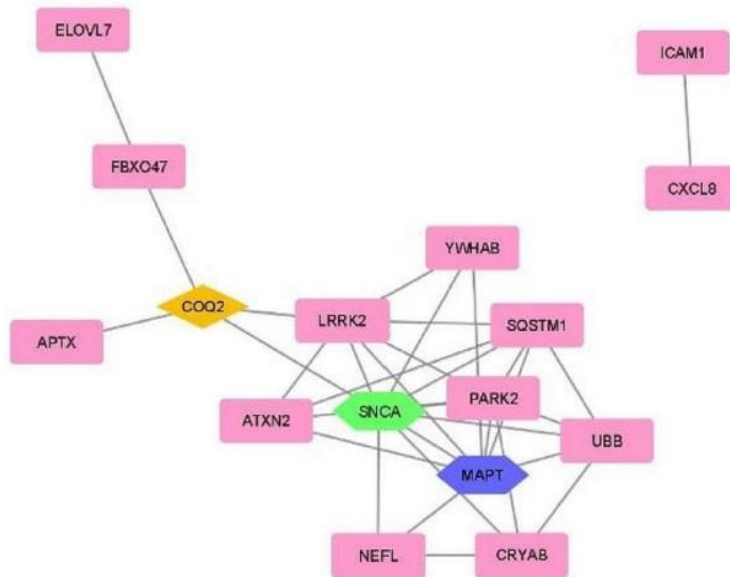


Fig. 3 Network referring to multiple system atrophy hub, bottleneck hub-bottleneck genes. Hub-bottleneck in green. Hub genes in purple and bottleneck genes in yellow



PI3K-Akt pathway signaling (*EGFR*, *BDNF* and *PTEN*). In addition, 5 genes were involved with the Alzheimer disease pathway (*APOE*, *APP*, *MAPT*, *TNF* and *APP*) and 2 genes were involved with Parkinson disease pathway (*CASP3* and *LRRK2*). We identified 3 enriched KEGG pathways for the CBD disease, but only two pathways were involved with

the hub-bottleneck gene (*MAPT*). The enriched pathways for this gene were Alzheimer disease and MAPK signaling pathway. The *APOE* (apolipoprotein E) gene was present in the Cholesterol metabolism pathway and Alzheimer disease pathway (Fig. 6).

Fig. 4 Network referring to corticobasal degeneration hub, bottleneck hub-bottleneck genes. Hub-bottleneck in green. Hub genes in purple and bottleneck genes in yellow

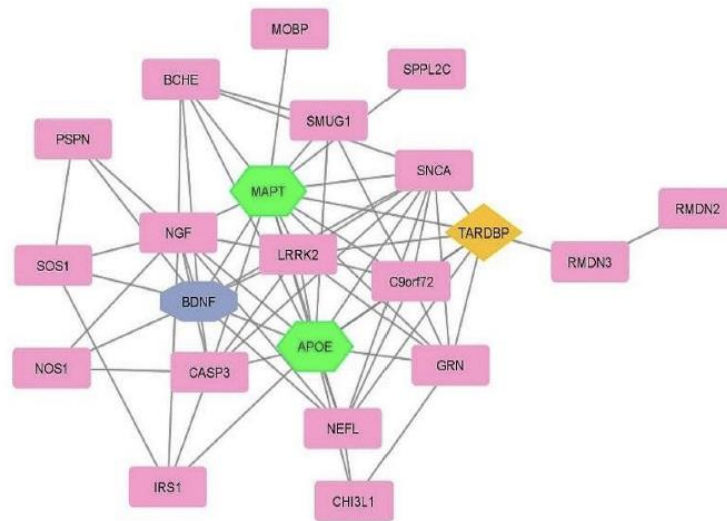
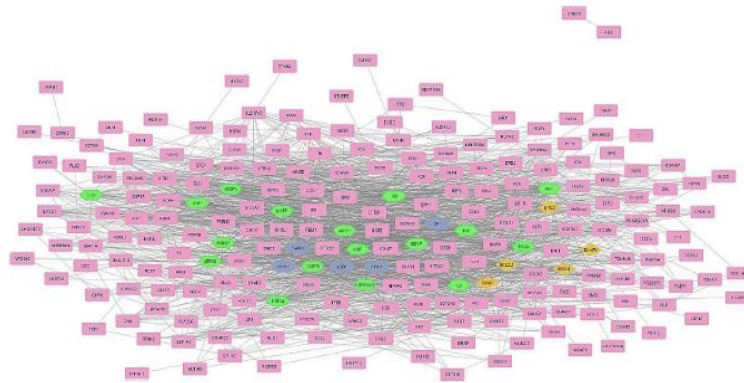


Fig. 5 Network referring to Lewy body dementia hub, bottleneck hub-bottleneck genes. Hub-bottleneck in green. Hub genes in purple and bottleneck genes in yellow



We also evaluated each group of hub-bottleneck genes related to AP diseases. The GO analyses demonstrated an enrichment of 33 CC, 15 MF and 453 BP related to the PSP, while 45 CC, 30 MF and 560 BP were linked to the LBD. The MSA resulted in 24 CC, 14 MF and 15 BP being associated to its unique hub-bottleneck gene and only one MF was detected as enriched in CBD.

Discussion

AP is a set of neurodegenerative diseases with complex clinical and pathological characteristics, such as LBD, MSA, PSP and CBD (Scholz and Bras 2015). In recent years, a great advance has been possible in the comprehension of the genetic etiology of these neurological diseases, though it is still not been fully elucidated. In the present study, we identified 31 hub-bottleneck genes involved in

the four types of AP using a systems biology approach. These genes are interconnected and participate in pathways related to PD, Alzheimer disease, cholesterol metabolism (APOE), MAPK signaling and PI3K-Akt pathways. Hub-bottleneck genes are crucial proteins involved in a specific protein interaction network, once they tend to act in combination to control or regulate certain cellular and molecular processes within the cells (Pang et al. 2016). It is already known that APOE 4 variant is a well-established genetic risk factor for Alzheimer disease (AD) (Serrano-Pozo et al. 2021). In this context, the *APOE* gene was found as a hub-bottleneck gene linked to both cholesterol metabolism and AD pathways. There are clinical and neuropathological similarities between dementia with Lewy bodies, PD and AD. The fact that these three diseases overlap in clinical and neuropathological characteristics suggests that they may also share an etiology (Bras et al. 2014). Studies evaluating genetic risk factor for CBD and PSP with APOE are

Table 2 Cluster analysis of Lewy body dementia

Cluster	Score	Nodes	Edges	Genes
1	11,529	18	98	<i>VCAM1, GFAP, BCL2L1, PTGS2, ACE, DCX, CSF2, PECAM1, MMP9, VEGFA, SPP1, CALB1, NOS3, EDN1, SOD2, NGF, TNF, NOS2</i>
2	10,611	37	191	<i>S100B, PARK2, CLU, IGF1, NOS1, APOE, HSPA4, A2M, BDNF, TARDBP, BACE1, AGER, GRN, BECN1, BCHE, ATG7, IGF1R, AQP4, CAMK2A, DLG4, SP1, SERPINA1, MAP2, FOXO1, FUS, LRRK2, SOD1, CSF1R, GAL, REM1, SLC1A2, IL6, LGALS3, CTSB, TSC2, C9orf72, AIF1</i>
3	10,171	36	178	<i>COMT, CH3L1, GBA, ACHE, INS, NEFL, CST3, FYN, APP, SNCAIP, DBH, UBB, CTSD, PSEN1, MAPT, CASP3, DRD2, HSP90AA1, PARK7, PSEN2, ENO2, NTRK2, NTRK1, CHMP2B, MAG, SNCA, UBC, TGFB2, HTRA2, SLC6A3, IGF2, RPS27A, PRNP, SLC17A7, DNMT1, TF</i>
4	4,667	19	42	<i>SQSTM1, DRD1, CHCHD2, SLC6A4, BCL2, GRM5, TMEM230, CHRNA4, NRAA2, TH, DNAJC13, LAMP2, MAOB, PINK1, EIF4G1, MAP1A, INSR, TOMM40, SLC6A2</i>
5	3	3	3	<i>FANCD2, BIRC5, BRCA2</i>

Table 3 Cluster analysis of progressive supranuclear palsy

Cluster	Score	Nodes	Edges	Genes
1	13,478	24	155	<i>APOE, SOD1, CRP, CST3, APP, IL6, SNCA, PRNP, EIF2AK3, BDNF, PARK2, GGT2, CASP3, HSPA4, NEFL, PSEN1, IRS1, MAPT, CDK5, FUS, NGF, ACE, IGF1, GFAP</i>
2	10,235	18	87	<i>TNF, TARDBP, CSF2, RUNX2, VEGFA, PTPRC, PTEN, EGFR, CXCR4, CLU, SPP1, MTOR, LRRK2, TGFB1, GRN, C9orf72, IL2, IFNG</i>
3	4	4	6	<i>CTNBL1, SF3B1, SRSF2, TRA2B</i>
4	3	3	3	<i>PSEN2, TREM2, PICALM</i>
5	3	3	3	<i>DCTN1, SETX, ATXN2</i>
6	3	3	3	<i>NFE2L2, BRCA1, SP1</i>

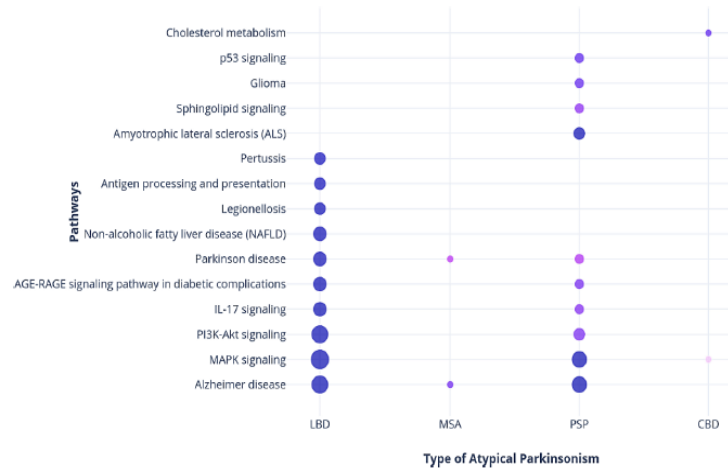
still controversial (Zhao et al. 2018; Sabir et al. 2019). A higher frequency of APOE, $\epsilon 2$ allele, but not $\epsilon 4$ allele, in PSP was found in a Japanese cohort (Sawa et al. 1997) and a genome-wide association study performed on a cohort of CBD found no association of APOE with CBD (Kouri et al. 2015). Cholesterol is a very important component of the cell membrane and plays a fundamental role in vital processes. The cerebral cholesterol is in great quantity among the total cholesterol of the human body and its regulation needs to be orchestrated for the maintenance of brain functions (Dai et al. 2021). Disturbances in the cholesterol metabolism have been linked to neurodegenerative diseases, although the relation between them has not been fully understood (Dietschy and Turley 2004; Vance 2012). In the brain, cholesterol primarily combines with APOE, which is primarily synthesized by astrocytes to form lipoprotein.

The *SNCA* gene was enriched in the PD pathway, and this gene was present in DisGeNET database in MSA and LBD diseases. The first mutation associated with PD was in the *SNCA* gene (Polymeropoulos et al. 1997). This gene is responsible for encoding α -synuclein, a protein considered the main component of the Lewy body that are the pathognomonic hallmarks of PD and there are already associations with MSA and LBD (Scholz et al. 2009). Despite the normal level of α -synuclein (wild type) is majorly related to synaptic physiological functions, its overexpression may act in an opposite way (Kim et al. 2011). This protein contributes to the formation of oligomer that is believed to play a key role in the cell death. However, it has been found that overexpression of α -synuclein (wild type) could be modulated by several genetic and epigenetic mechanisms of *SNCA*, such as longer Rep1 alleles, hypomethylation of the CpG island in intron-1, gene multiplication and UTR (464 C>A) can increase the level of protein expression (Xu et al. 2015).

Considering the increased expression α -synuclein in patients with parkinsonism such as MSA, LBD and PD and the increasing number of studies focused on understanding the genetics and epigenetics based on the upregulation of the *SNCA* expression level. This could perhaps be used as a therapy that aims to suppress or stabilize the expression of the *SNCA* gene (Lim et al. 2011; Xu et al. 2015). It has already been demonstrated by Lim and colleagues (2011) that the inhibition of *SNCA* expression initiated pathological reversion, as well as better behavior and memory in the LBD rodent model (Lim et al. 2011).

MAPK pathway is present in PSP, Lewy body disease and CBD, and involves 8 hub-bottleneck genes (*BDNF, CASP3, INS, MAPT, NGF, EGFR, TNF* and *VEGFA*) in our study. MAPK pathway is activated by several extracellular and intracellular stimuli, which include peptide growth factors, cytokines, hormones, and many cellular stressors. This pathway functions as a regulator of various cellular

Fig. 6 The top 10 metabolic pathways for LBD, MSA, PSP and CBD classified according to the number of genes involved



activities, including proliferation, differentiation, survival and death (Kim and Choi 2010).

In our study The nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) are involved in biological processes, such as regulation of neuronal death and cognition. There is enriched MAPK pathway and in the PI3K-Akt signaling pathway, proving the importance of studying these genes in AP. NGF is important for the survival, growth, and maintenance of specific types of neurons in the central and peripheral nervous system. BDNF is linked with survival and maintenance of sensory neurons, certain cholinergic neurons, spinal motor neurons and some dopaminergic neurons. The depletion of these neurotrophic factors has been linked with disease pathology and symptom for neurodegenerative diseases (Allen et al. 2013).

The *APP* (amyloid beta precursor protein) gene encodes the amyloid precursor protein, being involved in the AD pathway due to its fundamental role in the pathogenesis of this disease. The proteolytic cleavage of *APP* gives rise to the β -amyloid peptide that is deposited in the brain of both AD and PD. β -amyloid and tau deposition are also comorbid associations, but the deposition of β -amyloid has been especially associated with cognitive decline in PD (Aydin et al. 2012; Lim et al. 2019). In our GO analyses, the positive regulation of β -amyloid formation and neuron death were identified as important biological processes involved with AP, which corroborates with these findings. Thus, it is demonstrated that symptoms overlap in tauopathies, such as AD, PSP and CBD, and often coexist (Devi 2023).

In our analyses, it was possible to identify biological processes involved with the glial cell development and glial cell activation, being 7 genes directly involved (*EGFR*, *APP*, *SNCA*, *MAPT*, *TNF*, *SOD1* and *PTEN*). Also, *EGFR*, *APP*, *MAPT* and *TNF* genes were related to the

astrocyte activation. Three of them (*MAPT*, *TNF* and *APP*) are enriched in both MAPK and AD pathways, thus demonstrating their possibly role in the group of AP syndrome. Astrocytes are the most abundant glial cells in the central nervous system, performing critical functions for neurons. One of the main functions of astrocytes is the maintenance of homeostasis of the extracellular space that surrounds nerve cells. However, astrocytes also play a crucial role in neurodegenerative processes (Booth et al. 2017).

The *MAPT* (microtubule associated protein tau) gene encodes the tau protein that seems to cause frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17), providing the clearest evidence that tauopathy plays a causal role in parkinsonian syndromes (Cailliet-Boudin et al. 2015; Arendt et al. 2016). Tauopathies refer to a wide range of phenotypically diverse diseases characterized by the aberrant aggregation of tau in neurons and/or glia, including PSP and CBD (Arendt et al. 2016). However, the mechanisms by which mutations in the *MAPT* gene promote tauopathy are still inconclusive and may not provide information on how tauopathy appears in the absence of mutations (Strang et al. 2019). *MAPT* is present as a hub-bottleneck in LBD, CBD and PSP, showing itself as a possible key gene for the pathology that is still poorly understood. As PSP and CBD are tauopathies, one hypothesis is that mutations in the *MAPT* gene may contributed to the understanding of parkinsonism and dementia in these patients. *MAPT* is the risk locus with the strongest effect size in sporadic PSP in GWAS (Höglinger et al. 2011). In Lewy body disease, a study by Heckman et al. verified the rare microtubule-associated protein tau H1 sub haplotype may be associated with severe putaminal dopaminergic degeneration in these cases (Heckman et al. 2019).

AP is still poorly studied, unlike PD. In this context, we demonstrated the importance of studies based on systems biology approaches for a better understanding of the disease, including its involved pathways, molecular mechanisms, and key genes, thus aiming a therapeutic mechanism in the future.

A very useful tool for studying biological systems is the use of systems biology approaches, which are a combination of computational and mathematical models. Systems biology involves quantitative analyses, unlike the qualitative form of other techniques (Vidal 2009). The DisGeNET database, which is one of the largest databases with information about genes and variants involved in human diseases can be used for different research purposes, including investigating the molecular underpinnings of specific human diseases and their comorbidities, analyzing the properties of disease genes (Piñero et al. 2017b). The use of the PPI network plays an important role in predicting the functionality of interacting genes or proteins and provides insight into the functional relationships and interactions between diseases (Miryala et al. 2018). Despite best efforts and the strength of the algorithms and methods used, some limitations should be considered when interpreting our results. First, our results are based on the literature available at the time of writing this manuscript. Second, we cannot exclude the possibility that other genes may be key factors in the pathophysiology.

Conclusion

In conclusion, we identified 31 hub-bottleneck genes that are highly interconnected and may play a key role in the pathogenesis of AP. Our functional enrichment analyses showed that these genes are involved in several biological processes and pathways, such as MAPK, PD and AD pathways. Interestingly, 4 genes (*MAPT*, *APOE*, *SNCA* and *APP*) were found as being involved with important pathways related to the studied syndromes. New experimental analyzes need to be performed to understand and validate their interactions.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s11011-024-01342-7>.

Acknowledgements We would like to thank Research Incentive Fund – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE – HCPA), CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support and Programa de Pós- Graduação em Genética e Biologia Molecular at Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

Author contributions All authors contributed to the study conception

and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by Amanda Pasqualotto, Marian Siebert, Felipe Mateus Pellenz, Vinicius da Silva, Artur Francisco Schumacher-Schuh and Ida Vanessa Doederlein Schwartz. The first draft of the manuscript was written by Amanda Pasqualotto and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Research Incentive Fund – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE – HCPA).

Data availability The datasets generated analysed during the current study are available in the repository, DisGeNET database v.7.0 <https://www.disgenet.org>.

Declarations

Ethics approval This study involves only public domain data that does not identify the participants, so no ethical approval is required.

Consent to participate Not applicable.

Consent to publish Not applicable.

Conflict of interest All authors certify that they have no involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this article.

Competing Interests The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this article.

References

- Allen SJ, Watson JJ, Shoemark DK et al (2013) GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. *Pharmacol Ther* 138:155–175. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.004>
- Arendt T, Stieler JT, Holzer M (2016) Tau and tauopathies. *Brain Res Bull* 126:238–292. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.018>
- Aydin D, Weyer SW, Müller UC (2012) Functions of the APP gene family in the nervous system: insights from mouse models. *Exp Brain Res* 217:423–434. <https://doi.org/10.1007/s00221-011-2861-2>
- Bindea G, Mlecnik B, Hackl H et al (2009) ClueGO: a Cytoscape plugin to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics* 25:1091–1093. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp101>
- Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R (2017) The role of astrocyte dysfunction in Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci* 40:358–370. <https://doi.org/10.1016/j.tns.2017.04.001>
- Bras J, Guerreiro R, Darwent L et al (2014) Genetic analysis implicates APOE, SNCA and suggests lysosomal dysfunction in the etiology of dementia with Lewy bodies. *Hum Mol Genet* 23:6139–6146. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu334>
- Brown RC, Lockwood AH, Sonawane BR (2005) Neurodegenerative diseases: an overview of environmental risk factors. *Environ Health Perspect* 113:1250–1256. <https://doi.org/10.1289/ehp.7567>

- Caillet-Boudin ML, Buée L, Sergeant N, Lefebvre B (2015) Regulation of human MAPT gene expression. *Mol Neurodegener* 10:1–14. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0025-8>
- Chen Y, Cao B, Yang J et al (2015) Analysis and meta-analysis of five polymorphisms of the LINGO1 and LINGO2 genes in Parkinson's disease and multiple system atrophy in a Chinese population. *J Neurol* 262:2478–2483. <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7870-9>
- Chia R, Sabir MS, Bandres-Ciga S et al (2021) Genome sequencing analysis identifies new loci associated with Lewy body dementia and provides insights into its genetic architecture. *Nat Genet* 53:294–303. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00785-3>
- Dai L, Zou L, Meng L et al (2021) Cholesterol metabolism in neurodegenerative diseases: Molecular mechanisms and therapeutic targets. *Mol Neurobiol* 58:2183–2201. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02232-6>
- Deutschländer AB, Ross OA, Dickson DW, Wszolek ZK (2018) Atypical parkinsonian syndromes: a general neurologist's perspective. *Eur J Neurol*
- Devi G (2023) The tauopathies. *Handb Clin Neurol* 196:251–265. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-98817-9.00015-6>
- Dickson DW, Bergeron C, Chin SS et al (2002) Office of rare diseases neuropathologic criteria for corticobasal degeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 61. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.11.935>
- Dietschy JM, Turley SD (2004) Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *J Lipid Res*
- Diez-Fairen M, Alvarez Jerez P, Berghausen J, Bandres-Ciga S (2021) The Genetic Landscape of parkinsonism-related Dystonias and atypical parkinsonism-related syndromes. *Int J Mol Sci* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22158100>
- Don AS, Hsiao J-HT, Bleasel JM et al (2014) Altered lipid levels provide evidence for myelin dysfunction in multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Commun* 2:150. <https://doi.org/10.1186/s40478-014-0150-6>
- Fabbrini G, Fabbrini A, Suppa A (2019) Progressive supranuclear palsy, multiple system atrophy and corticobasal degeneration. *Handb Clin Neurol* 165:155–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64012-3.00009-5>
- Fellner L, Stefanova N (2013) The role of glia in α -synucleinopathies. *Mol Neurobiol* 47:575–586. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8340-3>
- Foguem C, Manckoundia P (2018) Lewy Body Disease: clinical and pathological overlap syndrome between synucleinopathies (Parkinson Disease) and tauopathies (Alzheimer Disease). *Curr Neurol Neurosci Rep* 18
- Giagkou N, Stamelou M (2018) Therapeutic management of the overlapping syndromes of atypical parkinsonism. *CNS Drugs*
- Harris MA, Clark JI, Ireland A et al (2006) The gene ontology (GO) project in 2006. *Nucleic Acids Res* 34:D322–D326. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj021>
- Heberle H, Meirelles VG, da Silva FR et al (2015) InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. *BMC Bioinformatics* 16:1–7. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0611-3>
- Heckman MG, Kasanuki K, Brennan RR et al (2019) Association of MAPT H1 subhaplotypes with neuropathology of lewy body disease. *Mov Disord* 34:1325–1332. <https://doi.org/10.1002/mds.27773>
- Höglinger GU, Melhem NM, Dickson DW et al (2011) Identification of common variants influencing risk of the tauopathy progressive supranuclear palsy. *Nat Genet* 43:699–705. <https://doi.org/10.1038/ng.859>
- Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M et al (2017) Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: the movement disorder society criteria. *Mov Disord*. <https://doi.org/10.1002/mds.26987>
- Holmberg B, Rosengren L, Karlsson J-E, Johnels B (1998) Increased cerebrospinal fluid levels of neurofilament protein in progressive supranuclear palsy and multiple-system atrophy compared with Parkinson's disease. *Mov Disord* 13:70–77. <https://doi.org/10.1002/mds.870130116>
- Jellinger KA (2018) Multiple system atrophy: an oligodendroglioneuronal Synucleinopathy1. *J Alzheimers Dis* 62:1141–1179. <https://doi.org/10.3233/JAD-170397>
- Jellinger KA, Wenning GK (2016) Multiple system atrophy: pathogenic mechanisms and biomarkers. *J Neural Transm (Vienna)* 123:555–572. <https://doi.org/10.1007/s00702-016-1545-2>
- Kim EK, Choi EJ (2010) Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1802:396–405. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.12.009>
- Kim SS, Moon KR, Choi HJ (2011) Interference of alpha-synuclein with cAMP/PKA-dependent CREB signaling for tyrosine hydroxylase gene expression in SK-N-BE(2)C cells. *Arch Pharm Res* 34:837–845. <https://doi.org/10.1007/s12272-011-0518-0>
- Kouri N, Ross OA, Dombroski B et al (2015) Genome-wide association study of corticobasal degeneration identifies risk variants shared with progressive supranuclear palsy. *Nat Commun* 6:1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms8247>
- Lill CM (2016) Genetics of Parkinson's disease. *Mol Cell Probes*
- Lim Y, Kehm VM, Lee EB et al (2011) A-Syn suppression reverses synaptic and memory defects in a mouse model of Dementia with Lewy Bodies. *J Neurosci* 31:10076–10087. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0618-11.2011>
- Lim EW, Aarsland D, Ffytche D et al (2019) Amyloid- β and Parkinson's disease. *J Neurol* 266:2605–2619. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-9100-8>
- McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW et al (2017) Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies. *Neurology* 89:88–100. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004058>
- Melissa J, Armstrong et al (2013) Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology* 67:513–523. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31827f0fd1>
- Minoru Kanehisa and Susumu Goto (2000) KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res* 28:27–30
- Miryala SK, Anbarasu A, Ramaiah S (2018) Discerning molecular interactions: A comprehensive review on biomolecular interaction databases and network analysis tools. *Bio*
- Mitsui J, Matsukawa T, Sasaki H et al (2015) Variants associated with gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. <https://doi.org/10.1002/acn3.185>
- Pang E, Hao Y, Sun Y, Lin K (2016) Differential variation patterns between hubs and bottlenecks in human protein-protein interaction networks. *BMC Evol Biol*. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0840-8>
- Piñero J, Bravo Á, Queralt-Rosinach N et al (2017a) DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. *Nucleic Acids Res* 45:D833–D839. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw943>
- Piñero J, Bravo Á, Queralt-Rosinach N et al (2017b) DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. *Nucleic Acids Res*. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw943>
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E et al (1997) Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Sci* (1979) 276:2045–2047. <https://doi.org/10.1126/science.276.5321.2045>
- Povey S, Lovering R, Bruford E et al (2001) The HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC). *Hum Genet* 109:678–680. <https://doi.org/10.1007/s00439-001-0615-0>
- Rahmati S, Abovsky M, Pastrello C, Jurisica I (2017) PathDIP: an annotated resource for known and predicted human gene-pathway

- associations and pathway enrichment analysis. *Nucleic Acids Res* 45:D419–D426. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1082>
- Rösler TW, Tayaranian Marvian A, Brendel M et al (2019) Four-repeat tauopathies. *Prog Neurobiol* 180:101644. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.101644>
- Sabir MS, Blauwendraat C, Ahmed S et al (2019) Assessment of APOE in atypical parkinsonism syndromes. *Neurobiol Dis* 127:142–146. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.02.016>
- Sanford AM (2018) Lewy Body Dementia. *Clin Geriatr Med* 34:603–615. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2018.06.007>
- Sawa A, Amano N, Yamada N et al (1997) Apolipoprotein E in progressive supranuclear palsy in Japan. *Mol Psychiatry* 2:341–342. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000285>
- Scholz SW, Bras J (2015) Genetics underlying atypical parkinsonism and related neurodegenerative disorders. *Int J Mol Sci*
- Scholz SW, Houlden H, Schulte C et al (2009) SNCA variants are associated with increased risk for multiple system atrophy. *Ann Neurol* 65:610–614. <https://doi.org/10.1002/ana.21685>
- Serrano-Pozo A, Das S, Hyman BT (2021) APOE and Alzheimer's disease: advances in genetics, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Lancet Neurol* 20:68–80. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30412-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30412-9)
- Shannon P, Markiel A, Ozier O et al (2003) Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 13:2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO et al (2009) Multicenter Analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's Disease. *N Engl J Med*. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0901281>
- Stamelou M, Respondek G, Giagkou N et al (2021) Evolving concepts in progressive supranuclear palsy and other 4-repeat tauopathies. *Nat Rev Neurol* 17:601–620. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00541-5>
- Stefanis L (2012) α -Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a009399. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009399>
- Stefanova N, Reindl M, Neumann M et al (2007) Microglial activation mediates neurodegeneration related to oligodendroglial alpha-synucleinopathy: implications for multiple system atrophy. *Mov Disord* 22:2196–2203. <https://doi.org/10.1002/mds.21671>
- Strang KH, Golde TE, Giasson BI (2019) MAPT mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Lab Invest* 99:912–928. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0197-x>
- Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D et al (2019) STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res* 47:D607–D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- Tavassoly I, Goldfarb J, Iyengar R (2018) Systems biology primer: the basic methods and approaches. *Essays Biochem* 62:487–500. <https://doi.org/10.1042/EBC20180003>
- Ubhi K, Lee PH, Adame A et al (2009) Mitochondrial inhibitor 3-nitropropionic acid enhances oxidative modification of alpha-synuclein in a transgenic mouse model of multiple system atrophy. *J Neurosci Res* 87:2728–2739. <https://doi.org/10.1002/jnr.22089>
- Vance JE (2012) Dysregulation of cholesterol balance in the brain: contribution to neurodegenerative diseases. *DMM Disease Models and Mechanisms*
- Vidal M (2009) A unifying view of 21st century systems biology. *FEBS Lett*
- Wenning GK, Stankovic I, Vignatelli L et al (2022) The Movement Disorder Society Criteria for the diagnosis of multiple system atrophy. *Mov Disord* 37:1131–1148
- Xu W, Tan L, Yu JT (2015) The link between the SNCA gene and parkinsonism. *Neurobiol Aging* 36:1505–1518. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.042>
- Zhao N, Liu C-C, Van Ingelgom AJ et al (2018) APOE ϵ 2 is associated with increased tau pathology in primary tauopathy. *Nat Commun* 9:4388. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06783-0>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Capítulo 2 – Lysosomal disease variants in Brazilian patients with atypical parkinsonism syndromes

Em preparo

5. DISCUSSÃO

Em nosso estudo, realizamos uma avaliação detalhada das variantes em genes associados a doenças lisossômicas. Este estudo teve uma abordagem exploratória, permitindo-nos examinar as possíveis relações entre esses genes e as síndromes estudadas. Os resultados obtidos indicam uma possível relação de que esses genes desempenhem um papel significativo no desenvolvimento e manifestação das síndromes em questão. Esse achado embora em um número reduzido de pacientes tem implicações importantes para o entendimento das síndromes e pode fornecer *insights* valiosos para futuras pesquisas.

O início de nosso estudo remonta à 2019, quando iniciamos os procedimentos de identificação de pacientes que preenchiam os critérios para PA no ambulatório de distúrbios do movimento do HCPA. No entanto, fomos confrontados com o desafio inesperado do surgimento de uma pandemia global, que teve um impacto significativo em nossa pesquisa. Infelizmente, muitos dos pacientes que havíamos previamente selecionados foram impossibilitados de participar devido às restrições e preocupações relacionadas à pandemia. Quando retomamos as coletas no final de 2021, encontramos novos obstáculos, especialmente devido ao status de risco de muitos dos pacientes, que enfrentaram dificuldades em se deslocar para o hospital para participar do estudo. Como resultado dessas circunstâncias desafiadoras, o número inicial de pacientes com parkinsonismo atípico foi reduzido para 23, o que impactou nossa capacidade de análise e generalização dos resultados.

Com a impossibilidade de continuar a busca por pacientes durante a pandemia, iniciamos um estudo focado na identificação de genes-chave no PA utilizando a abordagem da biologia de sistemas. Em nossa análise, identificamos genes centrais em cada tipo de patologia neurodegenerativa. No total, foram identificados 31 genes de alta centralidade (*hub-bottleneck*) em todos os conjuntos de síndromes investigadas, muitos dos quais eram compartilhados entre as diferentes síndromes. Ao avaliar globalmente todos os genes associados às patologias neurodegenerativas, destacamos a presença dos genes *NPC1* e *NPC2* na rede de interação para PSP, enquanto o gene *GBA1* foi observado na rede de interação tanto para PSP quanto para DCL, corroborando com os nossos resultados do estudo com pacientes com PA.

Em nossas análises com a ferramenta de biologia de sistemas foram possíveis a identificação de importantes vias metabólicas no PA. Uma das vias que merece destaque é a

via relacionada com o colesterol. O colesterol cerebral representa uma proporção significativa do colesterol total do corpo humano e requer uma regulação precisa para a manutenção das funções cerebrais (Dai et al., 2021). Perturbações no metabolismo do colesterol têm sido associadas a doenças neurodegenerativas, embora a relação entre elas não tenha sido completamente compreendida (Dietschy e Turley, 2004; Vance, 2012). Em estudos, já foi observado que a α -sinucleína demonstra uma forte afinidade com lipídios, os quais se ligam às membranas celulares ou outras estruturas de membrana, influenciando diretamente sua cinética. Essa descoberta sugere que o metabolismo do colesterol pode desempenhar um papel patológico na agregação da α -sinucleína (Bar-On et al., 2008; Nakamura et al., 2015). Sabemos que as alterações em *NPC1* e *NPC2* causam defeitos em proteínas que estão presentes nos lisossomos e nos endossomos tardios, e são responsáveis pelo transporte e mobilização intracelular de moléculas, como o colesterol, que desempenham diversas funções para as células.

Nossas análises com pacientes revelaram uma descoberta significativa relacionada à importância dos genes *NPC1*, *NPC2* e *SMPD1* em pacientes com PA, os quais estão associados às formas da Doença de Niemann-Pick. Essa constatação sugere uma possível relação entre esses genes e o desenvolvimento do PA. Em nosso estudo, variantes nestes genes mencionados foram encontrados em cinco pacientes com as seguintes síndromes: PSP, AMS e DCL. Essa correlação é respaldada por evidências na literatura que indicam uma associação entre os processos neurodegenerativos, sugerindo que os mecanismos patogênicos subjacentes à Niemann-Pick tipo C pode influenciar a agregação da proteína α -sinucleína (Ouled Amar Bencheikh et al., 2020; Wong; Krainc, 2017).

Acredita-se que o acúmulo de proteína tau e a disfunção lisossomal possam desempenhar um papel crucial nesse contexto, induzindo uma diminuição na degradação, fosforilação anormal e aumento na oligomerização. Em conclusão, as agregações proteicas patológicas endógenas podem induzir neuroinflamação, o que aumenta ainda mais a agregação proteica e promove a neurodegeneração (Zhang et al., 2023). Na verdade, a inflamação parece desempenhar um papel crucial no desenvolvimento e progressão de doenças neurodegenerativas. Evidências crescentes sugerem que fatores de risco ambientais comuns de doenças neurodegenerativas podem desencadear uma resposta inflamatória, iniciando e exacerbando a progressão da doença. Além disso, muitos dos fatores de risco genéticos de doenças neurodegenerativas são genes relacionados com o sistema imunitário.

Estes dados indicam que a inflamação provavelmente desempenha um papel central no início e na progressão da neurodegeneração. Esses achados são fundamentais para a compreensão dos mecanismos patológicos subjacentes ao Parkinsonismo atípico e podem abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas a esses alvos moleculares específicos. A interconexão entre as doenças neurodegenerativas e as vias moleculares envolvidas destaca a complexidade dessas condições e ressalta a importância de abordagens integrativas na pesquisa dessas patologias.

Outro aspecto em nosso estudo sobre o PA é a avaliação seletiva de variantes genéticas com uma frequência na população inferior a 1%. Essa abordagem nos permitiu concentrar nossa análise em variantes menos comuns, que podem desempenhar um papel mais significativo nessa condição neurológica complexa. Todas as variantes selecionadas foram submetidas a critérios estabelecidos pelo nosso estudo, incluindo a validação por meio de preditores *in silico*, garantindo assim a solidez e a relevância dos dados analisados.

Além disso, uma avaliação criteriosa dos polimorfismos seria interessante, levando em consideração a natureza multifatorial e poligênica do Parkinsonismo atípico. Reconhecemos a importância de explorar as possíveis associações entre polimorfismos específicos e esta doença neurodegenerativa, o que pode oferecer insights cruciais sobre os fatores genéticos subjacentes à sua patogênese.

Doutorado-sanduíche

Durante o período de fevereiro a julho de 2023, foi realizado o doutorado-sanduíche na Baylor College of Medicine, localizado em Houston, Texas, nos Estados Unidos, sob a orientação do Professor Richard H. Finnell. Esta oportunidade surgiu de forma inesperada durante a fase final do doutorado e foi bastante rápida. Enfrentamos alguns desafios, como o envio das amostras de pacientes com parkinsonismo atípico para o laboratório nos EUA. Contudo, conseguimos realizar análises de folato e glutatona nos pacientes com PA, utilizando um grupo controle de pacientes com DG. Os efeitos adversos da deficiência de folato no sistema nervoso em desenvolvimento levantaram a possibilidade de que essa deficiência, juntamente com os níveis elevados de homocisteína, também possa ter efeitos adversos no sistema nervoso de adultos juntamente com doenças relacionadas à idade (Mattson; Kruman; Duan, 2002). Quanto à glutatona, já existem evidências que mostraram o envolvimento da disfunção de moléculas antioxidantes, incluindo a glutatona

e suas moléculas relacionadas, na patogênese da DP ou em modelos parkinsonianos (Asanuma; Miyazaki, 2021). Os resultados obtidos até o momento são preliminares e requerem análises adicionais, as quais já estão em andamento.

6. CONCLUSÕES

As conclusões da presente tese serão apresentadas abaixo, relacionadas de acordo com os objetivos específicos propostos.

1. **Objetivo específico 1- Identificar os genes *hub-bottleneck* de cada tipo de PA.**

Em nosso estudo foram 11 genes *hub-bottleneck* para PSP (*CASP3, TNF, MAPT, APP, EGFR, APOE, BDNF, SOD1, PTEN, LRRK2, GFAP*), 1 para AMS (*SNCA*) e 2 para DCB (*APOE, MAPT*), enquanto 17 genes *hub-bottleneck* foram descritos para DCL (*APP, SNCA, CASP3, TNF, INS, MAPT, BDNF, APOE, IL6, HSP90AA1, NGF, GFAP, VEGFA, HSPA4, LRRK2, PARK7, DLG4*). Pode ser observado que muitos destes genes são compartilhados com mais de uma síndrome.

2. **Objetivo específico 2- Analisar as vias metabólicas relacionadas aos genes *hub-bottleneck* para o entendimento das bases do PA.**

A análise de enriquecimento funcional revelou *insights* significativos nas vias metabólicas associadas às síndromes de DCB, DCL, AMS e PSP. Na DCL foram encontradas 58 vias KEGG entre estas, via da doença de Alzheimer e via de sinalização MAPK. Nas análises de AMS, duas vias estavam relacionadas à doença de Alzheimer e à doença de Parkinson. Análises de enriquecimento funcional para o PSP identificaram 47 vias, entre elas a via de sinalização MAPK, a via PI3K-Akt, via da doença de Alzheimer e a via da doença de Parkinson. Identificamos 3 vias KEGG enriquecidas para a doença DCB, vias enriquecidas foram a doença de Alzheimer, a via de sinalização MAPK, a via do metabolismo do colesterol. Esses resultados destacam a interconexão de vias metabólicas cruciais entre as diferentes síndromes, proporcionando uma compreensão mais abrangente das bases moleculares subjacentes a essas condições neurodegenerativas.

3. **Objetivo específico 3- Determinar a frequência de alterações de sequência nos genes *GBA1, SMPD1, LIPA, NPC1, NPC2* e *PSAP* nos pacientes com PA.**

A frequência das variantes encontradas na amostra de 23 pacientes é maior que encontradas nos controles e nos bancos de dados de frequência AbraOM, gnomAD.

Esses resultados reforçam a possível associação dessas variantes com as síndromes observadas nos pacientes, sugerindo uma relação entre as variantes genéticas identificadas e o desenvolvimento do parkinsonismo atípico.

Dentre estes 23, 6 pacientes apresentaram variantes nos genes *GBA1*, *NPC1*, *NPC2* e *SMPD1*. Um paciente com AMS e em 2 controles apresentaram a variante p.Glu365Lys. A variante p.Arg534Cys estava presente em um paciente com PSP. Variantes de *NPC1* foram encontradas em 3 pacientes: p.Asn222Ser no um paciente com PSP e um paciente com MAS e em 1 controle, e p.Pro434Ser em um paciente com PSP e em 3 controles. A variante *NPC2* p.Val30Met foi encontrada em um paciente com AMS. A variante em *SMPD1* p.Gly492Ser foi encontrada em um paciente com DCL.

4. Objetivo específico 4- Descrever o fenótipo de pacientes com parkinsonismo atípicos portadores de variantes nos genes de doenças lisossômicas analisados.

Os pacientes com variantes em genes de doenças lisossômicas apresentaram as seguintes síndromes: três pacientes com AMS, dois pacientes com PSP e um paciente com DCL. Intrigantemente, nenhum dos três pacientes diagnosticados com DCB apresentou variantes nos genes investigados.

7. PERSPECTIVAS

A presente pesquisa permitiu a compreensão de aspectos genéticos do Parkinsonismo atípico. Contudo, os resultados obtidos neste trabalho também permitiram a realização de novos questionamentos, a serem os próximos passos para a continuidade desta pesquisa. No mesmo período que foi realizada essa pesquisa, realizou-se estudos sobre a Doença de Gaucher em paralelo no grupo de pesquisa:

- I. Avaliar as variantes com frequência maior que 1% no painel realizado para os 23 pacientes com PA;
- II. Ampliar a amostra de pacientes com PA para a análise das variantes em genes de doenças lisossômicas;
- III. Analisar exomas de pacientes com DP no *Parkinson's Progression Markers Initiative* nos genes de doenças lisossômicas que foram estudados na nossa pesquisa e avaliar a frequência de determinadas variantes nestes genes e nesta população.
- IV. Finalizar o manuscrito sobre ácido fólico e glutatona em pacientes com Parkinsonismo atípico e Doença de Gaucher realizado no período do Doutorado-sanduíche
- V. Finalizar as análises de haplótipos de pacientes brasileiros com Doença de Gaucher;
- VI. Atualizar os pacientes com Doença de Gaucher e as variantes na escrita do artigo científico;

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOV, A.; SCHORR, S.; WOLMAN, M. GENERALIZED XANTHOMATOSIS WITH CALCIFIED ADRENALS. **A.M.A. Journal of Diseases of Children**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 282–286, 1956. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/fullarticle/498342>. Acesso em: 31 jan. 2024.

ADIBHATLA, Rao Muralkrishna; HATCHER, James F. Role of Lipids in Brain Injury and Diseases. **Future lipidology**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 403–422, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18176634/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

AFLAKI, Elma *et al.* A characterization of Gaucher iPS-derived astrocytes: Potential implications for Parkinson’s disease. **Neurobiology of disease**, [s. l.], v. 134, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31669751/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

AHARON-PERETZ, Judith; ROSENBAUM, Hanna; GERSHONI-BARUCH, Ruth. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson’s disease in Ashkenazi Jews. **The New England journal of medicine**, [s. l.], v. 351, n. 19, p. 1972–1977, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15525722/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

AL-CHALABI, Ammar *et al.* Genetic variants of the α -synuclein gene SNCA are associated with multiple system atrophy. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 4, n. 9, 2009.

ALZHEIMER’S DISEASE INTERNATIONAL. **World Alzheimer Report 2019: Attitudes to dementia**. [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2019/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

ARENDDT, Thomas; STIELER, Jens T.; HOLZER, Max. Tau and tauopathies. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 126, p. 238–292, 2016.

ARIMA, Kunimasa. Ultrastructural characteristics of tau filaments in tauopathies: immunoelectron microscopic demonstration of tau filaments in tauopathies. **Neuropathology : official journal of the Japanese Society of Neuropathology**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 475–483, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17080728/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

ASANUMA, Masato; MIYAZAKI, Ikuko. Glutathione and Related Molecules in Parkinsonism. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 22, n. 16, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34445395/>. Acesso em: 21 mar. 2024.

ASSELTA, Rosanna *et al.* Glucocerebrosidase mutations in primary parkinsonism. **Parkinsonism and Related Disorders**, [s. l.], 2014.

BAGSHAW, Richard D.; MAHURAN, Don J.; CALLAHAN, John W. A proteomic analysis of lysosomal integral membrane proteins reveals the diverse composition of the organelle. **Molecular & cellular proteomics : MCP**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 133–143, 2005.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15579476/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

BAKER, Matt *et al.* Association of an extended haplotype in the tau gene with progressive supranuclear palsy. **Human molecular genetics**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 711–715, 1999.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10072441/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

BAR-ON, Pazit *et al.* Statins reduce neuronal α -synuclein aggregation in in vitro models of Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, [s. l.], v. 105, n. 5, p. 1656–1667, 2008.

Disponível em: Acesso em: 19 mar. 2024.

BELLOU, Vanesa *et al.* Environmental risk factors and Parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 23, p. 1–9, 2016.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26739246/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

BENUSSI, Alberto *et al.* Clinical and neurophysiological characteristics of heterozygous NPC1 carriers. **JIMD reports**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 80–88, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31497485/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

BERGE-SEIDL, Victoria *et al.* The GBA variant E326K is associated with Parkinson's disease and explains a genome-wide association signal. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 658, p. 48–52, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28830825/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

BLANDINI, Fabio *et al.* Glucocerebrosidase mutations and synucleinopathies: Toward a model of precision medicine. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 9–21, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30589955/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

BLAUWENDRAAT, Cornelis *et al.* Coding variation in GBA explains the majority of the SYT11-GBA Parkinson's disease GWAS locus. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 33, n. 11, p. 1821–1823, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30302829/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

BLAUWENDRAAT, Cornelis *et al.* Genetic modifiers of risk and age at onset in GBA associated Parkinson's disease and Lewy body dementia. **Brain**, [s. l.], v. 143, n. 1, p. 234, 2020. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6935749/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35749/). Acesso em: 9 jan. 2024.

BOEVE, Bradley F.; LANG, Anthony E.; LITVAN, Irene. Corticobasal degeneration and its relationship to progressive supranuclear palsy and frontotemporal dementia. **Annals of neurology**, [s. l.], v. 54 Suppl 5, n. SUPPL. 5, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12833363/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

BONIFACINO, Juan S.; NEEFJES, Jacques. Moving and positioning the endolysosomal system. **Current opinion in cell biology**, [s. l.], v. 47, p. 1–8, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231489/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

BOUGEA, Anastasia. **Genetics of Multiple System Atrophy and Progressive Supranuclear Palsy: A Systemized Review of the Literature**. [S. l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2023.

BOWER, James H. *et al.* Incidence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy in Olmsted County, Minnesota, 1976 to 1990. **Neurology**, [s. l.], v. 49, n. 5, p. 1284–1288, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9371909/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

BOXER, Adam L. *et al.* Advances in progressive supranuclear palsy: new diagnostic criteria, biomarkers, and therapeutic approaches. **The Lancet. Neurology**, [s. l.], v. 16, n. 7, p. 552–563, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28653647/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

BRADY, R. O. *et al.* The metabolism of sphingomyelin. II. Evidence of an enzymatic deficiency in Niemann-Pick disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 366–369, 1966. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.55.2.366>. Acesso em: 22 jan. 2024.

BRÁS, Inês Caldeira *et al.* **Synucleinopathies: Where we are and where we need to go**. [S. l.]: Blackwell Publishing Ltd, 2020.

BRIGHT, Nicholas A.; DAVIS, Luther J.; LUZIO, J. Paul. Endolysosomes Are the Principal Intracellular Sites of Acid Hydrolase Activity. **Current biology : CB**, [s. l.], v. 26, n. 17, p. 2233–2245, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27498570/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

BUGIANI, Orso *et al.* Frontotemporal dementia and corticobasal degeneration in a family with a P301S mutation in tau. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, [s. l.], v. 58, n. 6, p. 667–677, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10374757/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

BURN, David J.; LEES, Andrew J. Progressive supranuclear palsy: Where are we now?. **Lancet Neurology**, [s. l.], v. 1, n. 6, p. 359–369, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12849397/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

CALDERWOOD, Laurel *et al.* Rare Saposin A deficiency: Novel variant and psychosine analysis. **Molecular genetics and metabolism**, [s. l.], v. 129, n. 2, p. 161–164, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31439510/>. Acesso em: 5 fev. 2024.

CARSTEADT, Eugene D. *et al.* Niemann-Pick C1 disease gene: Homology to mediators of cholesterol homeostasis. **Science**, [s. l.], v. 277, n. 5323, p. 228–231, 1997. Disponível em: Acesso em: 1 fev. 2024.

CESANI, Martina *et al.* Mutation Update of ARSA and PSAP Genes Causing Metachromatic Leukodystrophy. **Human mutation**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 16–27, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26462614/>. Acesso em: 5 fev. 2024.

CHAPEL, Agnès *et al.* An extended proteome map of the lysosomal membrane reveals novel potential transporters. **Molecular & cellular proteomics : MCP**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 1572–1588, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23436907/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

CHÉRIN, P. *et al.* The neurological manifestations of Gaucher disease type 1: the French Observatoire on Gaucher disease (FROG). **Journal of inherited metabolic disease**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 331–338, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20532983/>. Acesso em: 5 fev. 2024.

CHRISTOMANOU, H. *et al.* Activator protein deficient Gaucher's disease - A second patient with the newly identified lipid storage disorder. **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], 1989.

CLARK, Lorraine N. *et al.* Association of glucocerebrosidase mutations with dementia with lewy bodies. **Archives of neurology**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 578–583, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19433657/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

CLARK, Lorraine N. *et al.* Gene-Wise Association of Variants in Four Lysosomal Storage Disorder Genes in Neuropathologically Confirmed Lewy Body Disease. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 5, 2015. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4416714/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26116714/). Acesso em: 7 fev. 2024.

COLOMBO, Alessio *et al.* Loss of NPC1 enhances phagocytic uptake and impairs lipid trafficking in microglia. **Nature communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33627648/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

CONSTANTINIDES, Vasilios C. *et al.* Corticobasal degeneration and corticobasal syndrome: A review. **Clinical Parkinsonism & Related Disorders**, [s. l.], v. 1, p. 66, 2019. Disponível em: [/pmc/articles/PMC8288513/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33627648/). Acesso em: 10 jan. 2024.

COON, Elizabeth A.; SINGER, Wolfgang. **Synucleinopathies**. [S. l.]: Lippincott Williams and Wilkins, 2020.

CORDIVARI, Carla *et al.* Treatment of dystonic clenched fist with botulinum toxin. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 907–913, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11746621/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

COX, Timothy M.; CACHÓN-GONZÁLEZ, M. Begoña. The cellular pathology of lysosomal diseases. **The Journal of pathology**, [s. l.], v. 226, n. 2, p. 241–254, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21990005/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

CUPIDI, Chiara *et al.* Role of Niemann-Pick Type C Disease Mutations in Dementia. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 1249–1259, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27792009/>. Acesso em: 6 fev. 2024.

DA VEIGA PEREIRA, Lygia *et al.* Regional assignment of the human acid sphingomyelinase gene (SMPD1) by PCR analysis of somatic cell hybrids and in situ hybridization to 11p15.1---p15.4. **Genomics**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 229–234, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2004772/>. Acesso em: 4 fev. 2024.

DE DUVE, Christian. The lysosome turns fifty. **Nature cell biology**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 847–849, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16136179/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

DE LAU, Lonneke M L; BRETHER, Monique M B. **Epidemiology of Parkinson's disease**. [S. l.: s. n.], 2006. Disponível em: <http://neurology.thelancet.com>Vol. .

DEAN, Douglas C. *et al.* Brain differences in infants at differential genetic risk for late-onset Alzheimer disease: a cross-sectional imaging study. **JAMA neurology**, [s. l.], v. 71, n. 1, p.

11–22, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24276092/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

DEUTSCHLÄNDER, A. B. *et al.* **Atypical parkinsonian syndromes: a general neurologist's perspective.** [S. l.: s. n.], 2018.

DICKSON, D. W. Neuropathologic differentiation of progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. **Journal of neurology**, [s. l.], v. 246 Suppl 2, n. 2, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10525997/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

DICKSON, Dennis W. *et al.* Office of Rare Diseases neuropathologic criteria for corticobasal degeneration. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, [s. l.], v. 61, n. 11, p. 935–946, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12430710/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

DICKSON, Dennis W. Parkinson's disease and parkinsonism: Neuropathology. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 8, 2012.

DICKSON, Dennis W. Sporadic tauopathies: Pick's disease, corticobasal degeneration, progressive supranuclear palsy and argyrophilic grain disease. **The Neuropathology of Dementia**, [s. l.], p. 227–256, 2004. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/books/neuropathology-of-dementia/sporadic-tauopathies-picks-disease-corticobasal-degeneration-progressive-supranuclear-palsy-and-argyrophilic-grain-disease/0B65230F6E9C77BB81424BF15220B6BA>. Acesso em: 11 jan. 2024.

DORAN, M. *et al.* Pathological heterogeneity of clinically diagnosed corticobasal degeneration. **Journal of the Neurological Sciences**, [s. l.], v. 216, n. 1, p. 127–134, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14607314/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

DUGGER, Brittany N.; DICKSON, Dennis W. **Pathology of neurodegenerative diseases.** [S. l.]: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017.

EL-AGNAF, Omar M.A. *et al.* Alpha-synuclein implicated in Parkinson's disease is present in extracellular biological fluids, including human plasma. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, [s. l.], v. 17, n. 13, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14519670/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

ELOBEID, Adila *et al.* Altered Proteins in the Aging Brain. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, [s. l.], v. 75, n. 4, p. 316–325, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26979082/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

EMRE, Murat *et al.* Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 22, n. 12, p. 1689–1707, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17542011/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

FABBRINI, Giovanni; FABBRINI, Andrea; SUPPA, Antonio. Progressive supranuclear palsy, multiple system atrophy and corticobasal degeneration. **Handbook of clinical neurology**, Netherlands, v. 165, p. 155–177, 2019.

FALCONE, Sestina *et al.* Activation of acid sphingomyelinase and its inhibition by the nitric oxide/cyclic guanosine 3',5'-monophosphate pathway: key events in Escherichia coli-elicited apoptosis of dendritic cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, [s. l.], v. 173, n. 7, p. 4452–4463, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15383576/>. Acesso em: 4 fev. 2024.

FELLNER, Lisa *et al.* **Autophagy in α -synucleinopathies—an overstrained system**. [S. l.]: MDPI, 2021.

FINKBEINER, Steven. The Autophagy Lysosomal Pathway and Neurodegeneration. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30936119/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

FORREST, Shelley L. *et al.* Retiring the term FTDP-17 as MAPT mutations are genetic forms of sporadic frontotemporal tauopathies. **Brain : a journal of neurology**, [s. l.], v. 141, n. 2, p. 521–534, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29253099/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

FUJIOKA, Shinsuke *et al.* Update on novel familial forms of Parkinson's disease and multiple system atrophy. **Parkinsonism and Related Disorders**, [s. l.], v. 20, n. SUPPL.1, 2014.

FUJIWARA, Hideo *et al.* alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. **Nature cell biology**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 160–164, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11813001/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

GAN-OR, Ziv *et al.* The p.L302P mutation in the lysosomal enzyme gene SMPD1 is a risk factor for Parkinson disease. **Neurology**, [s. l.], v. 80, n. 17, p. 1606–1610, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23535491/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

GEGG, Matthew E.; SCHAPIRA, Anthony H.V. The role of glucocerebrosidase in Parkinson disease pathogenesis. **The FEBS journal**, [s. l.], v. 285, n. 19, p. 3591–3603, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29385658/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

GIAGKOU, Nikolaos; HÖGLINGER, Günter U.; STAMELOU, Maria. Progressive supranuclear palsy. **International Review of Neurobiology**, [s. l.], v. 149, p. 49–86, 2019. Disponível em: Acesso em: 11 jan. 2024.

GIAGKOU, Nikolaos; STAMELOU, Maria. **Therapeutic Management of the Overlapping Syndromes of Atypical Parkinsonism**. [S. l.: s. n.], 2018.

GIBB, G; LEES, A J. **The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease** *Neurosurgery, and Psychiatry*. [S. l.: s. n.], 1988.

GILKS, William P. *et al.* A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. **The Lancet**, [s. l.], v. 365, n. 9457, p. 415–416, 2005. Disponível em: Acesso em: 9 jan. 2024.

GILMAN, S. *et al.* Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. **Neurology**, [s. l.], 2008.

GOEDERT, Michel. The ordered assembly of tau is the gain-of-toxic function that causes human tauopathies. **Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 1040–1050, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27686274/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

GOKER-ALPAN, O. *et al.* Glucocerebrosidase mutations are an important risk factor for Lewy body disorders. **Neurology**, [s. l.], v. 67, n. 5, p. 908–910, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16790605/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

GOLBE, Lawrence I.; OHMAN-STRICKLAND, Pamela A. A clinical rating scale for progressive supranuclear palsy. **Brain : a journal of neurology**, [s. l.], v. 130, n. Pt 6, p. 1552–1565, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17405767/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

GRAZIA SPILLANTINI, Maria *et al.* Filamentous alpha-synuclein inclusions link multiple system atrophy with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 251, n. 3, p. 205–208, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9726379/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

GU, Xiao Jing *et al.* Analysis of GWAS-linked variants in multiple system atrophy. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 67, p. 201.e1-201.e4, 2018.

GUERREIRO, Rita *et al.* Investigating the genetic architecture of dementia with Lewy bodies: a two-stage genome-wide association study. **The Lancet. Neurology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 64–74, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29263008/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

HARDY, J., *et al.* Genetic dissection of Alzheimer’s disease and related dementias: amyloid and its relationship to tau. **Nature Neuroscience**, [s. l.], p. 355–358, 1998.

HERNANDEZ, Dena *et al.* The dardarin G 2019 S mutation is a common cause of Parkinson’s disease but not other neurodegenerative diseases. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 389, n. 3, p. 137–139, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16102903/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

HERSHEY, Linda A.; COLEMAN-JACKSON, Rhonda. Pharmacological Management of Dementia with Lewy Bodies. **Drugs & Aging**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 309, 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6435621/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

HIGASHI, Shinji *et al.* Localization of Parkinson’s disease-associated LRRK2 in normal and pathological human brain. **Brain Research**, [s. l.], v. 1155, n. 1, p. 208–219, 2007. Disponível em: Acesso em: 9 jan. 2024.

HIPOLITO, Victoria E.B.; OSPINA-ESCOBAR, Erika; BOTELHO, Roberto J. Lysosome remodelling and adaptation during phagocyte activation. **Cellular microbiology**, [s. l.], v. 20, n. 4, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29349904/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

HIRSCHBICHLER, Stephanie T. *et al.* “Atypical” atypical parkinsonism: Critical appraisal of a cohort. **Parkinsonism and Related Disorders**, [s. l.], 2017.

HO, M. W.; O’BRIEN, J. S. Gaucher’s disease: deficiency of “acid” -glucosidase and reconstitution of enzyme activity in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 68, n. 11, p. 2810–2813, 1971. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5288260/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

HÖGLINGER, Günter U. *et al.* Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The movement disorder society criteria. **Movement Disorders**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 853–864, 2017.

HÖGLINGER, Günter U. *et al.* Identification of common variants influencing risk of the tauopathy Progressive Supranuclear Palsy. **Nature genetics**, [s. l.], v. 43, n. 7, p. 699, 2011. Disponível em: </pmc/articles/PMC3125476/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

HÖGLINGER, Günter U. *et al.* Rational therapeutic approaches to progressive supranuclear palsy. **Brain : a journal of neurology**, [s. l.], v. 133, n. Pt 6, p. 1578–1590, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20472654/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

HOROWITZ, Mia *et al.* The human glucocerebrosidase gene and pseudogene: structure and evolution. **Genomics**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 87–96, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2914709/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

HOU, Yujun *et al.* Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. **Nature reviews. Neurology**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 565–581, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31501588/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

HOULDEN, H. *et al.* Corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy share a common tau haplotype. **Neurology**, [s. l.], v. 56, n. 12, p. 1702–1706, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11425937/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

HUANG, Yongpan *et al.* The Association between E326K of GBA and the Risk of Parkinson’s Disease. **Parkinson’s disease**, [s. l.], v. 2018, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29808112/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

HUIZING, Marjan *et al.* Disorders of lysosome-related organelle biogenesis: clinical and molecular genetics. **Annual review of genomics and human genetics**, [s. l.], v. 9, p. 359–386, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18544035/>. Acesso em: 22 jan. 2024.

JELLINGER, Kurt A. Multiple System Atrophy: An Oligodendroglioneural Synucleinopathy1. **Journal of Alzheimer’s disease : JAD**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 1141–1179, 2018.

JELLINGER, Kurt A; WENNING, Gregor K. Multiple system atrophy: pathogenic mechanisms and biomarkers. **Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)**, Austria, v. 123, n. 6, p. 555–572, 2016.

JOHNSON, Ian P. Age-related neurodegenerative disease research needs aging models. **Frontiers in aging neuroscience**, [s. l.], v. 7, n. SEP, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26388766/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

JOSEPHS, Keith A.; MATSUMOTO, Joseph Y.; LINDOR, Noralane M. Heterozygous Niemann-Pick disease type C presenting with tremor. **Neurology**, [s. l.], v. 63, n. 11, p. 2189–2190, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15596783/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

JUCAITE, Aurelija *et al.* Glia Imaging Differentiates Multiple System Atrophy from Parkinson's Disease: A Positron Emission Tomography Study with [11C]PBR28 and Machine Learning Analysis. **Movement Disorders**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 119–129, 2022.

KALIA, Lorraine V.; LANG, Anthony E. Parkinson's disease. **Lancet (London, England)**, [s. l.], v. 386, n. 9996, p. 896–912, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25904081/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

KANG, Lulu *et al.* A rare form of Gaucher disease resulting from saposin C deficiency. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, [s. l.], 2018.

KLEIN, Andrés D.; MAZZULLI, Joseph R. Is Parkinson's disease a lysosomal disorder? **Brain**, [s. l.], v. 141, n. 8, p. 2255, 2018. Disponível em: </pmc/articles/PMC6061679/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

KLUENEMANN, Hans H. *et al.* Parkinsonism syndrome in heterozygotes for Niemann-Pick C1. **Journal of the neurological sciences**, [s. l.], v. 335, n. 1–2, p. 219–220, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24035292/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

KOLODNY, Edwin H. Niemann-Pick disease. **Current opinion in hematology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 48–52, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10608504/>. Acesso em: 22 jan. 2024.

KOMPOLITI, K. *et al.* Clinical presentation and pharmacological therapy in corticobasal degeneration. **Archives of neurology**, [s. l.], v. 55, n. 7, p. 957–961, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9678313/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

KOROS, Christos; STAMELOU, Maria. Interventions in progressive supranuclear palsy. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 22 Suppl 1, p. S93–S95, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26459661/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

KOURI, Naomi *et al.* Novel mutation in MAPT exon 13 (p.N410H) causes corticobasal degeneration. **Acta neuropathologica**, [s. l.], v. 127, n. 2, p. 271–282, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24121548/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

KOVACS, Gabor G. Invited review: Neuropathology of tauopathies: principles and practice. **Neuropathology and applied neurobiology**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 3–23, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25495175/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

KOVACS, Gabor G. Tauopathies. **Handbook of clinical neurology**, [s. l.], v. 145, p. 355–368, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28987182/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

LANG, Anthony E. Treatment of progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 20 Suppl 12, n. SUPPL. 12, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16092096/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LEBOUVIER, Thibaud; PASQUIER, Florence; BUÉE, Luc. **Update on tauopathies**. [S. l.]: Lippincott Williams and Wilkins, 2017.

LESAGE, Suzanne *et al.* Large-scale screening of the Gaucher's disease-related glucocerebrosidase gene in Europeans with Parkinson's disease. **Human molecular genetics**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 202–210, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20947659/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

LESAGE, Suzanne; BRICE, Alexis. Role of mendelian genes in “sporadic” Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, [s. l.], v. 18, n. SUPPL. 1, p. S66–S70, 2012. Disponível em: <http://www.prd-journal.com/article/S1353802011700220/fulltext>. Acesso em: 9 jan. 2024.

LEVIN, Johannes *et al.* The Differential Diagnosis and Treatment of Atypical Parkinsonism Syndrome. **Deutsches Arzteblatt International**, [s. l.], v. 113, n. 5, p. 61–69, 2016.

LI, Xiaochun *et al.* Clues to the mechanism of cholesterol transfer from the structure of NPC1 middle luminal domain bound to NPC2. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 113, n. 36, p. 10079–10084, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27551080/>. Acesso em: 4 fev. 2024.

LI, Fang; ZHANG, Hanrui. Lysosomal acid lipase in lipid metabolism and beyond. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, [s. l.], v. 39, n. 5, p. 850, 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6482091/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

LILL, Christina M. Genetics of Parkinson's disease. **Molecular and Cellular Probes**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 386–396, 2016. Disponível em: Acesso em: 9 jan. 2024.

LIM, Shen Yang *et al.* New insights from a multi-ethnic Asian progressive supranuclear palsy cohort. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 108, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36682278/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

LING, Helen *et al.* Does corticobasal degeneration exist? A clinicopathological re-evaluation. **Brain : a journal of neurology**, [s. l.], v. 133, n. Pt 7, p. 2045–2057, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20584946/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LING, Helen *et al.* Hypokinesia without decrement distinguishes progressive supranuclear palsy from Parkinson's disease. **Brain**, [s. l.], v. 135, n. 4, p. 1141–1153, 2012.

LIU, Benjamin *et al.* Analyses of variant acid beta-glucosidases: effects of Gaucher disease mutations. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 281, n. 7, p. 4242–4253, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16293621/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

LIU, Benjamin; GRABOWSKI, Gregory A. Is E326K glucocerebrosidase a polymorphic or pathological variant?. **Molecular Genetics and Metabolism**, [s. l.], v. 105, n. 3, p. 528–529, 2012. Disponível em: Acesso em: 7 fev. 2024.

LITVAN, Irene *et al.* Accuracy of the clinical diagnosis of corticobasal degeneration: a clinicopathologic study. **Neurology**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 119–125, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9008506/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LIU, Yong *et al.* Impaired long distance functional connectivity and weighted network architecture in Alzheimer's disease. **Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)**, [s. l.], v. 24, n. 6, p. 1422–1435, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23314940/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

LO, Raymond. Epidemiology of atypical parkinsonian syndromes. **Tzu-Chi Medical Journal**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 169, 2022. Disponível em: </pmc/articles/PMC9020244/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LWIN, Alicia *et al.* Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. **Molecular Genetics and Metabolism**, [s. l.], 2004.

MACAULEY, Shannon L. *et al.* Neuropathology of the acid sphingomyelinase knockout mouse model of Niemann-Pick A disease including structure–function studies associated with cerebellar Purkinje cell degeneration. **Experimental Neurology**, [s. l.], v. 214, n. 2, p. 181–192, 2008. Disponível em: Acesso em: 22 jan. 2024.

MADŽAR, D.; SCHULTE, C.; GASSER, T. Screening for LRRK2 R1441 mutations in a cohort of PSP patients from Germany. **European journal of neurology**, [s. l.], v. 16, n. 11, p. 1230–1232, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19538213/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

MAEJIMA, Ikuko *et al.* Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury. **The EMBO journal**, [s. l.], v. 32, n. 17, p. 2336–2347, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23921551/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

- MAHAPATRA, Robert K. *et al.* Corticobasal degeneration. **Lancet Neurology**, [s. l.], v. 3, n. 12, p. 736–743, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15556806/>. Acesso em: 10 jan. 2024.
- MÁLAGA, Diana Rojas *et al.* Sensitivity, advantages, limitations, and clinical utility of targeted next-generation sequencing panels for the diagnosis of selected lysosomal storage disorders. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 42, n. 1 Suppl 1, p. 197, 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6687342/>. Acesso em: 23 mar. 2024.
- MARK, Margery H. **Lumping and splitting the Parkinson plus syndromes**. [S. l.: s. n.], 2001.
- MAROTEAUX, L.; CAMPANELLI, J. T.; SCHELLER, R. H. Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, [s. l.], v. 8, n. 8, p. 2804–2815, 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3411354/>. Acesso em: 6 fev. 2024.
- MARTINA, José A.; RABEN, Nina; PUERTOLLANO, Rosa. Snapshot: Lysosomal Storage Diseases. **Cell**, [s. l.], v. 180, n. 3, p. 602, 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC8411567/>. Acesso em: 22 jan. 2024.
- MATTSON, Mark P.; KRUMAN, Inna I.; DUAN, Wenzhen. Folic acid and homocysteine in age-related disease. **Ageing Research Reviews**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 95–111, 2002. Disponível em: Acesso em: 21 mar. 2024.
- MCFARLAND, Nikolaus R. **Diagnostic Approach to Atypical Parkinsonian Syndromes**. [S. l.: s. n.], 2016. Disponível em: www.ContinuumJournal.com. .
- MCKEITH, Ian G. *et al.* **Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies**. [S. l.: s. n.], 2017.
- MCKEITH, Ian G *et al.* **Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies Fourth consensus report of the DLB Consortium**. [S. l.: s. n.], 2017.
- MELISSA J. ARMSTRONG, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. **Neurology**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 513–523, 2013.
- MITSUI, Jun *et al.* Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 417–426, 2015.

MJ, Eblan; JM, Walker; E, Sidransky. The glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. **The New England journal of medicine**, [s. l.], v. 352, n. 7, p. 728–731, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15716572/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

MOSKVINA, Valentina *et al.* Analysis of genome-wide association studies of Alzheimer disease and of Parkinson disease to determine if these 2 diseases share a common genetic risk. **JAMA neurology**, [s. l.], v. 70, n. 10, p. 1268–1276, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23921447/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

NAKAMURA, Keiko *et al.* Isopentenyl diphosphate isomerase, a cholesterol synthesizing enzyme, is localized in Lewy bodies. **Neuropathology**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 432–440, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/neup.12204>. Acesso em: 19 mar. 2024.

NALLS, Michael A. *et al.* A multicenter study of glucocerebrosidase mutations in dementia with Lewy bodies. **JAMA Neurology**, [s. l.], 2013.

NATH, U. *et al.* The prevalence of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome) in the UK. **Brain : a journal of neurology**, [s. l.], v. 124, n. Pt 7, p. 1438–1449, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11408338/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

NAURECKIENE, S. *et al.* Identification of HE1 as the second gene of Niemann-Pick C disease. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 290, n. 5500, p. 2298–2301, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11125141/>. Acesso em: 1 fev. 2024.

OBERMEIER, Birgit; VERMA, Ajay; RANSOHOFF, Richard M. The blood-brain barrier. **Handbook of clinical neurology**, [s. l.], v. 133, p. 39–59, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27112670/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

OGAKI, Kotaro *et al.* Analysis of COQ2 gene in multiple system atrophy. **Molecular neurodegeneration**, [s. l.], v. 9, p. 44, 2014.

OULED AMAR BENCHEIKH, Bouchra *et al.* Sequencing of the GBA coactivator, Saposin C, in Parkinson disease. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], 2018.

OULED AMAR BENCHEIKH, Bouchra *et al.* Variants in the Niemann-Pick type C gene NPC1 are not associated with Parkinson's disease. **Neurobiology of aging**, [s. l.], v. 93, p. 143.e1, 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC7302975/>. Acesso em: 6 fev. 2024.

PACIOTTI, Silvia *et al.* Lysosomal Ceramide Metabolism Disorders: Implications in Parkinson's Disease. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 2, 2020. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7073989/](#). Acesso em: 7 fev. 2024.

PALMQVIST, Sebastian *et al.* Practical suggestions on how to differentiate dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease with common cognitive tests. **International journal of geriatric psychiatry**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 1405–1412, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19347836/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

PAPP, Matyas I.; KAHN, Jacob E.; LANTOS, Peter L. Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome). **Journal of the neurological sciences**, [s. l.], v. 94, n. 1–3, p. 79–100, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2559165/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

PASQUALOTTO, Amanda *et al.* Identification of metabolic pathways and key genes associated with atypical parkinsonism using a systems biology approach. **Metabolic Brain Disease**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11011-024-01342-7>.

PCHELINA, S. N. *et al.* Increased plasma oligomeric alpha-synuclein in patients with lysosomal storage diseases. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 583, p. 188–193, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25265039/>. Acesso em: 6 fev. 2024.

PERERA, Rushika M.; DI MALTA, Chiara; BALLABIO, Andrea. MiT/TFE Family of Transcription Factors, Lysosomes, and Cancer. **Annual review of cancer biology**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 203–222, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31650096/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

PERERA, Rushika M.; ZONCU, Roberto. The Lysosome as a Regulatory Hub. **Annual review of cell and developmental biology**, [s. l.], v. 32, p. 223–253, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27501449/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

PICILLO, Marina *et al.* Progressive Supranuclear Palsy–Like Phenotype in a GBA E326K Mutation Carrier. **Movement Disorders Clinical Practice**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 444, 2017a. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6353524/](#). Acesso em: 11 jan. 2024.

PICILLO, Marina *et al.* Progressive Supranuclear Palsy–Like Phenotype in a GBA E326K Mutation Carrier. **Movement Disorders Clinical Practice**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 444, 2017b. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6353524/](#). Acesso em: 7 fev. 2024.

PILOTTO, A. *et al.* GBA-associated parkinsonism and dementia: Beyond α -synucleinopathies?. **European Journal of Neurology**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 520–526, 2016. Disponível em: Acesso em: 11 jan. 2024.

PLATT, Frances M. *et al.* **Lysosomal storage diseases**. [S. l.]: Nature Publishing Group, 2018.

PLATT, Frances M.; BOLAND, Barry; VAN DER SPOEL, Aarnoud C. The cell biology of disease: lysosomal storage disorders: the cellular impact of lysosomal dysfunction. **The Journal of cell biology**, [s. l.], v. 199, n. 5, p. 723–734, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23185029/>. Acesso em: 22 jan. 2024.

POEWE, Werner *et al.* Multiple system atrophy. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2022.

POLO, Giulia *et al.* Plasma and dried blood spot lysosphingolipids for the diagnosis of different sphingolipidoses: a comparative study. **Clinical chemistry and laboratory medicine**, [s. l.], v. 57, n. 12, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31091195/>. Acesso em: 28 jan. 2024.

PRESSEY, Sarah N.R. *et al.* Early glial activation, synaptic changes and axonal pathology in the thalamocortical system of Niemann-Pick type C1 mice. **Neurobiology of disease**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 1086–1100, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22198570/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

RAJPUT, Alex; RAJPUT, Ali H. Progressive supranuclear palsy: clinical features, pathophysiology and management. **Drugs & aging**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 913–925, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11888346/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

RANA, Huma Q. *et al.* Age-specific Parkinson disease risk in GBA mutation carriers: information for genetic counseling. **Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 146–149, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22935721/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

REBEIZ, Jean J.; KOLODNY, Edwin H.; RICHARDSON, Edward P. Corticodentatonigral degeneration with neuronal achromasia. **Archives of neurology**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 20–33, 1968. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5634369/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

RESPONDEK, G.; HOGLINGER, G. U. The phenotypic spectrum of progressive supranuclear palsy. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 22 Suppl 1, p. S34–S36, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26421392/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

RIBOLDI, Giuletta M.; DI FONZO, Alessio B. GBA, Gaucher Disease, and Parkinson's Disease: From Genetic to Clinic to New Therapeutic Approaches. **Cells**, [s. l.], v. 8, n. 4, 2019. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6523296/](#). Acesso em: 9 jan. 2024.

RINNE, J. O. *et al.* Corticobasal degeneration. A clinical study of 36 cases. **Brain : a journal of neurology**, [s. l.], v. 117 (Pt 5), n. 5, p. 1183–1196, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7953598/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

ROBAK, Laurie A. *et al.* Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson's disease. **Brain**, [s. l.], 2017.

ROCCA, Walter A. *et al.* Trends in the incidence and prevalence of Alzheimer's disease, dementia, and cognitive impairment in the United States. **Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 80, 2011. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3026476/](#). Acesso em: 25 jan. 2024.

ROSSI, Giacomina *et al.* The G389R mutation in the MAPT gene presenting as sporadic corticobasal syndrome. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 892–895, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18307268/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

SAITO, Yuko *et al.* Aberrant phosphorylation of alpha-synuclein in human Niemann-Pick type C1 disease. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 323–328, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15099022/>. Acesso em: 6 fev. 2024.

SANDHOFF, Konrad; VAN ECHTEN, Gerhild. Ganglioside metabolism: Enzymology, topology and regulation. **Progress in Brain Research**, [s. l.], v. 101, n. C, p. 17–29, 1994. Disponível em: Acesso em: 22 jan. 2024.

SANFORD, Angela M. Lewy Body Dementia. **Clinics in geriatric medicine**, United States, v. 34, n. 4, p. 603–615, 2018.

SARANZA, Gerard M. *et al.* Corticobasal degeneration. **International Review of Neurobiology**, [s. l.], v. 149, p. 87–136, 2019.

SATO, Christine *et al.* Analysis of the glucocerebrosidase gene in Parkinson's disease. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 367–370, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15517592/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

SAVICA, Rodolfo *et al.* Survival and Causes of Death Among People With Clinically Diagnosed Synucleinopathies With Parkinsonism: A Population-Based Study. **JAMA neurology**, [s. l.], v. 74, n. 7, p. 839–846, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28505261/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

SAVICA, Rodolfo *et al.* Time trends in the incidence of parkinson disease. **JAMA Neurology**, [s. l.], v. 73, n. 8, p. 981–989, 2016.

SCHAPIRA, A. H.V. Glucocerebrosidase and Parkinson disease: Recent advances. **Molecular and cellular neurosciences**, [s. l.], v. 66, n. 0 0, p. 37, 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4471139/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

SCHMIDT, M. L. *et al.* Tau isoform profile and phosphorylation state in dementia pugilistica recapitulate Alzheimer’s disease. **Acta Neuropathologica**, [s. l.], v. 101, n. 5, p. 518–524, 2001.

SCHNEIDER, J. A. *et al.* Corticobasal degeneration: neuropathologic and clinical heterogeneity. **Neurology**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 959–969, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9109885/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

SCHOLZ, Sonja W.; BRAS, Jose. **Genetics underlying atypical parkinsonism and related neurodegenerative disorders**. [S. l.: s. n.], 2015.

SCHRAG, A.; BEN-SHLOMO, Y.; QUINN, N. P. Prevalence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy: A cross-sectional study. **Lancet**, [s. l.], v. 354, n. 9192, p. 1771–1775, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10577638/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

SCHRIJVERS, E. M.C. *et al.* Is dementia incidence declining?: Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. **Neurology**, [s. l.], v. 78, n. 19, p. 1456–1463, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22551732/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

SCHUCHMAN, Edward H. Acid sphingomyelinase, cell membranes and human disease: Lessons from Niemann–Pick disease. **FEBS Letters**, [s. l.], v. 584, n. 9, p. 1895–1900, 2010. Disponível em: Acesso em: 22 jan. 2024.

SCHUCHMAN, Edward H.; WASSERSTEIN, Melissa P. Types A and B Niemann-Pick disease. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 237–247, 2015. Disponível em: Acesso em: 4 fev. 2024.

SENGUPTA, Urmi; KAYED, Rakez. **Amyloid β , Tau, and α -Synuclein aggregates in the pathogenesis, prognosis, and therapeutics for neurodegenerative diseases.** [S. l.]: Elsevier Ltd, 2022.

SHAHMORADIAN, Sarah H. *et al.* Lewy pathology in Parkinson's disease consists of crowded organelles and lipid membranes. **Nature neuroscience**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 1099–1109, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31235907/>. Acesso em: 6 fev. 2024.

SHI, Min *et al.* Significance and confounders of peripheral DJ-1 and alpha-synuclein in Parkinson's disease. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 480, n. 1, p. 78–82, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20540987/>. Acesso em: 30 jan. 2024.

SHIN, Soojeong *et al.* Neuroanatomical substrates of visual hallucinations in patients with non-demented Parkinson's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, [s. l.], v. 83, n. 12, p. 1155–1161, 2012.

SIDRANSKY, E. Heterozygosity for a Mendelian disorder as a risk factor for complex disease. **Clinical genetics**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 275–282, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16965318/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

SIDRANSKY, E. *et al.* Multicenter Analysis of Glucocerebrosidase Mutations in Parkinson's Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], 2009.

SIDRANSKY, Ellen *et al.* Multicenter_GBA mutations_PD. [s. l.], v. 361, n. 17, p. 1651–1661, 2010.

SIEBERT, M. *et al.* Glucocerebrosidase gene variants in parkinsonian patients with Machado Joseph/spinocerebellar ataxia 3. **Parkinsonism and Related Disorders**, [s. l.], 2012.

SKLEROV, Miriam *et al.* Frequency of GBA Variants in Autopsy-proven Multiple System Atrophy. **Movement Disorders Clinical Practice**, [s. l.], 2017.

SMALL, Scott A. *et al.* A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease. **Nature reviews. Neuroscience**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 585–601, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21897434/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

SOCAL, Mariana P. *et al.* **Parkinson's disease and the heterozygous state for glucocerebrosidase mutations among Brazilians.** [S. l.: s. n.], 2009.

SPANAKI, Cleanthe; LATSLOUDIS, Helen; PLAITAKIS, Andreas. LRRK2 mutations on Crete: R1441H associated with PD evolving to PSP. **Neurology**, [s. l.], v. 67, n. 8, p. 1518–

1519, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17060595/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

SPILLANTINI, Maria Grazia *et al.* A novel tau mutation (N296N) in familial dementia with swollen achromatic neurons and corticobasal inclusion bodies. **Annals of Neurology**, [s. l.], 2001. Disponível em: <https://www.alzforum.org/papers/novel-tau-mutation-n296n-familial-dementia-swollen-achromatic-neurons-and-corticobasal>. Acesso em: 10 jan. 2024.

SPILLANTINI, Maria Grazia *et al.* Alpha-synuclein in Lewy bodies. **Nature**, [s. l.], v. 388, n. 6645, p. 839–840, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9278044/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

SPILLANTINI, Maria Grazia; GOEDERT, Michel. **The-Synucleinopathies: Parkinson’s Disease, Dementia with Lewy Bodies, and Multiple System Atrophy**. [S. l.: s. n.], [s. d.].

SPITZ, Mariana *et al.* Association between Parkinson’s disease and glucocerebrosidase mutations in Brazil. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 58–62, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17703984/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

STEFANOVA, Nadia *et al.* **Multiple system atrophy: an update**. [S. l.: s. n.], 2009.

STEFFEN, Teresa M. *et al.* Long-term exercise training for an individual with mixed corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy features: 10-year case report follow-up. **Physical therapy**, [s. l.], v. 94, n. 2, p. 289–296, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24114439/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

STINTON, Chris *et al.* Pharmacological Management of Lewy Body Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **The American journal of psychiatry**, [s. l.], v. 172, n. 8, p. 731–742, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26085043/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

TAMARGO, Rafael J. *et al.* The role of saposin C in Gaucher disease. **Molecular genetics and metabolism**, [s. l.], v. 106, n. 3, p. 257–263, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22652185/>. Acesso em: 5 fev. 2024.

THE MULTIPLE-SYSTEM ATROPHY RESEARCH COLLABORATION. Mutations in COQ2 in Familial and Sporadic Multiple-System Atrophy. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 369, n. 3, p. 233–244, 2013. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1212115>.

TYLKI-SZYMAŃSKA, Anna *et al.* Gaucher disease due to saposin C deficiency, previously described as non-neuronopathic form - No positive effects after 2-years of miglustat therapy. **Molecular Genetics and Metabolism**, [s. l.], 2011.

TYSNES, Ole Bjørn; STORSTEIN, Anette. **Epidemiology of Parkinson's disease**. [S. l.]: Springer-Verlag Wien, 2017.

VACCARO, Anna M. *et al.* Saposin C mutations in Gaucher disease patients resulting in lysosomal lipid accumulation, saposin C deficiency, but normal prosaposin processing and sorting. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], 2010.

VANIER, Marie T. Niemann-Pick disease type C. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 16, 2010. Disponível em: /pmc/articles/PMC2902432/. Acesso em: 1 fev. 2024.

VARKEY, Jobin *et al.* Membrane curvature induction and tubulation are common features of synucleins and apolipoproteins. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 285, n. 42, p. 32486–32493, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20693280/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

VERKHRATSKY, Alexei. Untangling Complexities of Glial-Neuronal Communications: Astroglial Metabolic Cascades Orchestrate Tonic Inhibition in the Thalamus. **Neuron**, [s. l.], v. 108, n. 4, p. 585–587, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33242426/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

VIEIRA, Sophia R. L; SCHAPIRA, Anthony H.V. Glucocerebrosidase mutations and Parkinson disease. **Neural Transm (Vienna)** ., [s. l.], p. 1105–1117, 2022.

VON CAMPENHAUSEN, Sonja *et al.* Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe. **European Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 473–490, 2005.

WALKLEY, Steven U. Secondary accumulation of gangliosides in lysosomal storage disorders. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 433–444, 2004. Disponível em: Acesso em: 22 jan. 2024.

WATANABE, Hirohisa *et al.* Cortical and subcortical brain atrophy in Parkinson's disease with visual hallucination. **Movement Disorders**, [s. l.], 2013.

WENNING, Tg K *et al.* **Movement Disorder Society Multiple System Atrophy: A Review of 203 Pathologically Proven Cases** **Movement Disorders**. [S. l.: s. n.], 1997.

WENNING, Gregor K. *et al.* **The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy**. [S. l.]: John Wiley and Sons Inc, 2022.

WENNING, Gregor K. *et al.* The natural history of multiple system atrophy: A prospective European cohort study. **The Lancet Neurology**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 264–274, 2013.

WENNING K, Gregor *et al.* Multiple system atrophy. **THE LANCET Neurology**, [s. l.], 2004. Disponível em: <http://neurology.thelancet.com>.

WERNICK, Anna I. *et al.* GBA variation and susceptibility to multiple system atrophy. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 77, p. 64–69, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32623306/>. Acesso em: 7 fev. 2024.

WESTPHAL, Christopher H.; CHANDRA, Sreeganga S. Monomeric synucleins generate membrane curvature. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 288, n. 3, p. 1829–1840, 2013. Disponível em: Acesso em: 9 jan. 2024.

WILLIAMS, David R.; LEES, Andrew J. Progressive supranuclear palsy: clinicopathological concepts and diagnostic challenges. **The Lancet. Neurology**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 270–279, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19233037/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

WILLIAMS, David R; LITVAN, Irene. Parkinsonian Syndromes. **Continuum**, [s. l.], p. 1189–1212, 2013. Disponível em: www.ContinuumJournal.com.

WINFIELD, S. L. *et al.* Identification of Three Additional Genes Contiguous to the Glucocerebrosidase Locus on Chromosome 1q21: Implications for Gaucher Disease. **Genome Research**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 1020–1026, 1997. Disponível em: <https://genome.cshlp.org/content/7/10/1020.full>. Acesso em: 31 jan. 2024.

WONG, Yvette C.; KRAINIC, Dimitri. α -synuclein toxicity in neurodegeneration: mechanism and therapeutic strategies. **Nature medicine**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 1, 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC8480197/>. Acesso em: 19 mar. 2024.

WYSS-CORAY, Tony. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. **Nature**, [s. l.], v. 539, n. 7628, p. 180, 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC5172605/>. Acesso em: 25 jan. 2024.

YANG, Chonglin; WANG, Xiaochen. Lysosome biogenesis: Regulation and functions. **The Journal of Cell Biology**, [s. l.], v. 220, n. 6, 2021. Disponível em: </pmc/articles/PMC8105738/>. Acesso em: 21 jan. 2024.

YOKOYAMA, Jennifer S. *et al.* Shared genetic risk between corticobasal degeneration, progressive supranuclear palsy, and frontotemporal dementia. **Acta neuropathologica**, [s.

l.], v. 133, n. 5, p. 825–837, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28271184/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

YOUSAF, Tayyabah *et al.* Neuroimaging in Lewy body dementia. **Journal of Neurology**, [*s. l.*], v. 266, n. 1, p. 1, 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6342883/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

ZECH, Michael *et al.* Niemann-Pick C Disease Gene Mutations and Age-Related Neurodegenerative Disorders. **PLOS ONE**, [*s. l.*], v. 8, n. 12, p. e82879, 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0082879>. Acesso em: 6 fev. 2024.

ZHANG, Hanrui. Lysosomal acid lipase and lipid metabolism: new mechanisms, new questions, and new therapies. **Current opinion in lipidology**, [*s. l.*], v. 29, n. 3, p. 218, 2018. Disponível em: </pmc/articles/PMC6215475/>. Acesso em: 31 jan. 2024.

ZHANG, Weifeng *et al.* Role of neuroinflammation in neurodegeneration development. **Signal Transduction and Targeted Therapy 2023 8:1**, [*s. l.*], v. 8, n. 1, p. 1–32, 2023. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01486-5>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ZHANG, Yi *et al.* Tauopathies: new perspectives and challenges. **Molecular Neurodegeneration**, [*s. l.*], v. 17, n. 1, 2022. Disponível em: </pmc/articles/PMC8991707/>. Acesso em: 9 jan. 2024.

ZHANG, Bingnan; PORTO, Anthony F. Cholesteryl ester storage disease: Protean presentations of lysosomal acid lipase deficiency. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, [*s. l.*], v. 56, n. 6, p. 682–685, 2013. Disponível em: Acesso em: 31 jan. 2024.

ZHOU, Yan Feng *et al.* Human acid sphingomyelinase structures provide insight to molecular basis of Niemann-Pick disease. **Nature communications**, [*s. l.*], v. 7, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27725636/>. Acesso em: 4 fev. 2024.

ZIMPRICH, Alexander *et al.* Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. **Neuron**, [*s. l.*], v. 44, n. 4, p. 601–607, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15541309/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

9. ANEXOS

ANEXO 1– CARTA DE APROVAÇÃO ÉTICA DO PROJETO Nº 2019-0577



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Projeto

2019/0577

Pesquisadores:

ARTUR FRANCISCO SCHUMACHER SCHUH

ROBERTO GIUGLIANI

ANA CAROLINA BRUSIUS-
FACCHIN

PAULA FUHR

MATHEUS ZSCHORNACK
STRELOW

AMANDA PASQUALOTTO

IDA VANESSA DOEDERLEIN
SCHWARTZ

MARINA SIEBERT

CÍNTIA COSTA MEDEIROS
MARTINS

DIANA ELIZABETH ROJAS

Número de Participantes: 30

Título: Avaliação de mutações em genes relacionados a doenças lisossômicas nos casos de parkinsonismo atípico

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG).

07/10/2019

ANEXO 2– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do CAAE: 2861718.3.1001.5327

Projeto de pesquisa: Avaliação de mutações em genes relacionados a doenças lisossômicas nos casos de parkinsonismo atípico

Pesquisador Responsável: Dr. Carlos Roberto de Mello Rieder

Serviços de Neurologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Telefones para contato: (51) 33598182

Serviço de Neurologia – Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Telefones para contato: (51) 32148204

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é identificar possíveis causas genéticas para pacientes que apresentam parkinsonismo atípico. Parkinsonismo atípico é nome para um conjunto de quatro doenças: paralisia supranuclear progressiva, atrofia de múltiplos sistemas, degeneração corticobasal e demência por corpúsculos de Lewy. Essas quatro doenças não tem causa definida na maioria dos casos. Porém, em alguns pacientes, elas podem ser causadas por mutações no DNA. Essas mutações são alterações na sequência DNA, são comuns na população, e podem não ter um significado negativo para o indivíduo. Pacientes podem herdar essas alterações diretamente de um familiar com parkinsonismo atípico ou quando os pais carregam a alteração, mas sem desenvolver essas doenças.

Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Neurologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: uma consulta e a realização de um exame físico neurológico. Toda a consulta levará em torno de 40 minutos. Em seguida os pacientes serão encaminhados para coleta de 4 mL de sangue.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (hematoma) no local da coleta do sangue. O

desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e habilitado para realizar esse procedimento. Com a amostra de sangue será possível extrair o DNA e, com isso, realizar testes para verificar variações entre os indivíduos.

O material genético que sobrar poderá ser conservado (armazenado) ou não, conforme a decisão de cada paciente. O que ficar armazenado poderá ser utilizado em novos exames: estudo de outros genes em novas pesquisas. No caso de serem propostas novas pesquisas com este material, elas serão avaliadas pelos Comitês de Ética em Pesquisa local e nacional, e somente serão realizadas mediante nova autorização do paciente para aquele estudo específico.

Será realizada uma consulta de aconselhamento genético por profissional treinado na realização deste procedimento para doenças lisossômicas para todos os indivíduos que aceitarem participar do estudo. Na consulta serão discutidos os resultados dos exames genéticos.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa é entender melhor esse conjunto de doenças e o que as causa, e para você entender as chances de seus filhos herdarem parkinsonismo atípico ou alguma doença lisossômica.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Toda a participação neste estudo é absolutamente confidencial (os dados serão utilizados sem identificação do paciente), bem como os resultados da avaliação clínica e dos exames genéticos. É permitida a desistência em qualquer fase da avaliação, sem qualquer tipo de problema para o participante.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Dr. Carlos R. M. Rieder, pelo telefone (51) 33598182 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

() SIM: autorizo manter meu material genético excedente (DNA) armazenado, sabendo que poderá ser usado em meu benefício diagnóstico direto, no futuro, ou para novas pesquisas, das quais serei informado e poderei novamente optar em participar ou não

() NÃO: não autorizo armazenar meu material genético após este exame.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

ANEXO 3– CARTA DE ACEITO DO ARTIGO COMO AUTORA NO PERIÓDICO METABOLIC BRAIN DISEASE

Date: 23 Dec 2023
To: "Ida Vanessa Doederlein Schwartz" ischwartz@hcpa.edu.br
From: "Gregory Konat" Gkonat@wvu.edu
Subject: MEBR: Your manuscript entitled Identification of metabolic pathways and key genes associated with Atypical Parkinsonism using a systems biology approach

Ref.:
Ms. No. MEBR-D-23-00268R3
Identification of metabolic pathways and key genes associated with Atypical Parkinsonism using a systems biology approach
Metabolic Brain Disease

Dear Dr Doederlein Schwartz,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Metabolic Brain Disease.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards

Dr. Gregory Konat
Editor-in-Chief
Metabolic Brain Disease

Reviewer #4: I thank the authors for addressing my comments and modifying the manuscript accordingly.

—

Please note that this journal is a Transformative Journal (TJ). Authors may publish their research with us through the traditional subscription access route or make their paper immediately open access through payment of an article-processing charge (APC). Authors will not be required to make a final decision about access to their article until it has been accepted.

Authors may need to take specific actions to achieve compliance with funder and institutional open access mandates. If your research is supported by a funder that requires immediate open access (e.g. according to Plan S principles) then you should select the gold OA route, and we will direct you to the compliant route where possible. For authors selecting the subscription publication route our standard licensing terms will need to be accepted, including our self-archiving policies. Those standard licensing terms will supersede any other terms that the author or any third party may assert apply to any version of the manuscript.

Find out more about compliance: <https://www.springernature.com/gp/open-research/funding/policy-compliance-faqs>

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

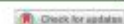
Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

ANEXO 4– ARTIGO PUBLICADO COMO AUTORA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO NO PERIÓDICO BIOMARKERS

BIOMARKERS
2021, VOL. 26, NO. 2, 146–151
<https://doi.org/10.1080/1354750X.2021.1874051>



ORIGINAL ARTICLE



Chronic exposure to ethanol alters the expression of miR-155, miR-122 and miR-217 in alcoholic liver disease in an adult zebrafish model

Amanda Pasqualotto^{a,b}, Raquel Ayres^a, Larisse Longo^{a,b}, Diego Del Duca Lima^c, Diogo Losch de Oliveira^c, Mário Reis Alvares-da-Silva^{a,b}, Themis Reverbel da Silveira^a and Carolina Uribe-Cruz^{a,b,d}

^aExperimental Hepatology and Gastroenterology Laboratory, Center for Experimental Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; ^bGraduate Program in Gastroenterology and Hepatology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ^cGraduate Program in Biological Sciences-Biochemistry, Department of Biochemistry, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to evaluate the hepatic and circulating expression of miR-155, miR-122 and miR-217 in a model of chronic exposure to ethanol in adult zebrafish.

Methods: Wild-type adult zebrafish were divided into two groups ($n = 281$): an EG (exposed to 0.5% v/v Ethanol in aquarium water) and a CG (without ethanol). After 28 days the animals were euthanized, followed by histopathological analysis, quantification of lipids, triglycerides and inflammatory cytokines in liver tissue. miR-155, miR-122 and miR-217 gene expression was quantified in liver tissue and serum.

Results: We observed hepatic lesions and increased accumulation of hepatic lipids in the EG. The expression of β -17 was higher in the EG, but there were no differences in β -10 and α -1 between groups. In the liver, expression of miR-122 and miR-155 was higher in the EG. The circulating expression of miR-155 and miR-217 was significantly higher in the EG.

Conclusion: Chronic exposure to ethanol in zebrafish leads to altered hepatic and circulating expression of miR-155, miR-122 and miR-217. This confirms its potential as a biomarker and therapeutic target.

ARTICLE HISTORY

Received 21 April 2020
Accepted 29 December 2020

KEYWORDS

Alcoholic liver disease; miR-217; miR-122; miR-155; Zebrafish; Ethanol

Introduction

Alcoholic liver disease (ALD) is a disorder caused by excessive alcohol consumption. According to the World Health Organisation (WHO) data from 2018, it is estimated that 3% of all global deaths are alcohol-related, and its abuse resulted in 0.4 million of the 11 million deaths worldwide (WHO 2018), which demonstrates the importance of this public health issue (Grittner *et al.* 2012). ALD comprises a clinical-histological spectrum, ranging from steatosis to cirrhosis and hepatocellular carcinoma (Farooq and Bataller 2016). So far the molecular mechanisms involved in ALD have not been fully elucidated; a better approximation of these mechanisms could contribute to the advancement of new therapies.

MicroRNAs are abundant in the liver and regulate a number of cellular processes associated with liver injury (Torres *et al.* 2018). Their deregulation may be a pathogenic factor in many liver diseases, which makes them targets for research (Xu *et al.* 2018). In ALD, miR-122, miR-155 and miR-217 are candidates for studies since they are involved in export and lipid synthesis, cholesterol homeostasis and regulation of inflammation and immune response in hepatic

tissue (Hu *et al.* 2012, Tsai *et al.* 2012, Szabo and Satishchandran 2015, Yin *et al.* 2015).

Recently, microRNAs have emerged as molecules of interest for their participation in the molecular processes of ALD (Xu *et al.* 2018, Felgendreff *et al.* 2020). Although the role of these microRNAs is associated with signalling pathways involved in ALD, studies on their expression are scarce and contradictory (McCrae *et al.* 2016, Satishchandran *et al.* 2018). miR-122 expression in ALD patients and animal models is has been shown as both high and low in different studies (Bala *et al.* 2012, Dippold *et al.* 2013, McCrae *et al.* 2016, Satishchandran *et al.* 2018). Research on miR-155 in ALD has involved only murine models (serum) or liver cell culture that shows increased expression (Bala *et al.* 2011, 2012). Studies on miR-217 expression in ALD have only assessed murine hepatic tissue and cell culture in the Gao-Binge alcohol model, and found higher miR-217 levels (Yin *et al.* 2015).

Currently zebrafish has been used as an animal model for the study of liver diseases (Howarth *et al.* 2011, Vliegenthart *et al.* 2014, Goessling and Sadler 2015). Zebrafish is a freshwater fish that has numerous advantages such as its anatomical, physiological and molecular homology with mammals

CONTACT Mário Reis Alvares-da-Silva mrsilva@hcpa.edu.br Experimental Hepatology and Gastroenterology Laboratory, Center for Experimental Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Rio Branco, Porto Alegre, RS 90035-903, Brazil
^aCarolina Uribe-Cruz is responsible for statistical design and analysis. E-mail: carolinaurib10@yahoo.com.ar

© 2021 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Gut Dysbiosis and Increased Intestinal Permeability Drive microRNAs, NLRP-3 Inflammasome and Liver Fibrosis in a Nutritional Model of Non-Alcoholic Steatohepatitis in Adult Male Sprague Dawley Rats

This article was published in the following Dove Press journal:
Clinical and Experimental Gastroenterology

Larisse Longo ^{1,2}
Jéssica Tonin Ferrari ²
Pabulo Henrique Rampelotto ^{2,3}
Gustavo Hirata Dellavia ⁴
Amanda Pasqualotto²
Claudia P Oliveira ⁵
Carlos Thadeu Schmidt Cerski^{1,4,6}
Themis Reverbel da Silveira²
Carolina Uribe-Cruz ^{1,2}
Mário Reis Álvares-da-Silva ^{1,2,4,7}

¹Graduate Program in Gastroenterology and Hepatology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil; ²Experimental Laboratory of Hepatology and Gastroenterology, Center for Experimental Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil; ³Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil; ⁴School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil; ⁵Department of Gastroenterology (LIM07), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; ⁶Unic of Surgical Pathology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil; ⁷Division of Gastroenterology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Background/Aim: The interactions between the gut and liver have been described in the progression of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). The aim of this study was to develop an experimental nutritional model of NASH simulating metabolic changes occurring in humans.

Materials and Methods: Adult male Sprague Dawley rats were randomized into two groups: controls (standard diet) and intervention (high-fat and choline-deficient diet) for 16 weeks, each experimental group with 10 animals. Biochemical analysis, hepatic lipid content, microRNAs, inflammatory, gut permeability markers and gut microbiota were measured.

Results: Animals in the intervention group showed significantly higher delta Lee index ($p=0.017$), abdominal circumference ($p<0.001$), abdominal adipose tissue ($p<0.001$) and fresh liver weight ($p<0.001$), as well as higher serum levels of alanine aminotransferase ($p=0.010$), glucose ($p=0.013$), total cholesterol ($p=0.033$), LDL cholesterol ($p=0.011$), and triglycerides ($p=0.011$), and lower HDL cholesterol ($p=0.006$) compared to the control group. Higher TLR4 ($p=0.041$), TLR9 ($p=0.033$), MyD88 ($p=0.001$), Casp1 ($p<0.001$), NLRP3 ($p=0.019$), liver inflammation index interleukin (IL)-1 β /IL10 ($p<0.001$), IL6/IL10 ($p=0.002$) and TNF α /IL10 ($p=0.001$) were observed in the intervention group, and also lower permeability markers *Ocln* ($p=0.003$) and *F11r* ($p=0.041$). Gene expression of miR-122 increased ($p=0.041$) and miR-145 ($p=0.010$) decreased in the intervention group. Liver steatosis, inflammation and fibrosis, along with collagen fiber deposition increment ($p<0.001$), were seen in the intervention group. Regarding gut microbiota, Bray-Curtis dissimilarity index and number of operational taxonomic units were significantly different ($p<0.001$) between the groups. Composition of the gut microbiota showed a significant correlation with histopathological score of NAFLD ($r=0.694$) and index IL-1 β /IL-10 ($r=0.522$).

Conclusion: This experimental model mimicking human NASH demonstrated gut and liver interaction, with gut microbiota and intestinal permeability changes occurring in parallel with systemic and liver inflammation, miRNAs regulation and liver tissue damage.

Keywords: fatty liver disease models, fibrosis, gut microbiota, non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis

Introduction

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) encompasses a large spectrum of histological features ranging from simple steatosis, characterized by fat

Correspondence: Larisse Longo
Email larisselongo@hotmail.com

submit your manuscript | www.dovepress.com
Dovepress
  
<http://dx.doi.org/10.2147/CEG.S161278>

Clinical and Experimental Gastroenterology 2020:13 351–368

351

© 2020 Longo et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <http://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution – Non Commercial (unported, v3.0) License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accepting the work you hereby accept the Terms. Non-commercial uses of the work are permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see paragraphs 4.2 and 5 of our Terms (<http://www.dovepress.com/terms.php>).

ANEXO 6— ARTIGO PUBLICADO COMO COAUTORA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO NO PERIÓDICO JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF NUTRITION

JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF NUTRITION
https://doi.org/10.1080/07315724.2019.1627955



Check for updates

Hepatoprotective Effect of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG Through the Modulation of Gut Permeability and Inflammasomes in a Model of Alcoholic Liver Disease in Zebrafish

Juliana Paula Bruch-Bertani^{a,b}, Carolina Uribe-Cruz^{a,b}, Amanda Pasqualotto^{a,b}, Larisse Longo^{a,b}, Raquel Ayres^a, Carolina Bortolin Beskow^{a,b}, Afonso Luis Barth^c, Daiana Lima-Morales^c, Fábio Meurer^d, Gabriel Tayguara Silveira Guerreiro^a, Themis Reverbel da Silveira^{a,b}, Mário Reis Álvares-da-Silva^{a,b,c,e}, and Valesca Dall'Alba^{a,b,f}

^aExperimental Laboratory of Hepatology and Gastroenterology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil; ^bPost Graduate Program in Gastroenterology and Hepatology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil; ^cResearch Laboratory on Bacterial Resistance (LABRESIS), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil; ^dPost Graduate Program in Sustainable Development of Aquaculture, Universidade Federal do Paraná, Campus de Palotina, Paraná, Brazil; ^eDepartment of Internal Medicine, Gastroenterology and Hepatology Unit, School of Medicine, UFRGS. Gastroenterology and Hepatology Division, HCPA, Porto Alegre, Brazil; ^fDepartment of Nutrition, School of Medicine, UFRGS. Nutrition Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS. Porto Alegre, Brazil

ABSTRACT

Objective: Alcoholic liver disease (ALD) is among the leading causes of death from liver disease. Among the factors involved in its pathogenesis are inflammation and increased intestinal permeability. The aim of this study was to assess the effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) on hepatic lipid accumulation, activation of inflammasomes, and gut permeability markers in experimental model of ALD with zebrafish.

Methods: An experiment was conducted to assess the effective LGG dose capable of promoting intestinal colonization. Animals were divided into three groups ($n = 64/\text{group}$): ethanol group (E), ethanol + probiotic group (EP), and control group (C). Groups E and EP were exposed to 0.5% ethanol concentration for 28 days. At the end of this period, animals were euthanized, and livers were collected for Oil Red staining and assessment of the inflammasome system. Intestines were collected for evaluation of gut permeability markers.

Results: The dose of 1.55×10^8 UFC LGG/fish/d promoted intestinal colonization. Group EP presented lower hepatic lipid accumulation, lower *il-1 β* expression, and higher *cln15a* expression when compared to group E.

Conclusions: Supplementation with LGG was protective for hepatic steatosis in ALD model. In addition, LGG influenced the modulation of the inflammatory response and markers of gut permeability, improving the gut barrier structure.

ARTICLE HISTORY

Received 9 April 2019
Accepted 3 June 2019

KEYWORDS

probiotics; *Lactobacillus rhamnosus* GG; alcoholic liver disease; inflammasomes; zebrafish

Introduction

Alcoholic liver disease (ALD), characterized by excessive alcohol consumption, is among the leading causes of liver disease mortality. The World Health Organization estimates that excessive alcohol consumption is responsible for 5.1% of the global burden of disease and about 5.9% of all deaths worldwide (1). ALD comprises a clinical-histological spectrum, ranging from steatosis to cirrhosis and hepatocellular carcinoma (2).

Due to the anatomical organization of the portal system, the liver is continually exposed to blood flow from the intestine and with it intestinal products (3,4). In this sense, in addition to promoting direct liver damage, exposure may also contribute to the progression of ALD through the toxic compounds generated by its metabolism, such as acetaldehyde, which promotes dysbiosis and increased intestinal

permeability (5). In addition to chronic alcohol consumption, changes in diet, environmental, and genetic factors may promote changes in the microbiota. Dysbiosis can contribute to the breakdown of gut barrier integrity, inducing bacterial translocation and triggering an inflammatory response in the liver (6). The integrity of the intestinal epithelium is determined mainly by tight junctions (TJ), a selectively permeable protein complex, among which we can highlight junctional adhesion molecules (JAM) and claudins. Those previously mentioned have a key role in the permeability of endothelial and epithelial cells, both in humans and in animal models (7).

Patients with ALD present increased gut permeability evidenced by higher levels of plasma endotoxin. In addition, increased levels of lipopolysaccharide (LPS) and translocation of bacterial products were detected in rat models with ALD (8, 9). This fact can be explained by the activation of

CONTACT Juliana Paula Bruch-Bertani julianabruch@gmail.com Rua Tiradentes, 215/504, Centro - CEP: 95900-028 - Lajeado, RS, Brazil.

Color versions of one or more of the figures in this article can be found online at www.tandfonline.com/uaon.

Bruch-Bertani JP; Pasqualotto P; Longo L; Ayres R; Beskow CB; Barth AL; Lima-Morales D; Meurer F; Silveira TR da; Álvares-da-Silva MR; Uribe-Cruz C; Dall'Alba V.

© 2019 American College of Nutrition

ANEXO 7– ARTIGO PUBLICADO COMO COAUTORA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO NO PERIÓDICO NEUROTOXICOLOGY

Neurotoxicology 88 (2022) 57–64



Contents lists available at ScienceDirect

Neurotoxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neuro



Prolonged ethanol exposure alters glutamate uptake leading to astrogliosis and neuroinflammation in adult zebrafish brain

Adriana Fernanda Kuckartz Vizueté^a, Ben Hur Mussulini^a, Kamila Cagliari Zenki^a, Suelen Baggio^a, Amanda Pasqualotto^a, Denis Broock Rosemberg^{b,c}, Maurício Reis Bogo^d, Diogo Lösch de Oliveira^{a,c}, Eduardo Pacheco Rico^{e,*}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2600-Anexo, 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil

^b Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, RS, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

^c The International Zebrafish Neuroscience Research Consortium (ZNNRC), 309 Palmer Court, Slidell, LA, 70458, USA

^d Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Laboratório de Neuroquímica e Psicofarmacologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil

^e Translational Psychiatry Laboratory, Graduate Program in Health Sciences, University of Extreme Southern Catarinense (UNESC), Criciúma, SC, Brazil

ARTICLE INFO

Edited by Dr. P. Lein and Dr. R. Westerink

Keywords:
Glutamate
astrocytes
ethanol
BDNF
cytokines
zebrafish

ABSTRACT

High ethanol (EtOH) consumption is a serious condition that induces tremors, alcoholic psychosis, and delirium, being considered a public health problem worldwide. Prolonged EtOH exposure promotes neurodegeneration, affecting several neurotransmitter systems and transduction signaling pathways. Glutamate is the major excitatory amino acid in the central nervous system (CNS) and the extracellular glutamatergic tone is controlled by glutamate transporters mostly located in astrocytes. Here, we explore the effects of prolonged EtOH exposure on the glutamatergic uptake system and its relationship with astroglial markers (GFAP and S100B), neuroinflammation (IL-1 β and TNF- α), and brain derived neurotrophic factor (BDNF) levels in the CNS of adult zebrafish. Animals were exposed to 0.5% EtOH for 7, 14, and 28 days continuously. Glutamate uptake was significantly decreased after 7 and 14 days of EtOH exposure, returning to baseline levels after 28 days of exposure. No alterations were observed in crucial enzymatic activities linked to glutamate uptake, like Na,K-ATPase or glutamine synthetase. Prolonged EtOH exposure increased GFAP, S100B, and TNF- α levels after 14 days. Additionally, increased BDNF mRNA levels were observed after 14 and 28 days of EtOH exposure, while BDNF protein levels increased only after 28 days. Collectively, our data show markedly brain astroglial, neuroinflammatory and neurotrophic responses after an initial impairment of glutamate uptake following prolonged EtOH exposure. This neuroplasticity event could play a key role in the modulatory effect of EtOH on glutamate uptake after 28 days of continuous exposure.

1. Introduction

Prolonged ethanol (EtOH) consumption alters synaptic plasticity and impairs neuronal physiology. For example, EtOH induces neuro-adaptative changes, modulation of gene transcription and protein expression, and neurotransmitter signaling adaptation in the central nervous system (CNS) (Pandey, 2004; Moonat et al., 2010). Glutamate,

the major excitatory neurotransmitter of the CNS, plays a key role in neuronal plasticity, regulates neural development, and establishes neural network, which results in learning and memory acquisition (Lhuillier et al., 2004; Ozawa et al., 1998). Glutamate tripartite synapses are modulated by astrocyte via high-affinity sodium-dependent uptake through glutamate transporters mostly expressed in glial cells (Danbolt, 2001). These carriers rely indirectly on Na⁺/K⁺-pump activity to

Abbreviations: AMPA, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors; CNS, Central nervous system; EAAT, excitatory amino acid transporters; GFAP, glial fibrillary acidic protein; GS, glutamine synthetase; BDNF, brain-derived neurotrophic factor.

* Corresponding author at: Graduate Program in Health Sciences, Alcoholism Research Group, Translational Psychiatry Laboratory, University of Extreme Southern Catarinense (UNESC), Criciúma, Av. Universitária, 1105, Bloco 5, Sala 6, Bairro Universitário, 88806-000, Criciúma, SC, Brazil.

E-mail address: eduprico@gmail.com.br (E.P. Rico).

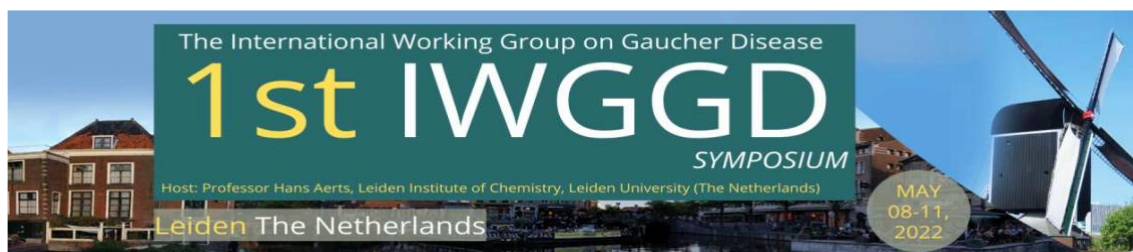
<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.10.014>

Received 1 June 2021; Received in revised form 4 October 2021; Accepted 28 October 2021

Available online 30 October 2021

0161-813X/© 2021 Elsevier B.V. This article is made available under the Elsevier license (<http://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/>).

ANEXO 8– APRESENTAÇÃO ORAL “1ST IWGGD”



Leiden, May 19th, 2022

To whom it may concerns:

CERTIFICATE OF ATTENDANCE

I, hereby certify that the following person:

Marina Siebert

participated at the 1st IWGGD Symposium, which took place from May 8th to May 11, 2022 in Leiden, Netherlands.

Yours faithfully,

The Organizing Committee

Dear Ida V. Doederlein Schwartz,

Following our email from last week, we are pleased to confirm the following abstract has been **accepted** to the IWGGD 2022 as an **oral presentation**:

00064

GBA1 variant and other lysosomal disease variants in cases of atypical parkinsonism

You are scheduled to participate in a **LIVE in-person presentation** at IWGGD 2022, taking place in Leiden, NL, from May 08 to May 11, 2022.

Oral presenters need to prepare a printed poster as well and we will send out the details/information on the posters dimensions for both virtual and in person very soon.

The length of your presentation is 15 minutes in total: 10 minutes presentation + 5 minutes discussion.

The full programme will be sent to you next week confirming your session and presentation time.

As the early bird rate registration deadline is fast approaching, April 09, if you haven't already done so, we invite you to confirm your acceptance to present your research by registering for IWGGD 2022 using the link below ASAP.

<https://www.iwggdsymposium.com/registration2022-1>