

**Relação entre a exposição ao pesticida Rotenona e o desenvolvimento de sintomas
motores e não-motores da doença de Parkinson**

**Relationship between exposure to the pesticide Rotenone and the development of motor
and non-motor symptoms of Parkinson's disease**

**Relación entre la exposición al pesticida Rotenona y el desarrollo de síntomas motores y
no motores de la enfermedad de Parkinson**

Recebido: 26/08/2020 | Revisado: 02/09/2020 | Aceito: 03/09/2020 | Publicado: 03/09/2020

Jennifer Kelly Silva de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1044-9122>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: kjennifer648@gmail.com

Jociele Moreira de Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5249-9307>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: jociele@ufrn.edu.br

Camila Alexandre Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3802-5233>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: camilalexandre2@gmail.com

Mateus Barbosa de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9272-1264>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: mateus.azv@hotmail.com

Paulo Matheus Freitas Cavalcante

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5613-3388>

Faculdade de Ciências Sociais e Aplicadas, Brasil

E-mail: paulo_matheusfc@hotmail.com

Daniel Felipe Fernandes Paiva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4186-9856>

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

E-mail: daniel.fernandes.paiva@gmail.com

Resumo

Introdução: A doença de Parkinson (DP) é conhecida por seus sintomas motores debilitantes e pela dependência que sua progressão ocasiona. Apesar de clássica, essa condição ainda não possui seus fatores causais totalmente elucidados e, portanto, a predição se torna, por vezes, ineficaz. Na busca pela melhor compreensão da doença, pesquisadores encontraram uma íntima relação de sua sintomatologia com populações que tinham contato com o pesticida Rotenona, muito usada nos processos agrícolas e que pode ser fator auxiliar no desenvolvimento da enfermidade na população agrícola. **Objetivo:** Elucidar com base na literatura a interrelação da DP com a Rotenona. **Metodologia:** Revisão integrativa da literatura que utilizou os descritores: “Parkinson Disease”, “Rotenone”, “Synucleins”, “Gastrointestinal Tract”, “Vagus Nerve” e “Microbiota” nos buscadores: PubMed, ScienceDirect, SCIELO e BVS onde foram selecionados 13 documentos para análise que elucidavam em seu texto a relação entre a enfermidade com a substância estudada. **Resultados:** Os trabalhos retratam uma íntima relação da exposição a Rotenona com os sintomas não-motores da DP. Ademais, tais sintomas acometem principalmente sinais no trato gastrointestinal que, por vezes, podem auxiliar na predição da doença muito antes da manifestação dos sintomas clássicos. **Considerações Finais:** A Rotenona possui relação bem elucidada no desenvolvimento da DP, ademais, tal relação possibilita uma melhor compreensão da conexão entre cérebro e trato gastrointestinal através do nervo vago. Assim, tais achados podem servir de base para uma melhor compreensão e prevenção do diagnóstico e tratamento da DP.

Palavras-chave: Praguicidas; Doenças do sistema nervoso; Trato gastrointestinal; Doença de Parkinson.

Abstract

Introduction: Parkinson's disease (PD) is known for its debilitating motor symptoms and the dependence that its progression causes. Although classic, this condition still does not have its causal factors fully elucidated and, therefore, the prediction sometimes becomes ineffective. In the search for a better understanding of the disease, researchers found an intimate relationship between their symptoms and populations that had contact with the pesticide rotenone, widely used in agricultural processes and that can be an auxiliary factor in the development of the disease in the agricultural population. **Objective:** To elucidate, based on the literature, the interrelation of Parkinson's Disease with rotenone. **Methodology:** Integrative literature review that used the descriptors: “Parkinson Disease”, “Rotenone”, “Synucleins”, “Gastrointestinal Tract”, “Vagus Nerve” and “Microbiota” in the databases: PubMed,

ScienceDirect, SCIELO, and BVS where 13 documents were selected for analysis that elucidated in their text the relationship between the disease and the substance studied. Results: The works portray an intimate relationship between exposure to rotenone and non-motor symptoms of Parkinson's disease. Also, these symptoms mainly affect signs in the gastrointestinal tract, which sometimes can help in the prediction of the disease long before the manifestation of classic symptoms. Final Considerations: Rotenone has a well-elucidated relationship in the development of Parkinson's disease, besides, this relationship allows a better understanding of the connection between the brain and the gastrointestinal tract through the vagus nerve. Thus, such findings can serve as a basis for a better understanding and prevention of the diagnosis and treatment of PD.

Keywords: Pesticides; Nervous system diseases; Gastrointestinal tract; Parkinson disease.

Resumen

Introducción: La enfermedad de Parkinson (EP) es conocida por sus síntomas motores debilitantes y la dependencia que provoca su progresión. Aunque clásica, esta condición aún no tiene sus factores causales completamente aclarados y, por lo tanto, la predicción a veces se vuelve ineficaz. En la búsqueda de una mejor comprensión de la enfermedad, los investigadores encontraron una íntima relación entre sus síntomas y las poblaciones que tuvieron contacto con el plaguicida rotenona, muy utilizado en procesos agrícolas y que puede ser un factor auxiliar en el desarrollo de la enfermedad en la población agrícola. **Objetivo:** Dilucidar, a partir de la literatura, la interrelación de la enfermedad de Parkinson con la rotenona. **Metodología:** Revisión bibliográfica integrativa que utilizó los descriptores: “Enfermedad de Parkinson”, “Rotenona”, “Sinucleínas”, “Tracto gastrointestinal”, “Nervio vago” y “Microbiota” en las bases de datos: PubMed, ScienceDirect, SCIELO y BVS donde Se seleccionaron 13 documentos para su análisis que aclararon en su texto la relación entre la enfermedad y la sustancia estudiada. **Resultados:** Los trabajos muestran una relación íntima entre la exposición a rotenona y los síntomas no motores de la enfermedad de Parkinson. Además, estos síntomas afectan principalmente a los signos del tracto gastrointestinal, que en ocasiones pueden ayudar a predecir la enfermedad mucho antes de la manifestación de los síntomas clásicos. **Consideraciones finales:** La rotenona tiene una relación bien aclarada en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson, además, esta relación permite una mejor comprensión de la conexión entre el cerebro y el tracto gastrointestinal a través del nervio vago. Por lo tanto, estos hallazgos pueden servir como base para una mejor comprensión y prevención del diagnóstico y tratamiento de la EP.

Palabras clave: Plaguicidas; Enfermedades del sistema nervioso; Tracto gastrointestinal; Enfermedad de Parkinson.

1. Introdução

A doença de Parkinson (DP) é amplamente conhecida pelos seus sintomas motores, os quais envolvem os tremores e a dificuldade da deambulação, caracterizando assim uma marcha específica: a parkinsoniana. Contudo, essa condição debilitante resulta em sintomas motores e não-motores, de modo que estes últimos aparecem antes mesmo das manifestações motoras.

Os pródromos não-motores do Parkinson incluem distúrbios do ritmo circadiano, anosmia (perda do olfato) e depressão (Sharma et al., 2019 e Koutzoumis et al., 2019). Além disso, a disfunção gastrointestinal é uma das manifestações não-motoras mais comuns na DP, de modo que pode ocorrer em qualquer estágio da doença e afetar todas as seções ao longo do trato gastrointestinal (TGI), causando uma variedade de sintomas: refluxo, náusea, vômitos, constipação e dor abdominal (Jonhson et al., 2010).

A fisiopatologia desta doença envolve um distúrbio neurodegenerativo multifatorial que é caracterizado pelo acúmulo da proteína α -syn em sua forma patológica, levando à degeneração lenta e progressiva dos neurônios dopaminérgicos na pars compacta da substância negra (SNC), causando assim uma deficiência de dopamina. A patogênese da DP é apenas parcialmente compreendida e inclui um corpo emergente de evidências sugerindo que a ativação de mecanismos neuroinflamatórios contribui para o processo neurodegenerativo, o qual é o segundo mais prevalente no mundo, afetando aproximadamente 10 milhões de pessoas (Sharma et al., 2019 e Baizabal-Carvallo et al. 2020).

Devido à grande influência da DP sobre o TGI, vários pesquisadores analisaram as correlações anatômicas e fisiológicas entre o cérebro e o TGI, com o intuito de melhor compreender o desenvolvimento de tal enfermidade. Como resultado, descobriu-se que a microbiota intestinal é capaz de se comunicar com o sistema nervoso central (SNC) por meio do nervo vago (Spielman et al., 2018). Tendo-se em vista o estabelecimento bidirecional de uma via de comunicação entre esses órgãos, estudos (Kim et al., 2019) apontam que proteína α -syn patológica pode se espalhar a partir do sistema nervoso entérico (SNE) e se propagar para o SNC, indicando assim que a fisiopatologia da DP pode perpassar por acometimentos ou disfunções não apenas cerebrais, mas também no TGI.

De modo corroborativo, um estado de disbiose, uma condição caracterizada por

composição microbiana alterada do TGI, foi recentemente reconhecido em pacientes com DP (Baizabal-Carvalho et al., 2020). As toxinas externas também podem desempenhar um papel na composição da microbiota intestinal; é o caso da Rotenona, um composto amplamente usado como pesticida, que tem sido associado a um desequilíbrio na microbiota intestinal, sendo inclusive utilizada como fármaco de indução da DP em modelos animais (Jonhson et al., 2010; Baizabal-Carvalho et al., 2020).

A Rotenona é derivada de plantas, sendo considerado um pesticida orgânico, de modo que era comum ser usado como inseticida doméstico e em hortas caseiras (Tanner et al., 2011). Devido a sua característica lipofílica, a Rotenona cruza facilmente a barreira hematoencefálica. Ademais, estudos apontam que os neurônios dopaminérgicos mesencefálicos são muito mais susceptíveis aos danos causados por ele do que os neurônios simpáticos entéricos. Além disso, essa substância é um potente inibidor do complexo mitocondrial I e o seu uso está associado à redistribuição intracelular e desregulação da expressão da proteína α -syn (Arnhold et al., 2016).

Diante desse contexto de novos olhares sobre essa velha enfermidade, este artigo tem por finalidade revisar a literatura disponível sobre a correlação entre a exposição ao pesticida Rotenona e o desenvolvimento da doença de Parkinson, com o objetivo de reunir informações sobre o tema e integrá-las, de modo a verificar e analisar possíveis informações divergentes ou complementares e, com isso, facilitar a compreensão sobre o tema.

2. Metodologia

Esta revisão integrativa de literatura foi elaborada com base nos critérios e recomendações de Moher et al (2016) e analisa estudos publicados até o mês de agosto do ano de 2020, de forma que não houve delimitação temporal, de forma a integralizar ao máximo o conhecimento desenvolvido até então e possibilitar uma análise de uma evolução do conhecimento do tema tratado.

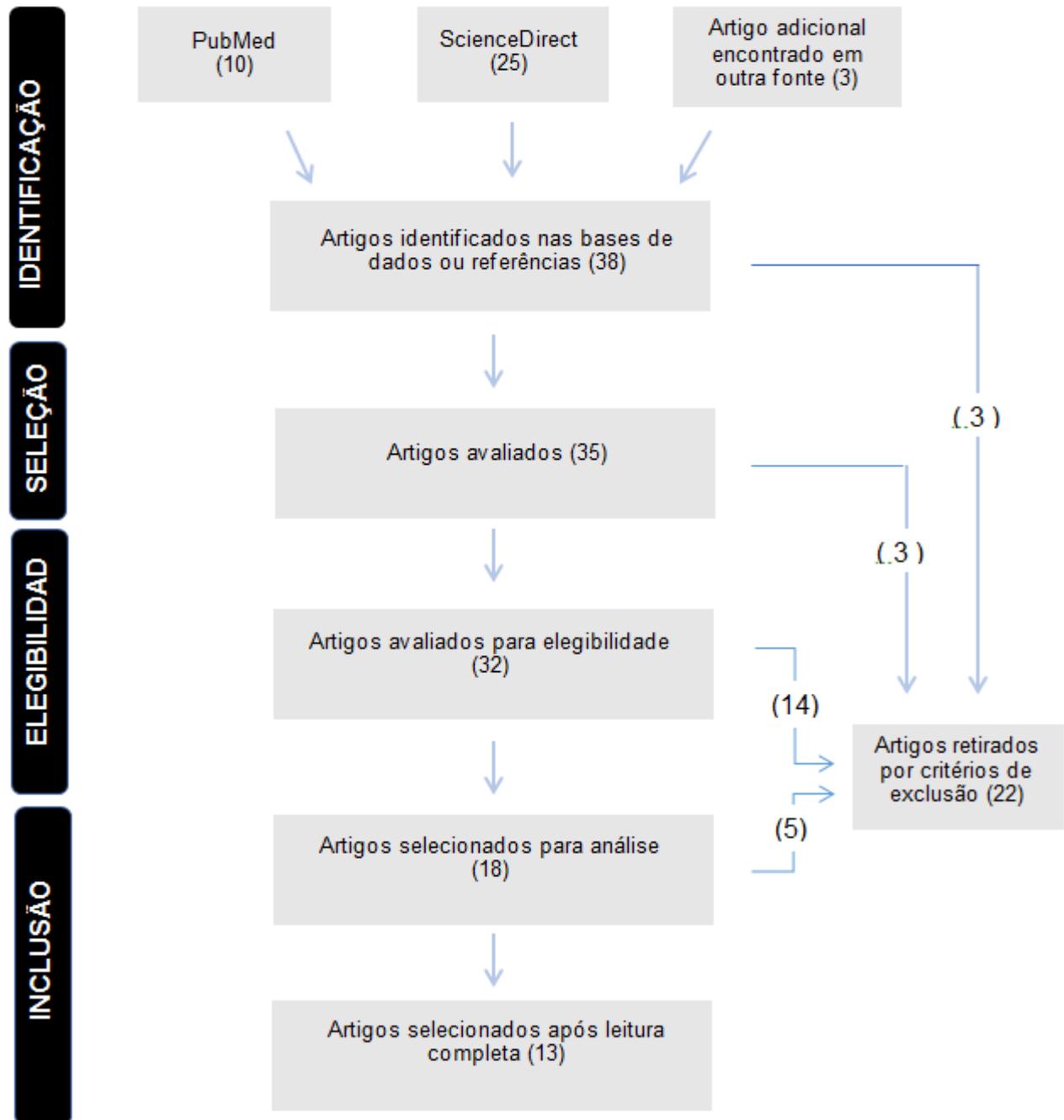
Foram consultados e selecionados os descritores “Parkinson Disease”, “Rotenone”, “Synucleins”, “Gastrointestinal Tract”, “Vagus Nerve” e “Microbiota” na plataforma de Descritores em Ciência da Saúde (DeCS). Em seguida, foi montada a estratégia de busca “Parkinson Disease AND Rotenone AND Synucleins AND Gastrointestinal Tract”, que foi utilizada nos buscadores PubMed, ScienceDirect, SciELO e BVS. De modo que foram encontrados 10 artigos na PubMed e 226 artigos no ScienceDirect, não sendo encontrados nenhum artigo nas outras bases de dados citadas. Com o objetivo de refinar a pesquisa no

ScienceDirect, foi utilizada a estratégia de busca “Parkinson Disease AND Rotenone AND Synucleins AND Gastrointestinal Tract AND Vagus Nerve AND Microbiota”, de modo que foram encontrados 25 artigos.

Os critérios de inclusão utilizados foram textos completos publicados que associam a doença de Parkinson com o pesticida Rotenona, sem restrição de linguagem ou data de publicação. Foram excluídos artigos que somente fazem uma breve citação da relação da desordem motora com o pesticida, bem como textos que não estão disponibilizados na íntegra; também foram excluídos painéis de eventos.

Após a verificação dos critérios de inclusão ou exclusão de cada artigo, dos 35 artigos encontrados nas bases de dados Pubmed e Science Direct foram retirados 17 por conter critérios de exclusão. Além disso, outros 3 estudos muito referenciados nos artigos selecionados, foram adicionados por contemplarem a temática buscada, esses foram encontrados na MEDLINE através da busca pelo título. Portanto, foram selecionados 18 artigos para análise de dados. Contudo, após a leitura completa dos 18 artigos, verificou-se que 5 deles continham critérios de exclusão não identificados inicialmente, restando, por fim, 13 artigos para análise final dos dados nesta revisão integrativa. As etapas de seleção dos artigos foram descritas no fluxograma ilustrado na Figura 1.

Figura1: Fluxograma da pesquisa nas bases de dados.



Fonte: Autoria própria.

A busca dos artigos foi concretizada segundo os critérios de população, interesse e contexto de PICO, de forma cega por dois pesquisadores considerando os critérios de inclusão e exclusão. Os estudos foram selecionados por dois pesquisadores por meio da leitura do título e do resumo dos artigos encontrados nas bases de dados. Ademais, para avaliar o nível

de concordância entre os pesquisadores, foi utilizado teste estatístico Kappa (sendo o valor mínimo considerado para progressão do estudo um valor de maior que 0,8) considerando a variável inclusão ou exclusão dos estudos para análise. Ao final do teste, o Kappa obtido entre os pesquisadores foi de 0,94.

A fim de sintetizar os resultados descritos nos trabalhos, buscou-se, através da leitura na íntegra dos artigos selecionados, elencar seus objetivos e principais conclusões de maneira individual; dessa forma, os revisores selecionaram os dados descritos levando em consideração as informações que faziam menção a Rotenona e ao desenvolvimento da doença de Parkinson. Com a finalidade de comparar os objetivos e conclusões dos artigos selecionados para essa revisão integrativa, foi elaborada uma tabela com base no estudo de Dantas e Ramalho (2020), contendo o título e autor do artigo, ano de publicação, bem como os objetivos e conclusões do estudo.

3. Resultados

Foram selecionados no total 13 artigos para análise, sendo 10 ensaios clínicos em modelo animal, 1 capítulo de livro, 1 revisão sistemática e 1 estudo clínico. A Tabela 1 demonstra um compilado dos artigos utilizados e as informações mais relevantes para o presente estudo.

Tabela 1: Resumo dos objetivos e resultados dos 13 artigos selecionados para análise.

Título	Autor e ano	Objetivo	Resultado/ conclusão
Changes in the sympathetic innervation of the gut in rotenone treated mice as possible early biomarker for Parkinson's disease.	Arnhold et al., 2016.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Avaliar se a ação local da rotenona levaria a alterações no SNE de maneira semelhante ao observado em pacientes com DP. 2. Analisar e comparar (<i>in vitro</i>) o efeito da Rotenona em neurônios dopaminérgicos e simpáticos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Rotenona induz acúmulo de α-sinucleína e degeneração da inervação simpática no intestino de ratos. • A degeneração da inervação simpática do SNE tem potencial para ser utilizado como biomarcador para o diagnóstico da DP em seus estágios iniciais.
Colonic electrical stimulation improves colonic transit in rotenone-induced Parkinson's disease model through affecting enteric neurons.	Bu et al., 2019.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Utilizar Rotenona em modelo animal para simular a constipação e neuropatia do SNE observados em pacientes com DP, para investigar os efeitos da Estimulação elétrica do Cólon nos neurônios entéricos. 	<ul style="list-style-type: none"> • A rotenona poderia reproduzir a DP e disfunção gastrointestinal. • Detectou-se a eficácia da EEC em acelerar a transmissão colônica retardada. • Os achados sugerem a possibilidade de usar EEC no tratamento de constipação em pacientes com DP.

<p>Effects of oral administration of rotenone on gastrointestinal functions in mice.</p>	<p>Tasselli et al., 2013.</p>	<ol style="list-style-type: none">1. Avaliar os efeitos de um tratamento oral crônico com rotenona no fenótipo neuroquímico entérico, na motilidade gastrointestinal (GI) e na permeabilidade da barreira epitelial intestinal.	<ul style="list-style-type: none">• Presença de neurodegeneração no SNC, embora nenhuma alteração tenha sido observada no SNE no número ou no fenótipo dos neurônios.• Quanto à motilidade não foram observadas alterações, quanto ao tempo de esvaziamento ou trânsito total, somente observou-se anormalidade na frequência das fezes;• A permeabilidade paracelular da Barreira Epitelial Intestinal não foi alterada em ratos tratados por via oral com Rotenona.• O tratamento oral crônico com Rotenona pode ser usado em conjunto com outros fatores (superexpressão de alfa-sinucleína, inflamação entérica, etc.) para melhor caracterizar as alterações do ENS que ocorrem na DP.
<p>Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice.</p>	<p>Pan-Montojo et al., 2012.</p>	<ol style="list-style-type: none">1. Testar se a ressecção de nervos que conectam o SNC e o intestino atrasa ou bloqueia a progressão da doença no SNC e o aparecimento de sintomas motores.2. Desencadear a progressão de patologia semelhante à DP através do uso de pesticidas para estimular a secreção anormal de compostos celulares responsáveis por essa progressão.	<ul style="list-style-type: none">• A progressão da patologia semelhante à PD ocorre através dos nervos simpáticos e parassimpáticos e a cisão desses nervos é suficiente para interromper a progressão;• A alfa-sinucleína agregada e endocitada pode perpetuar e manter a patologia no neurônio pré-sináptico por meio de pelo menos dois mecanismos não exclusivos: i) a alfa-sinucleína pode atuar como um fator de nucleação; e/ou ii) pode estender o efeito da Rotenona por meio da inibição do complexo mitocondrial I no neurônio pré-sináptico;• Os resultados têm importantes implicações no diagnóstico e tratamento da DP e sugerem uma nova triagem de diagnóstico precoce e alvos farmacológicos para combater essa doença.
<p>Gut bacterial composition in a mouse model of Parkinson's disease.</p>	<p>Perez-Pardo et al., 2018.</p>	<ol style="list-style-type: none">1. Demonstrar as alterações na mucosa, na microbiota intestinal e em vias metabólicas associadas de modelos animais para DP que foram induzidos ao pesticida Rotenona	<ul style="list-style-type: none">• O uso da rotenona nos modelos animais para DP provocou um desbalanço relevante na variedade da microbiota intestinal, reduzindo as bactérias anti-inflamatórias do gênero <i>Bifidobacterium</i> e elevando as bactérias pró-inflamatórias <i>Rikenellaceae</i> e <i>Allobaculum</i>;• As alterações na microbiota e na mucosa intestinal são compatíveis com uma possível disbiose intestinal pró-

Gut–brain and brain–gut axis in Parkinson's disease models: Effects of a uridine and fish oil diet.	Perez-Pardo et al., 2017.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Investigar se a exposição local à neurotoxina Rotenona no cérebro ou no intestino de ratos pode induzir patologia semelhante à DP, desenvolvendo um fenótipo que inclui problemas motores e disfunções do TGI, ou se essa exposição afeta especificamente o cérebro ou o intestino; 2. Investigar os efeitos de uma intervenção dietética que combina uridina e ácido docosahexaenoico (DHA) nos sintomas motores e não motores de modelos animais expostos à rotenona. 	<p>inflamatória.</p> <ul style="list-style-type: none"> • A administração oral e intraestriatal da Rotenona em modelos animais induz déficits motores similares aos da DP, e esses efeitos foram mitigados pela dieta proposta; • A administração oral e intraestriatal de Rotenona em modelos animais induz perda de células dopaminérgicas no SNC, disfunção gastrointestinal, acúmulo de a-syn e inflamação no cólon, sendo esses efeitos menores no grupo controle induzido à dieta proposta; • Apenas a administração oral de Rotenona aos modelos animais induz pequenos déficits à integridade da barreira intestinal e à microbiota intestinal, e esses efeitos foram mitigados pela dieta proposta; • A uridina e o DHA presentes na dieta são capazes de evitar as disfunções motoras gástricas provocadas pela Rotenona, independentemente da exposição induzida aos modelos animais.
Nlrp3 is required for inflammatory changes and nigral cell loss resulting from chronic intragastric rotenone exposure in mice.	Martinez et al., 2017.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verificar a influência da Rotenona e o acúmulo de a-syn a ela associado na expressão do mediador intracelular <i>Nlrp3</i>, de modo a testar seu papel no desenvolvimento da resposta inflamatória e demais alterações similares à DP, em modelos animais. 	<ul style="list-style-type: none"> • A ação inflamatória do mediador intracelular <i>Nlrp3</i> é necessária para a perda de células dopaminérgicas na substância negra em modelos animais para DP; • O mediador intracelular <i>Nlrp3</i> pode ter importante papel na mediação da inflamação neurogênica e sistêmica induzida por toxinas, como é o caso da Rotenona.
Oral Administration of Rotenone using a Gavage and Image Analysis of Alpha-synuclein Inclusions in the Enteric Nervous System.	Pan-Montojo et al., 2010.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Analisar os efeitos da Rotenona atuando localmente no SNE. 	<ul style="list-style-type: none"> • A administração de 5 mg / kg de Rotenona não inibiu a atividade mitocondrial do Complexo I no músculo ou no cérebro; • Usando nosso método de administração (gavagem) a Rotenona não cruzou o sistema hepatoportal e estava agindo apenas no SNE.

Pathogenesis of Parkinson disease—the gut–brain axis and environmental factors.	Klingelhofer et al., 2015.	<ol style="list-style-type: none">1. Apresentar evidências de que o processo neurodegenerativo que leva à DP começa no SNE e se espalha através do nervo vago para o tronco cerebral inferior.2. Discutir as evidências de que a patogênese é desencadeada por fatores ambientais e consideramos abordagens terapêuticas que poderiam ter como alvo os estágios iniciais da DP.	<ul style="list-style-type: none">• Os sintomas motores da DP só se tornam aparentes após degeneração de > 80% dos neurônios dopaminérgicos na substância nigra.• O contato direto entre toxinas ambientais e neurônios no bulbo olfatório e ENS - por inalação ou ingestão - tem sido associado ao desenvolvimento de sintomas de DP não motores, e a apresentação clínica e patológica neste contexto corresponde àquela descrita pelo estadiamento de Braak espaço-temporal de DP.• Uma compreensão dos papéis que os fatores ambientais e genéticos desempenham na patogênese da DP é crucial para a identificação dos fatores de risco e do início da doença.• Os alvos para retardar ou interromper a progressão da doença através do eixo intestino-cérebro podem incluir α-sinucleína, células gliais entéricas e alterações neuroquímicas (por exemplo, enzimas do metabolismo da dopamina).
Progression of Parkinson's Disease Pathology Is Reproduced by Intragastric Administration of Rotenone in mice.	Pan-Montojo et al., 2010.	<ol style="list-style-type: none">1. Demonstrar o efeito da administração intragástrica de rotenona na reprodução do estado patológico da DP em modelos animais.	<ul style="list-style-type: none">• A administração intragástrica crônica de baixas doses de rotenona induz o acúmulo de a-syn no SNE, no núcleo motor do nervo vago, na medula espinal e no sistema nervoso de camundongos do tipo selvagem, mesmo sem níveis detectáveis de rotenona na corrente sanguínea• Foi observado acúmulo, fosforilação e sinais inflamatórios de a-syn, perda de neurônios dopaminérgicos e mudanças mensuráveis na coordenação motora dos modelos animais após 3 meses sob tratamento• Foi observado estresse oxidativo através do biomarcador lipofuscina, que, possivelmente, é uma consequência do dano neuronal ou do acúmulo de a-syn

The Gut and Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease.	Klingelhofer et al., 2017.	1. Explicar a variedade de sintomas gastrointestinais não motores na DP e suas consequências, assim como o importante papel do intestino no processo patológico da DP.	<ul style="list-style-type: none">• A constipação é um dos sintomas gastrointestinais não motores mais comuns na DP, e pode surgir até 15 anos antes de suas manifestações motoras;• Possivelmente, o intestino é um dos primeiros locais de acometimento do processo neurodegenerativo. O SNE é atingido e se espalha para o núcleo motor dorsal do nervo vago via nervos simpáticos e parassimpáticos, resultando na degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos presentes na substância negra;• O acúmulo de agregados de a-syn no SNE está associado à desmotilidade gástrica que antecede as alterações no SNC;• Alterações na microbiota intestinal são fatores de risco para DP;• Modelos animais induzidos a um tratamento à base de Rotenona; apresentaram acúmulo de agregados de a-syn no SNE, perda de neurônios dopaminérgicos da substância negra e disfunções motoras.
Rotenone, Paraquat, and Parkinson's Disease	Tanner et al., 2011.	1. Nosso objetivo foi determinar se os pesticidas que causam disfunção mitocondrial ou estresse oxidativo estão associados com DP ou características clínicas de parkinsonismo em humanos.	<ul style="list-style-type: none">• A DP foi positivamente associada a dois grupos de pesticidas definidos por mecanismos implicados experimentalmente - aqueles que prejudicam a função mitocondrial e aqueles que aumentam o estresse oxidativo, apoiando um papel para esses mecanismos na fisiopatologia da DP;• Rotenona e paraquat foram ligados experimentalmente a mecanismos fisiopatológicos implicados na DP humana;• Esse trabalho pode fornecer novos insights sobre a patogênese e, em última análise, a prevenção da DP.

Chronic rotenone exposure reproduces Parkinson's disease gastrointestinal neuropathology

Drolet et al.,
2009.

1. Os presentes estudos investigam os efeitos imediatos e de longo prazo da rotenona crônica na função gastrointestinal e na patologia de SNE relacionada à DP.

- A Rotenona retarda substancialmente o esvaziamento gástrico (não mostrado). Essa gastroparesia é um problema comum na DP e pode levar a “falhas na dose” de Levodopa e flutuações motoras;
- A Rotenona causou uma diminuição moderada e aparentemente permanente na densidade neuronal ganglionar mioentérica (e total);
- Estudos ultraestruturais e bioquímicos adicionais de tecido humano e de rato serão necessários para determinar a extensão em que os agregados de α -sinucleína entéricos observados no modelo de Rotenona são verdadeiramente uma reminiscência dos Lewy-bodies em DP.

Fonte: Autoria própria.

O uso do pesticida Rotenona foi capaz de induzir o acúmulo de agregados de a-syn em modelos animais, segundo os achados de Arnhold et al (2016), Perez-Pardo et al (2017), Pan-Montojo et al (2010) e Klingelhofer e Reichmann (2017). Esse acúmulo está associado à perpetuação e manutenção da patologia do neurônio pré-sináptico (Pan-Mojo et al., 2012), surgimento de estresse oxidativo (Pan-Mojo et al., 2010) e da dismotilidade gástrica que antecede as alterações no SNC na DP (Klingelhofer e Reichmann, 2017).

Ainda, estudos de Arnhold et al (2016) relacionam o uso da Rotenona com a degeneração da inervação simpática, que tem potencial para ser utilizado como biomarcador para o diagnóstico da DP em seus estágios iniciais. Tasselli et al (2013) avaliou a presença de neurodegeneração no SNC após o uso da Rotenona em modelos animais. Perez-Pardo et al (2018) demonstrou um relevante desbalanço na microbiota intestinal, provocado pelo uso da Rotenona em modelos animais, e estas alterações estão associadas à uma possível desbiose intestinal pró-inflamatória. A administração oral e intraestriatal de Rotenona pode, ainda, induzir déficits motores similares aos da DP, perda de células dopaminérgicas (Pan-Mojo et al, 2010), bem como disfunções gastrintestinais (Perez-Pardo et al., 2017 e Drolet et al., 2009), sendo esses considerados sinais de risco para a DP. Boa parte destes achados se explica pela influência da Rotenona na expressão do marcador intracelular Nlrp3, que tem importante papel da mediação da inflamação neurogênica e sistêmica induzida por toxinas, como é o caso da Rotenona. Apesar disso, Pan-Mojo et al (2010) demonstra que a administração da Rotenona não é capaz de inibir a atividade mitocondrial do Complexo I no músculo e no cérebro, mantendo sua atuação localmente no SNE.

No caso dos estudos em análise, serviu para a indução da patologia semelhante a DP nos ratos e camundongos avaliados, visto que a Rotenona pode reproduzir a DP e a disfunção gastrointestinal a ela associada (Bu et al., 2019 e Tanner et al., 2011).

A abordagem de Arnhold et al (2016), Bu et al (2016), Tasselli et al (2013), Pan-Montojo et al (2012), Klingelhofer e Reichmann (2015), Klingelhofer e Reichmann, (2017) e Tanner et al (2011), demonstrou o potencial da caracterização das alterações supracitadas, assim como a compreensão da relação que os fatores ambientais e genéticos têm na patogênese da Doença de Parkinson, demonstrando a possibilidade de desenvolverem-se mecanismos diagnósticos que poderiam identificar a doença antes do surgimento da sintomatologia clássica, ou criar novas oportunidades terapêuticas.

4. Discussão

Como a a-syn está correlacionada a DP.

Segundo Klingelhofer e Reichmann (2015), quando a proteína a-syn encontra-se em meio extracelular, ela desencadeia a liberação de mediadores inflamatórios, tais como citocinas e micróglia ativada. Além disso, essa proteína pode atuar como um fator de nucleação, permitindo maiores expressões dela própria (Pan-Mojo et al., 2010) de modo que, como a neuroinflamação e o estresse oxidativo são os principais fatores envolvidos no processo de dobramento incorreto e agregação da a-syn. Segundo Perez-Pardo et al (2018) e Tanner et al (2011), pode-se concluir que essa proteínas desencadeia um feedback positivo, pois na medida em que é liberada em meio extracelular, ela ativa mecanismos de aumento de sua expressão e, em paralelo, também atua no aumento de sua versão agregada.

Ainda com relação à a-syn, estudos apontam que ela é suficiente para induzir a formação de poros, a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo por meio de alterações na dinâmica de microtubos (Pan-Mojo et al., 2010) nos neurônios dopaminérgicos da substância negra e em neurônios noradrenérgicos do locus coeruleus (Klingelhofer e Reichmann, 2015). Somando-se a isso a afirmação de Klingelhofer e Reichmann (2015) de que células expostas a essa proteína neurodeada apresentam fragmentação nuclear e ativação da caspase 3, ou seja, claros sinais de apoptose celular, que são mais proeminentes nos neurônios dopaminérgicos da substância negra, devido a sua maior sensibilidade aos defeitos do complexo mitocondrial I, é possível estabelecer uma clara ligação entre a ação dessa proteína e ao desenvolvimento da fisiopatologia da DP. Afirmação essa que está de acordo com um estudo de Bu et al (2019) o qual afirma que o acúmulo de a-syn em pacientes com DP foi 10,01 vezes maior do que em pacientes do grupo controle.

Relação entre a Rotenona a a-syn.

A utilização do pesticida Rotenona está correlacionada a manifestações anormais da proteína a-syn, pois o estudo de Arnhold et al (2016) demonstra que a Rotenona induz a redistribuição de a-syn intracelular bem como desregula sua expressão. Ademais, Klingelhofer e Reichmann (2015) afirma que a administração local da Rotenona induz a liberação dessa proteína por neurônios entéricos para o espaço extracelular.

Já no estudo de Martinez et al (2017), foi demonstrado que estresse mitocondrial causado pela Rotenona resultou em ativação do inflamassoma Nlrp3, em associação com substâncias reativas de oxigênio (ROS) elevadas em células sanguíneas. Ademais foi verificado que, em camundongos, a participação do Nlrp3 era necessária para o desenvolvimento da DP, visto que a inflamação é um dos fatores necessários para a manifestação anormal da a-syn.

No mais, o estudo em modelo animal Bu et al (2019) relatou aumento significativo do nível de a-syn fosforilada no cólon proximal mediante a realização de um tratamento com a Rotenona. De modo corroborativo, Drolet et al (2009) afirmou em seu estudo que a administração crônica de Rotenona reproduz a principal característica gastrointestinal da DP: a presença de agregados proteicos de a-syn resistentes a ação da proteinase K.

Como a-syn do TGI chega ao SNC

Na maioria dos trabalhos que avaliaram o efeito da Rotenona em modelo animal e que foram selecionados para essa revisão, a administração dessa substância foi realizada por gavagem, de modo que a ação inicial ocorreu no TGI. Contudo, foram relatadas interações bidirecionais entre o SNE e o SNC por meio de um eixo cérebro-intestino (Klingelhoefer e Reichmann, 2017). De modo que a a-syn pode ser captada e transportada retrogradamente, acumulando-se dentro de outras células (Pan-Montojo et al., 2012). A transmissão da proteína, rostrorcranialmente, ocorreu pelas vias sinápticas através do sistema simpático e parassimpático, causando alterações neuropáticas típicas da DP (Klingelhoefer e Reichmann, 2017).

O estudo que melhor demonstrou a ação do eixo cérebro-intestino foi o de Pan-Montojo et al (2012), pois nesse modelo de avaliação, os animais que receberam a Rotenona por gavagem foram submetidos a uma hemivagotomia e posteriormente tiveram seu nível e destruição da a-syn mensurados. Os resultados dessas análises demonstraram que a hemivagotomia impediu o acúmulo da proteína no núcleo dorsal do nervo vago ipsolateral (NDNV), enquanto no NDNV contralateral ocorreu maior acúmulo. Além disso, foi verificado também que o procedimento cirúrgico citado atrasou – quando comparado aos animais controles – o desenvolvimento de sintomas motores, o que não ocorreu com os sintomas gastrointestinais. Tais achados corroboram com a teoria de que a DP pode ter seus estágios iniciais no TGI.

Segundo Klingelhofer e Reichmann (2017), existe um padrão cronológico e regional específico nas alterações neuropatológicas da DP. O que está em concordância com o sistema de estadiamento de Braak para a DP, pois, de acordo com ele, o processo neurodegenerativo se inicia no bulbo olfatório (BO), em seguida no SNE, prosseguindo para os gânglios e nervos simpáticos e parassimpáticos até chegar ao SNC. A participação inicial do BO e SNE – portas de entrada para o meio ambiente - dá-se pela inalação e deglutição de patógenos neurotrópicos, como é o caso da Rotenona (Klingelhofer e Reichmann, 2015; Klingelhofer e Reichmann, 2017).

No entanto, no trabalho de Pan-Montojo e Funk (2010), após a administração de Rotenona em seus animais, também por via gavagem, eles relataram que o complexo mitocondrial I não foi inibido no músculo ou no cérebro. O que, por sua vez, dá margem a duas possíveis interpretações: 1- não houve tempo o suficiente para verificação da progressão dos sintomas para essas regiões (1,5 meses); ou 2- de fato o efeito da Rotenona ficou restrito ao SNE, contrariando a teoria da conexão cérebro-intestino. Devido aos vários trabalhos mais recentes que já demonstraram com bases sólidas a atuação efetiva dessa conexão, é mais provável que a interpretação 1 seja a verdadeira.

Relação entre a microbiota intestinal e a DP.

Com relação à participação da rica microbiota intestinal na fisiopatologia da DP, embora Klingelhofer e Reichmann (2015) alegue que ainda não está claro se as alterações na microbiota intestinal são fatores de risco ou consequência da DP, Perez-Pardo et al (2018) afirma que produtos bacterianos derivados do intestino podem impactar o cérebro por meio de mecanismos sistêmicos. Além disso, um estudo (Perez-Pardo et al., 2017) mostrou que o transplante de fezes de pacientes com DP para camundongos transgênicos livres de germes desencadeou a DP nesses animais. No mais, Klingelhofer e Reichmann (2017) mostram que em um modelo animal utilizando camundongos que superexpressavam a-syn, foi necessária a presença da microbiota intestinal para o desenvolvimento de défices motores, para a ativação da micróglia e da formação de a-syn agregada.

Rotenona, DP e clínica médica.

Em um estudo clínico (Tanner et al., 2011) que avaliou casos de desenvolvimento da DP em trabalhadores expostos ao pesticida Rotenona, a DP se desenvolveu 2,5 vezes mais

naqueles que relataram uso do pesticida em comparação com os não usuários. Dentre os casos confirmados de DP, haviam trabalhadores cuja exposição a Rotenona havia ocorrido durante 15 anos ou mais.

No que diz respeito aos sintomas clínicos dos pacientes com DP, Klingelhofer e Reichmann (2015) afirma que a constipação ocorre independentemente da idade, realização de atividade física ou do medicamento utilizado pelos pacientes. Os problemas gastrointestinais muitas vezes interferem até mesmo no tratamento dos sintomas motores, pois os pacientes têm problemas de má absorção dos medicamentos, causada pelo retardo do esvaziamento gástrico e tempo de transporte prolongado, podendo resultar em perda do efeito do medicamento ou acúmulo de doses, ocasionando flutuações no comportamento motor (Klingelhofer e Reichmann, 2017).

5. Considerações Finais

Apesar dos inúmeros trabalhos demonstrarem a existências de sintomas não motores em associação a doença de Parkinson, sendo vários deles associados a problemas gastrointestinais que comprometem significativamente a qualidade de vida dos pacientes, o diagnóstico de DP só pode ser confirmado mediante o surgimento de sintomas clássicos que incluem: bradicinesia, tremores e instabilidade postural. No entanto, tais sintomas só ocorrem mediante o comprometimento de cerca de 80% dos neurônios dopaminérgicos da substância negra, ou seja, o tratamento destinado especificamente para a DP só é iniciado quando os pacientes demonstram perdas de circuitos neurais em estágios bem avançadas.

Com base nisso, é necessária a realização de mais estudos que tenham por finalidade o desenvolvimento de estratégias diagnósticas e terapêuticas que visem identificar os primeiros sinais, não clássicos, da DP e atuar de modo a evitar ou postergar a progressão da doença. Além disso, com uma melhor compreensão da fisiopatologia da DP, com relação ao eixo cérebro-intestino, será possível desenvolver técnicas de dosagem da a-syn alterada no intestino de pacientes com suspeitas de DP, para que assim seja viável o desenvolvimento de tratamentos que atuem diretamente sobre os a ação patogênica da a-syn, quando a dosagem dessa proteína estiver alterada.

Referências

- Arnhold, M., Dening, Y., Chopin, M., Arévalo, E., Schwarz, M., & Reichmann, H. et al. (2016). Changes in the sympathetic innervation of the gut in rotenone treated mice as possible early biomarker for Parkinson's disease. *Clinical Autonomic Research*, 26(3), 211-222. <https://doi.org/10.1007/s10286-016-0358-6>
- Baizabal-Carvalho, J., & Alonso-Juarez, M. (2020). The Link between Gut Dysbiosis and Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neuroscience*, 432, 160-173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.02.030>
- Bu, J., Qiao, X., He, Y., & Liu, J. (2019). Colonic electrical stimulation improves colonic transit in rotenone-induced Parkinson's disease model through affecting enteric neurons. *Life Sciences*, 231, 116581. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116581>
- Dantas, É., & Ramalho, D. (2020). O uso de diferentes metodologias no ensino de microbiologia: Uma revisão sistemática de literatura. *Research, Society And Development*, 9(8), e665986396. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6396>
- Drolet, R., Cannon, J., Montero, L., & Greenamyre, J. (2009). Chronic rotenone exposure reproduces Parkinson's disease gastrointestinal neuropathology. *Neurobiology Of Disease*, 36(1), 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.06.017>
- Johnson, M., Stringer, A., & Bobrovskaya, L. (2018). Rotenone induces gastrointestinal pathology and microbiota alterations in a rat model of Parkinson's disease. *Neurotoxicology*, 65, 174-185. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.02.013>
- Kim, S., Kwon, S., Kam, T., Panicker, N., Karuppagounder, S., & Lee, S. et al. (2019). Transneuronal Propagation of Pathologic α -Synuclein from the Gut to the Brain Models Parkinson's disease. *Neuron*, 103(4), 627-641.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.035>

Klingelhoefer, L., & Reichmann, H. (2015). Pathogenesis of Parkinson disease—the gut–brain axis and environmental factors. *Nature Reviews Neurology*, 11(11), 625-636. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.197>

Klingelhoefer, L., & Reichmann, H. (2017). The Gut and Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease. *International Review Of Neurobiology*, 787-809. <https://doi.org/10.1016/b.s.irn.2017.05.027>

Koutzoumis, D., Vergara, M., Pino, J., Buddendorff, J., Khoshbouei, H., Mandel, R., & Torres, G. (2020). Alterations of the gut microbiota with antibiotics protects dopamine neuron loss and improve motor deficits in a pharmacological rodent model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 325, 113159. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.113159>

Martinez, E., Young, A., Patankar, Y., Berwin, B., Wang, L., & von Herrmann, K. et al. (2017). Editor's Highlight: Nlrp3 Is Required for Inflammatory Changes and Nigral Cell Loss Resulting From Chronic Intra-gastric Rotenone Exposure in Mice. *Toxicological Sciences*, 159(1), 64-75. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx117>

Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., & Petticrew, M. et al. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>

Pan-Montojo, F., & Funk, R. (2010). Oral Administration of Rotenone using a Gavage and Image Analysis of Alpha-synuclein Inclusions in the Enteric Nervous System. *Journal Of Visualized Experiments*, (44). <https://doi.org/10.3791/2123>

Pan-Montojo, F., Anichtchik, O., Dening, Y., Knels, L., Pursche, S., & Jung, R. et al. (2010). Progression of Parkinson's Disease Pathology Is Reproduced by Intra-gastric Administration of Rotenone in Mice. *Plos ONE*, 5(1), e8762. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008762>

Pan-Montojo, F., Schwarz, M., Winkler, C., Arnhold, M., O'Sullivan, G., Pal, A., et al. (2012). Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein

release from enteric neurons in mice. *Scientific Reports*, 2(1).
<https://doi.org/10.1038/srep00898>

Perez-Pardo, P., Dodiya, H., Broersen, L., Douna, H., van Wijk, N., & Lopes da Silva, S. et al. (2017). Gut–brain and brain–gut axis in Parkinson's disease models: Effects of a uridine and fish oil diet. *Nutritional Neuroscience*, 21(6), 391-402. <https://doi.org/10.1080/1028415x.2017.1294555>

Perez-Pardo, P., Dodiya, H., Engen, P., Naqib, A., Forsyth, C., & Green, S., et al. (2018). Gut bacterial composition in a mouse model of Parkinson's disease. *Beneficial Microbes*, 9(5), 799-814. <https://doi.org/10.3920/bm2017.0202>

Sharma, S., Awasthi, A., & Singh, S. (2019). Altered gut microbiota and intestinal permeability in Parkinson's disease: Pathological highlight to management. *Neuroscience Letters*, 712, 134516. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134516>

Spielman, L., Gibson, D., & Klegeris, A. (2018). Unhealthy gut, unhealthy brain: The role of the intestinal microbiota in neurodegenerative diseases. *Neurochemistry International*, 120, 149-163. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.08.005>

Tanner, C., Kamel, F., Ross, G., Hoppin, J., Goldman, S., & Korell, M., et al. (2011). Rotenone, Paraquat, and Parkinson's disease. *Environmental Health Perspectives*, 119(6), 866-872. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002839>

Tasselli, M., Chaumette, T., Paillusson, S., Monnet, Y., Lafoux, A., & Huchet-Cadiou, C. et al. (2013). Effects of oral administration of rotenone on gastrointestinal functions in mice. *Neurogastroenterology & Motility*, 25(3), e183-e193. <https://doi.org/10.1111/nmo.12070>

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Jennifer Kelly Silva de Oliveira – 16,66%

Jociele Moreira de Carvalho – 16,66%

Camila Alexandre Silva – 16,66%

Mateus Barbosa de Lima – 16,66%

Paulo Matheus Freitas Cavalcante – 16,66%

Daniel Felipe Fernandes Paiva – 16,66%