

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**DIFERENTES ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA DANOS
MOTORES E COGNITIVOS NA DOENÇA DE PARKINSON EM
MODELO PRÉ-CLÍNICO**

TAMARA ANDREA ALARCÓN FERREIRA

Tese de Doutorado em Ciências Fisiológicas

Vitória, 2021

**DIFERENTES ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA DANOS
MOTORES E COGNITIVOS NA DOENÇA DE PARKINSON EM
MODELO PRÉ-CLÍNICO**

TAMARA ANDREA ALARCÓN FERREIRA

Tese de Doutorado
apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas do Centro de
Ciências da Saúde da
Universidade Federal do
Espírito Santo, como parte dos
requisitos para obtenção do
título de Doutora em Ciências
Fisiológicas.

Profa. Dra. Rita Gomes Wanderley Pires

Orientadora

Profa. Dra. Suely Gomes de Figueredo

Coorientadora

Vitória, 2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Centro de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

**REGISTRO DE JULGAMENTO DA TESE DA CANDIDATA AO GRAU DE
DOUTORA PELO PPGCF CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS.**

A Comissão Examinadora da Tese de Doutorado intitulada “**DIFERENTES ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA DANOS MOTORES E COGNITIVOS EM MODELO PRÉ CLÍNICO DA**

DOENÇA DE PARKINSON” elaborada por **TAMARA ANDREA ALARCON FERREIRA**, candidata ao Grau de Doutora em Ciências Fisiológicas, recomendou, após apresentação da Tese, realizada no dia 01 de março de 2021, que a mesma seja (assinale um dos itens abaixo):

Aprovada

Reprovada

Vitória, 01 de março de 2021.

Prof^ª. Dr^ª. Rita Gomes Wanderley Pires
(PPGCF-UFES) – Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Fabiola Mara Ribeiro
(PPGBiq/UFMG) – Titular externo

Prof^ª. Dr^ª. Vanessa Beijamini Harres
(PPGCFAR/UFES) – Titular externo

Prof. Dr. Fernando Zanela da Silva Arêas
(PPGCF-UFES) – Titular interno

Prof^ª. Dr^ª. Lívia Carla de Melo Rodrigues
(PPGCF-UFES) - Titular interno



Campus Universitário de Maruípe – Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe, Vitória – ES, 29043-900Tel.
(27)3335-7340 | cienciasfisiologicas.ufes.br |



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo



Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018,
por RITA GOMES WANDERLEY PIRES - SIAPE 1721379
Departamento de Ciências Fisiológicas -
DCFI/CCSEm 02/03/2021 às 14:50

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse
o link: [https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-
assinados/148350?tipoArquivo=O](https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/148350?tipoArquivo=O)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo



Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018,
por VANESSA BEIJAMINI HARRES - SIAPE 1489959
Departamento de Ciências Farmacêuticas -
DCFA/CCSEm 02/03/2021 às 15:01

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse
o link: [https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-
assinados/148372?tipoArquivo=O](https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/148372?tipoArquivo=O)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo



FERNANDO ZANELA DA SILVA AREAS - SIAPE 1809816
Departamento de Educação Integrada em Saúde -
DEIS/CCSEm 19/03/2021 às 01:17

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse
o link:[https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-
assinados/160987?tipoArquivo=O](https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/160987?tipoArquivo=O)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo



LIVIA CARLA DE MELO RODRIGUES - SIAPE 1773258
Departamento de Ciências Fisiológicas -
DCFI/CCSEm 19/03/2021 às 13:14

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original
acesse o link:[https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-
assinados/161310?tipoArquivo=O](https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/161310?tipoArquivo=O)

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

A321d ALARCON FERREIRA, TAMARA ANDREA, 1985-
Diferentes estratégias terapêuticas para danos motores e
cognitivos na Doença de Parkinson em modelo pré-clínico /
TAMARA ANDREA ALARCON FERREIRA. - 2021.
142 f. : il.

Orientadora: Rita Gomes Wanderley Pires.

Coorientadora: Suely Gomes de Figueredo.

Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Parkinson, Doença de. I. Gomes Wanderley Pires, Rita. II.
Gomes de Figueredo, Suely. III. Universidade Federal do
Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 612

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me guiado até aqui e ter me dado paciência e perseverança ao longo do caminho.

À minha família que mesmo sem compreender me apoiaram incondicionalmente a todo instante. Agradeço a eles o exemplo de dedicação e superação. Não tenho palavras suficientes pra expressar o meu agradecimento e meu amor por vocês.

À Professora Rita por ter aberto as portas do laboratório há quase 11 anos, e ter confiado no meu trabalho sempre, pela sua disponibilidade e amizade. À professora Cristina pelos seus ensinamentos. Quero agradecer a vocês pelo incentivo e por acreditar em mim, mesmo quando eu não acredito. Muito obrigado por terem me mostrado que é possível.

À Suely pela coorientação e paciência, seu trabalho é inspirador muito obrigado pela sua dedicação.

Aos colegas do laboratório LNMC que estiveram comigo ao longo desta jornada, quero agradecer pela amizade e colaboração, tornaram o caminho mais leve.

To Dr Cregan, for the opportunity to develop part of this project in his laboratory, for his patience, availability and education. This was an invaluable experience.

To my colleagues from the Dr Cregan lab: thank you for help and friendship.

Ao Laboratório Multiusuário de Análises Biomoleculares pela estrutura e suporte prestado.

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e doutorado sanduiche.

Ao CNPQ, FAPES e CAPES pelo apoio financeiro.

"A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original".

Albert Einstein

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	
1.1 A DOENÇA DE PARKINSON	22
1.2 ETIOLOGIA.....	23
1.3 FISIOPATOLOGIA	24
1.4 NEUROTRANSMISSÃO DOS NÚCLEOS DA BASE.....	26
1.5 MODELOS ANIMAIS DA DP.....	29
1.6 SINTOMAS NÃO MOTORES DA DP	32
1.7 DECLÍNIO COGNITIVO NA DP	33
1.8 SISTEMA COLINÉRGICO NA DOENÇA DE PARKINSON	33
1.9 TRATAMENTO FARMACOLOGICO DA DP.....	35
1.9.1 Tratamento da DP com moduladores alostéricos negativos (NAMs) dos receptores mGluRs.....	39
1.9.2 Tratamento da DP com a ferramenta não farmacológica do ambiente enriquecido	41
2. JUSTIFICATIVA	44
CAPÍTULO 1:	47
3. OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo geral:	47
3.2 Objetivos específicos	47
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
4.1. Animais e droga	48
4.1.1 Animais:.....	48
4.1.2 Grupos experimentais:.....	48
4.1.3 Modelo da DP	48
4.1.4 Ambiente Enriquecido.....	49
4.2 Delineamento experimental	49
4.3 Testes cognitivos	50
4.3.1 Labirinto em Y.....	50
4.3.2 Labirinto aquático de Morris (MWM)	51
4.3.3 Reconhecimento de objeto	53
4.4 Testes bioquímicos	54
4.4.1 Obtenção das amostras para análise bioquímicas	54
4.4.2 Western blot.....	54
4.4.3. PCR quantitativo em tempo real (qPCR)	55

4.4.4 Atividade da Acetilcolinesterase (AChE).....	56
4.5 Análise Estatística.....	57
5. RESULTADOS	57
5.1 Parâmetros Cognitivos.....	57
5.1.1 Memória operacional no labirinto em Y.....	57
5.1.2 Memória de referência no MWM.....	59
5.1.3 Memória operacional no MWM	62
5.1.4 Memória de Reconhecimento de Objeto.....	64
5.2 Parâmetros Bioquímicos	67
5.2.1 Expressão proteica da Tirosina Hidroxilase na SNc	67
5.2.2 Expressão gênica do sistema colinérgico	68
5.2.3 Determinação da atividade enzimática da acetilcolinesterase	70
6. DISCUSSÃO	71
7. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 1	82
CAPÍTULO 2:	83
8. OBJETIVOS	83
8.1 Objetivo geral:.....	83
8.2 Objetivos específicos	83
9. MATERIAIS E MÉTODOS.....	84
9.1 Animais e droga	84
9.1.1 Animais:.....	84
9.1.2 Grupos experimentais:.....	84
9.1.3 Modelo da DP	84
9.1.4 Tratamento com CTEP	85
9.2 Delineamento experimental	85
9.3 Testes Motores	86
9.3.1 Campo aberto	86
9.3.2 <i>Rotarod</i>	87
9.3.3 Teste de Força de agarre (<i>Grip test</i>).....	87
9.4 Testes Cognitivos.....	88
9.4.1 Labirinto em Y.....	88
9.4.2 Labirinto aquático de Morris (MWM)	89
9.5 Testes Bioquímicos.....	89
9.5.1 Imunohistoquímica.....	89
9.5.1.1 Anestesia, perfusão e criocortes.....	89

9.5.1.2 Marcação para Tirosina Hidroxilase (TH)	90
9.6 Cultura primária de neurônios corticais	91
9.6.1 Preparação das placas de cultura.....	91
9.6.2 Preparação do cultivo primário de neurônios corticais.....	91
9.6.3 Delineamento experimental e tratamento	91
9.6.4 Avaliação do apoptose neuronal.....	92
9.7 Análise Estatística.....	93
10 RESULTADOS	93
10.1 Parâmetros Motores.....	93
10.1.1 Atividade locomotora no Campo aberto.....	93
10.1.2 Coordenação e equilíbrio no <i>Rotarod</i>	94
10.1.3 Força de agarre (<i>Grip test</i>)	95
10.2 Parâmetros Cognitivos.....	96
10.2.1 Memória operacional no labirinto em Y.....	96
10.2.2 Memória de referência no labirinto aquático de Morris	97
10.3 Parâmetros Bioquímicos	98
10.3.1 Imunohistoquímica da enzima tirosina hidroxilase.....	98
10.4 Cultura de células	100
10.4.1 Avaliação da apoptose neuronal.....	100
11. DISCUSSÃO	102
12. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 2	102
13. CONCLUSÃO GERAL	108
14. REFERÊNCIAS.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Sequência de primers do sistema colinérgico e S12.	566
--	-----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Corpos de Lewy..	25
Figura 2: Neuropatologia da doença de Parkinson (DP)..	25
Figura 3: Núcleos da Base.	27
Figura 4: Alterações da DP na atividade normal do circuito motor tálamo-cortical dos núcleos da base.	28
Figura 5: Neurotransmissão glutamatérgica nos núcleos da base..	29
Figura 6: Mecanismo de ação do MPTP ..	31
Figura 7: Neurotransmissão colinérgica: ..	35
Figura 8: Neurotransmissão dopaminérgica.....	36
Figura 9: Estratégias Farmacológicas para a terapia dopaminérgica da Doença de Parkinson (DP)..	38
Figura 10: Representação esquemática do ambiente enriquecido.....	44
Figura 11: Representação esquemática do Ambiente Enriquecido utilizado neste trabalho.	49
Figura 12: Representação esquemática do delineamento experimental capítulo 1. .	50
Figura 13: Labirinto em Y ..	50
Figura 14: Labirinto aquático de Morris ..	51
Figura 15: Representação das posições da plataforma ao longo das sessões do teste de memória operacional no MWM.....	53
Figura 16: Reconhecimento de objeto.....	54
Figura 17: Método de dosagem da atividade da Acetilcolinesterase.....	57
Figura 18: Desempenho da Memória operacional no labirinto em Y.....	58
Figura 19: Desempenho dos animais durante a aprendizagem.	60
Figura 20: Distância cumulativa percorrida..	61
Figura 21: Velocidade média ao longo das sessões.	61
Figura 22: Desempenho dos animais no Teste comprobatório.	62
Figura 23: Índice de extinção.	62
Figura 24: Desempenho dos animais durante o teste de memória operacional.....	63
Figura 25: Número de sessões para atingir o critério de aprendizagem.	64
Figura 26: Habituação da memória de reconhecimento de objeto.	65
Figura 27: Treino da memória de reconhecimento de objeto ..	66
Figura 28: Teste da memória de reconhecimento de objeto ..	67

Figura 29: Expressão proteica da Tirosina hidroxilase na parte compacta da substância negra.....	68
Figura 30: Expressão relativa de mRNA do sistema colinérgico no hipocampo.....	69
Figura 31: Expressão relativa de mRNA do sistema colinérgico no córtex pré-frontal.....	70
Figura 32: Atividade enzimática da acetilcolinesterase no hipocampo e córtex pré-frontal	71
Figura 33: Representação esquemática do delineamento experimental do capítulo 2	86
Figura 34: Campo aberto.....	86
Figura 35: <i>Rotarod</i>	87
Figura 36: Medidor de força de agarre (<i>grip test</i>)	88
Figura 37: Delineamento experimental em cultura primária de neurônios corticais. .	92
Figura 38: Desempenho dos animais no Campo aberto	94
Figura 39: Desempenho dos animais no <i>Rotarod</i>	95
Figura 40: Desempenho dos animais no Teste de agarre.....	96
Figura 41: Desempenho dos animais na memória operacional no labirinto em Y.....	97
Figura 42: Desempenho dos animais na memória de referência no labirinto aquático de Morris	98
Figura 43: Análise por imunohistoquímica da enzima Tirosina Hidroxilase na substância negra parte compacta (SNc)	99
Figura 44: Avaliação da apoptose neuronal causada pela toxina MPP+ em cultura primária de neurônios corticais 24 horas após o tratamento	100
Figura 45: Avaliação da apoptose neuronal causada pelo CTEP em cultura primária de neurônios corticais 24 horas após o tratamento com CTEP.....	101
Figura 46: Avaliação do tratamento com CTEP sobre a apoptose neuronal provocada pelo MPP+ na dose de 50 µM em cultura primária de neurônios corticais 24 horas após o tratamento com CTEP.	101

LISTA DE ABREVIATURAS

6-OHDA - 6-hidroxi-dopamina
AADC - L-aminoácido aromático descarboxilase
ACh - Acetilcolina
AChE - Enzima acetilcolinesterase
AE - Ambiente enriquecido
AMPA - Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazazol-propiónico
BHE - Barreira hematoencefálica
BuChE - Enzima butirilcolinesterase
ChAT - Enzima colina acetiltransferase
CM - Núcleos central medial do Tálamo
CMP - Córtex motor primário
COMT - Catecol-O-metiltransferase
CTEP - 2-cloro-4-((2,5-dimetil-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1H-imidazol-4-yl)etnil)piridina
D1R - Receptor de dopamina D1
D2R - Receptor de dopamina D2
DA - Dopamina
DAT - Transportador de dopamina
DOPAC - Ácido 3,4-diidroxifenilacético
DP - Doença de Parkinson
DTNB - Ácido ditio bisnitrobenzóico
GABA - Ácido gama-aminobutírico
GP - Globo pálido
GPe - Globo pálido segmento externo
GPi - Globo pálido segmento interno
HVA - Ácido homovanílico
iCOMT - Inibidor da catecol-O-metiltransferase
iDDC - Inibidor DOPA descarboxilase
iGluRs - Receptor de glutamato ionotrópico
KA - Receptor kainato
L-DOPA - L-3,4-di-hidroxifenilalanina
LID - Discinesia causada pela L-DOPA

MAO - Monoamino oxidase
MAO-B - Monoamina oxidase B
mGluRs - Receptor de glutamato metabotrópico
MPDP+ - 1-metil-4-fenil-2,3-di-hidropiridínio
MPEP - 2-metil-6- (feniletênio) -piridina
MPP+ - 1-metil-4-fenilpiridínio
MPTP - 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
MTEP - 3- (2-metil-1,3-tiazol-4-il (etnil) piridina
MWM - Labirinto aquático de Morris
NA - Noradrenalina
NAMs - Moduladores alostéricos negativos
nbM - Núcleo basal de Meynert
NMDA - Receptores N-metil-D-aspartato
PAM - Modulador alostérico positivo
PDD - Demência na doença de Parkinson
pf - Núcleo parafascicular do Tálamo
PPN - Núcleo pedunculopontino
PROBE - Teste comprobatório
qPCR - PCR quantitativo
RO - Teste de reconhecimento de objeto
SMA - Área motora suplementar
SN - Substância negra
SNC - Sistema Nervoso Central
SNc – Parte compacta da substância negra
SNM - Sintomas não motores
SNr – Parte reticulata da substância negra
STN - Núcleo subtalâmico
TH - Tiroxina hidroxilase
VA - Nucleos ventral anterior do Tálamo
VL - Nucleos ventro lateral do Tálamo
VMAT - Transportador vesicular de monoaminas
VTA - Área tegmental ventral

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente, caracterizada pelas disfunções motoras e por sintomas não motores (SNM) como os déficits cognitivos. Os tratamentos disponíveis não previnem a progressão nem tratam os danos cognitivos da doença. Assim, o presente trabalho, foi dividido em dois capítulos com o objetivo de estudar uma ferramenta farmacológica e outra não farmacológica em um modelo de DP. No primeiro capítulo, decidimos avaliar a exposição ao ambiente enriquecido (AE), instrumento não farmacológico, na prevenção das alterações cognitivas e se as mesmas estavam relacionadas com modificações na expressão gênica de componentes do sistema colinérgico em modelo animal da DP. O tratamento com a toxina parkinsoniana MPTP (25 mg/kg) induziu déficits na memória de referência no labirinto aquático de Morris (MWM), os quais foram revertidos pela exposição ao AE. Ainda, animais expostos ao AE, sem o tratamento com MPTP, apresentaram um melhor desempenho cognitivo comparados ao grupo controle. Além disso, observamos um aumento na expressão gênica do receptor alfa 7 no córtex pré-frontal, o qual pode estar relacionado com este melhor desempenho. Diante disto, sugere-se que a exposição ao AE previne os prejuízos cognitivos na memória de referência ocasionados por este modelo da DP e facilita os mesmos, porém, estudos complementares são necessários para corroborar e/ou elucidar outras alterações bioquímicas envolvidas neste processo. No capítulo 2, avaliamos o tratamento com CTEP, um modulador alostérico negativo do receptor mGluR5, nas alterações motoras, cognitivas e bioquímicas em modelo animal da DP, e se o CTEP poderia diminuir a apoptose provocada pela toxina MPP⁺ em cultura primária de neurônios corticais. O tratamento com a toxina parkinsoniana MPTP (30 mg/kg) induziu uma hiperatividade motora no campo aberto, *rotarod* e teste de força de agarre. Além disso, observamos um prejuízo cognitivo na memória operacional no labirinto em Y. Estas alterações, não foram revertidas pelo tratamento com CTEP. Nossos dados sugerem que o tratamento com CTEP atenuou a morte dos neurônios dopaminérgicos na parte compacta da substância negra em modelo animal e reduziu a apoptose em cultura primária de neurônios corticais, mostrando o possível efeito neuroprotetor deste modulador na DP, embora, estudos adicionais sejam necessários para melhor elucidar o potencial efeito terapêutico do CTEP no tratamento da DP.

Palavras chaves: Doença de Parkinson, Ambiente enriquecido, Modulador alostérico negativo, Sistema colinérgico.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most prevalent neurodegenerative disease worldwide and is characterized by motor dysfunction, although, patients can also present non-motor symptoms (NMS) such as cognitive deficits. The available treatments for PD do not prevent the progression neither has effects on cognitive impairments. This work was divided into two chapters to evaluate a pharmacological and non-pharmacological strategy over PD treatment. In the first chapter, we evaluated whether exposure to environmental enrichment (EE), a non-pharmacological instrument, could prevent the cognitive impairment and whether this damage could be related to the cholinergic system gene expression changes in PD animal model. MPTP-treatment (25 mg/kg) caused reference memory impairment in Morris Water Maze (MWM), EE exposition was able to prevent these damages, and, also, EE exposition promoted an improvement in cognition compared to control group. We also observed that gene expression of alpha 7 receptor was increased in prefrontal cortex, suggesting a possible role of this receptor in the observed effects. Thus, we can suggest that EE prevents memory deficit exhibited by PD mice model, and facilitate this process per se, however, further studies are necessary to confirm and better understand the biochemical changes involved in this process. In the second chapter, we evaluated whether the mGluR5-negative allosteric modulator (CTEP), would be effective in improving motor and cognitive deficits and reduce dopaminergic damage in a mouse model of PD and whether CTEP could decrease MPP+ induced apoptosis in Primary Cortical Neuron Cultures. MPTP-treatment (30 mg/kg) caused motor hyperactivity in open field, rotarod and grip test, also, induced an operational memory impairment in Y-maze. CTEP- treatment did not revert these behavior modifications. Our data suggests that CTEP- treatment decrease dopaminergic neuronal death in substantia nigra pars compacta in a mouse model and attenuated neuronal death in Primary Cortical Neuron Culture. Although we did not find any motor or cognitive benefit with CTEP-treatment in this Parkinson animal model, we suggested neuroprotective effect over dopaminergic neurons and Primary Cortical Neuron

Culture. Therefore, more studies are required to understand CTEP-treatment potential in PD.

Key words: Parkinson disease, Environmental enrichment, negative allosteric modulator, Cholinergic system.

1 INTRODUÇÃO

1.1 A DOENÇA DE PARKINSON

A Doença de Parkinson (DP) foi descrita por James Parkinson, que em 1817 descreveu-a como uma “Paralisia agitante”. Neste trabalho, ele apresentou os sinais e sintomas, diagnóstico diferencial, etiologia e o tratamento de 6 indivíduos. James Parkinson relatou a DP como uma doença de início insidioso, curso progressivo e incapacitante, também caracterizada pelo tremor em repouso e postura flexionada (PARKINSON, 2002).

Meio século depois, Jean-Martin Charcot, um neurologista francês, além de confirmar o tremor e a ‘paralisia’ descreveu - em vários pacientes - detalhes extensivos às observações de James Parkinson, e identificou a bradicinesia e a rigidez muscular como características-chave da doença. Estas observações possibilitaram diferenciar este distúrbio de outras disfunções motoras, como a esclerose múltipla. Em consideração a James Parkinson, sugeriu que a designação nosológica da doença deveria ser Doença de Parkinson (Apud DEL REY et al., 2018).

A definição atual descreve a DP como uma doença neurodegenerativa progressiva caracterizada pelo tremor em repouso, rigidez muscular, instabilidade postural, desequilíbrio, acinesia e/ou hipocinesia (CICCHETTI; DROUIN-OUELLET; GROSS, 2009; RADAD et al., 2015), cujas alterações são consideradas incapacitantes e a progressão da doença é irreversível (GERSHANIK, 2010).

Esta doença possui uma taxa de prevalência de 1-2/1000 para a população total, embora, este valor aumente para 1% nas pessoas acima de 60 anos (ABBAS; XU; TAN, 2018; KASTEN; CHADE; TANNER, 2007; TANNER; GOLDMAN, 1996). Entretanto, uma variação mundial de 5 a 35 novos casos para cada 100.000 habitantes são descritas em diversos estudos (LAU; BRETELER, 2006; LIX et al., 2010; PARK et al., 2019; TWELVES; PERKINS; COUNSELL, 2003; VON CAMPENHAUSEN et al., 2005). Esta grande variação na incidência da doença, é devida as metodologias epidemiológicas de análise empregadas – como as características demográficas, técnicas de investigação e critérios de diagnóstico. Entretanto, autores concordam que a prevalência da DP vem crescendo dramaticamente à medida que a expectativa de vida aumenta (DORSEY et al., 2018;

YANG et al., 2020). Diversos trabalhos mostram que a prevalência da DP eleva significativamente com o envelhecimento, e é incomum antes dos 50 anos (HIRSCH et al., 2016; PRINGSHEIM et al., 2014; SAVICA et al., 2013), apontando a idade como um fator importante na DP.

1.2 ETIOLOGIA

Embora a DP possa ser causada por uma única mutação gênica, na maioria dos casos a origem é multifatorial, não existindo uma definição clara da origem da mesma, uma vez que a etiologia de quase todos os pacientes permanece desconhecida, sendo o resultado de uma interação complexa entre fatores ambientais, suscetibilidade genética e envelhecimento (FERNAGUT, 2016).

Em mais de 90% dos casos, a DP surge como uma condição esporádica, a qual resulta da junção entre fatores genéticos e ambientais, porém, nos casos restantes, é inquestionavelmente herdada, também chamada de familiar ou monogênica. (LESAGE; BRICE, 2009). Somente em 1997 foi identificada a primeira modificação herdada capaz de provocar a DP, uma mutação no gene SNCA o qual codifica a proteína α -sinucleína, (POLYMEROPOULOS et al., 1997), outras mutações deste gene foram relacionadas à DP monogênica (IBÁÑEZ, 2009). Posteriormente, outros genes foram associados com a DP familiar, entre eles: LRRK2,MAPT,PARK16, VPS35, PRKN, PINK1, GBA e DJ-1 (para revisão ver BANDRES-CIGA et al., 2020; TRINH; FARRER, 2013).

Os fatores ambientais relacionados com a DP esporádica são aqueles capazes de provocar uma morte dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo, os quais estão relacionados à doença (BERNHEIMER et al., 1973). Apesar de não haver consenso na literatura, a maioria dos autores têm mostrado uma associação positiva da exposição a pesticidas e herbicidas do desenvolvimento da DP, os quais são capazes de afetar o sistema dopaminérgico. Assim, viver em zonas rurais aumenta o risco de desenvolver DP em comparação a zonas urbanas, (PEZZOLI; CEREDA, 2013; VAN DER MARK et al., 2012). Considerando o exposto acima, diversos modelos experimentais da DP tem sido propostos utilizando estas substâncias (BASSANI et al., 2014; BETARBET et al., 2000; DESPLATS et al., 2012; RICHARDSON et al., 2006; SHIMIZU et al., 2001).

1.3 FISIOPATOLOGIA

A DP é caracterizada pela formação de agregados proteicos insolúveis conhecidos como Corpos de Lewy, os quais foram inicialmente identificados no núcleo dorsal do vago e núcleos talâmicos por Friedrich Heinrich Lewy (1912) em pacientes com paralisia agitante. Entretanto, esta descoberta só foi creditada a ele posteriormente por Gonzalo Rodriguez Lafora (1913) e Constantin Træétkoff (1919) (Apud ENGELHARDT; GOMES, 2017). Atualmente sabe-se que os corpos de Lewy são agregados citoplasmáticos eosinofílicos esféricos de natureza fibrilar constituídos por uma variedade de proteínas, incluindo α -sinucleína, parkina, ubiquitina e neurofilamentos (FORNO, 1996; SPILLANTINI et al., 1997; ZHANG et al., 2018a) (Figura 1).

A descoberta de que a Dopamina (DA) não era unicamente um precursor da Noradrenalina (NA) e adrenalina (BLASCHKO, 1957; CARLSSON et al., 1958) possibilitou a procura não somente pelo seu papel fisiológico (HORNYKIEWICZ, 1958) como sua participação em diversas fisiopatologias. Assim, em 1960, conhecendo a localização da DA nos núcleos da base, Hornykiewicz e Ehringer realizaram um estudo *post mortem* do cérebro de alguns pacientes com doenças nos núcleos da base, como Doença de Huntington e DP, e concluíram que os pacientes com DP apresentaram perda significativas da DA no caudado e putâmen, entretanto, esta diminuição dopaminérgica não parecia estar relacionada com a perda dos neurônios estriatais (EHRINGER; HORNYKIEWICZ, 1960, apud HORNYKIEWICZ, 2006). Posteriormente, Hornykiewicz concluiu que a diminuição de dopamina no estriado poderia ser provocada por uma perda dos neurônios da substância negra (SN) (HORNYKIEWICZ, 1963, apud HORNYKIEWICZ, 2006).

Apesar da morte dos neurônios dopaminérgicos e a formação dos corpos de Lewy não serem exclusivas para a DP, em conjunto, são essenciais para a confirmação do diagnóstico (para revisão ver DICKSON et al., 2009). Deste modo, o padrão da perda dos neurônios dopaminérgicos é distintivo para a DP, no que se refere à região ventrolateral da parte compacta da substância negra (SNc) onde a perda é mais severa. Entretanto, os neurônios dopaminérgicos da área adjacente ao tegumento ventral são menos afetados (Figura 2) (DAMIER et al., 1999). Vale ressaltar que as alterações degenerativas da DP não são restritas a esta via, e achados neuropatológicos mostram que outros grupos neuronais, dopaminérgicos e

não-dopaminérgicos, incluindo lócus ceruleus, núcleos da rafe e núcleo basal de Meynert podem também ser afetados (BRAAK et al., 2004; SURMEIER; OBESO; HALLIDAY, 2017). Deste modo, a DP é caracterizada fisiopatologicamente pela morte dos neurônios dopaminérgicos na SNc (BERNHEIMER et al., 1973; POEWE et al., 2017; SONG et al., 2020a) e pelo acúmulo de proteínas insolúveis formando os corpos de Lewy.

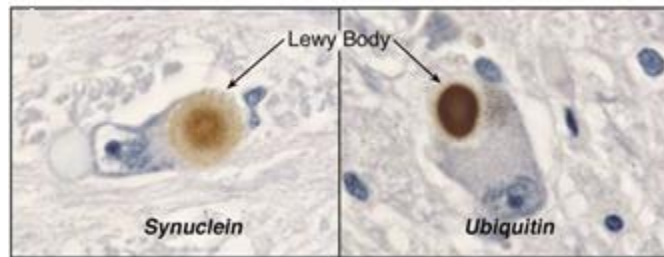


Figura 1: Corpos de Lewy. Marcação imuno-histoquímica de inclusões intraneurais em um neurônio dopaminérgico da SNc. À esquerda: imunocoloração utilizando anticorpo para α -sinucleína e à direita utilizando anticorpo para ubiquitina, mostrando respectivamente uma imunorreatividade mais difusa e uma zona central intensamente imunorreativa rodeado por uma zona periférica ligeiramente imunorreativa no corpo de Lewy SNc: parte compacta da substância negra.(Modificado DAUER; PRZEDBORSKI, 2003).

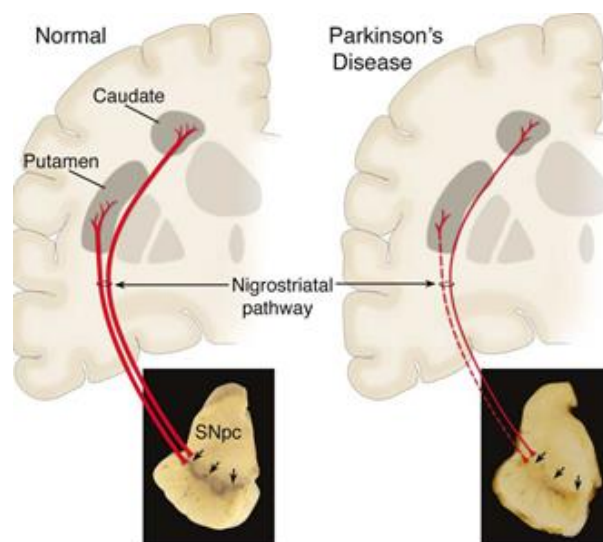


Figura 2:Neuropatologia da doença de Parkinson (DP). Representação esquemática da via nigroestriatal normal (à esquerda) composta por neurônios dopaminérgicos cujos corpos celulares estão localizados na parte compacta da substância negra (SNc), os quais se projetam para os núcleos basais e fazem sinapse no estriado (putâmen e caudado). À direita: Representação esquemática da via nigroestriatal na DP, a via nigroestriatal sofre uma degeneração acentuada dos neurônios dopaminérgicos que se projetam para o putâmen (linha vermelha tracejada) em relação aos que se projetam para o caudado (linha vermelha sólida)(DAUER; PRZEDBORSKI, 2003).

1.4 NEUROTRANSMISSÃO DOS NÚCLEOS DA BASE

Os núcleos da base são estruturas subcorticais que incluem núcleos do prosencéfalo, diencéfalo e mesencéfalo, os quais estão interconectados. Inicialmente estes núcleos foram vistos apenas como um componente do sistema motor, no entanto, há evidências mostrando a sua influência em todas as regiões do córtex frontal e do sistema límbico (JANKOVIC; TOLOSA, 2015), apresentando assim, um papel nas funções cognitivas e emocionais, além da sua atribuição no controle motor (BÁEZ-MENDOZA; SCHULTZ, 2013; POLETTI; DE ROSA; BONUCCELLI, 2012). A disfunção destes núcleos resulta em distúrbios neurológicos motores, incluindo a doença de Parkinson, doença de Huntington, distonia e síndrome de Tourette (ALEXI et al., 2000; CALIGIORE et al., 2017; KAJI; BHATIA; GRAYBIEL, 2018; MILOSEVIC et al., 2019).

Os núcleos da base incluem: o estriado dorsal (caudado, putâmen), o núcleo subtalâmico (STN), o globo pálido (GP) (segmento interno (GPi) e segmento externo (GPe) e a substância negra (parte compacta (SNc) e parte reticulada (SNr)) (MOORE, 1978) (figura 3). O estriado e o STN recebem a maior parte das vias aferentes dos núcleos da base, e transferem a informação para os núcleos de saída GPi e SNr. Além disso, as projeções entre o estriado e o GPe / SNr são divididas em duas vias separadas, uma conexão "direta" e uma "indireta", via SNr e GPe, respectivamente. A saída do GPi / SNr vai em grande parte para os núcleos ventral anterior (VA) e ventrolateral (VL) do tálamo, que, por sua vez, se projetam para o córtex cerebral. Projeções menores dos núcleos da base alcançam os núcleos central medial (CM) e parafascicular (pf) do tálamo, os quais são estruturas do tronco cerebral, assim como, o colículo superior, o núcleo pedunculopontino (PPN) e a formação reticular (GALVAN AND WICHMANN, 2008) (figura 4).

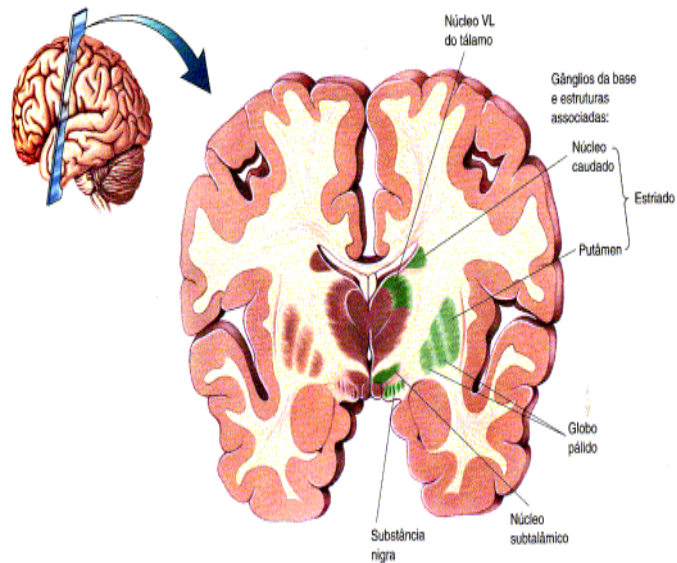


Figura 3: Núcleos da Base (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2007).

Sabe-se que, no estriado, existem duas vias com ações opostas, a via direta e a indireta, que ocorrem respectivamente pela ativação dos receptores dopaminérgicos D1 (D1R) e D2 (D2R). A ativação da via direta inibe os núcleos do GPi / SNr, desinibindo as interações talâmo-corticais, enquanto que a ativação da via indireta faz o contrário. Resumidamente, a liberação de dopamina a partir da projeção nigroestriatal facilita a transmissão nas sinapses corticoestriatais mediante a via direta e reduz a mesma pela via indireta (DELONG; WICHMANN, 2007). Este modelo tem sido útil em estudos anatômicos e fisiológicos dos núcleos da base, entretanto representa uma visão simplificada, visto que muitas conexões não estão incluídas (MCGREGOR; NELSON, 2019; WU; RICHARD; PARENT, 2000). Além de receptores dopaminérgicos, os núcleos da base também expressam receptores glutamatérgicos (BRADLEY et al., 1999; GALVAN; KUWAJIMA; SMITH, 2006; TESTA et al., 1994) gabaérgicos (BOYES; BOLAM, 2007; YOUNG et al., 1984) e colinérgicos (ROBBERT HAVEKESA; ABELA; ZEEB, 2011; WEINER; LEVEY; BRANN, 1990).

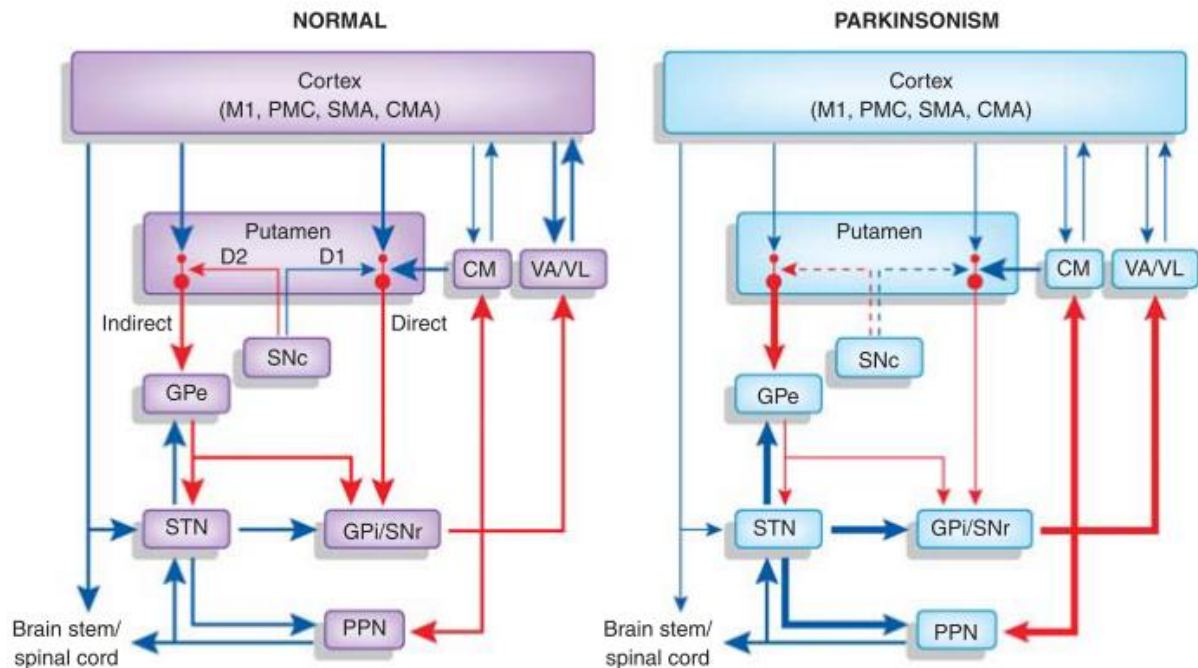


Figura 4: Alterações da DP na atividade normal do circuito motor tálamo-cortical dos núcleos da base. As setas vermelhas indicam conexões inibitórias; as setas azuis indicam conexões excitatórias. A espessura das setas indica a atividade esperada. Abreviaturas: CM, núcleo central medial do tálamo; CMA, área motora do cíngulo; D1, D2, receptores de dopamina; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; M1, córtex motor primário; PMC, córtex pré-motor; PPN, núcleo pedunculopontino; SMA, área motora suplementar; SNc, parte compacta da substância negra; SNr, substância negra parte reticulada; STN, núcleo subtalâmico; VA, núcleo anterior ventral do tálamo; VL, núcleo ventrolateral do tálamo (SMITH et al., 2012).

Na DP a depleção da DA, na via nigroestriatal, leva à hiperatividade das projeções inibitórias do estriado para o GPe (HIRSCH et al., 2000) conduzindo um bloqueio da inibição do STN, que desencadeia uma hiperatividade glutamatérgica da via indireta, contribuindo para a disfunção motora (CENTONZE et al., 2005; REMPLE et al., 2011). Deste modo, a estimulação intensa desta região apresentou-se como alternativa para o tratamento da DP (MOSTOFI et al., 2019). Além disto, trabalhos clínicos e pré-clínicos mostram que a diminuição da hiperatividade glutamatérgica da via indireta pode ser benéfica na redução dos sintomas motores relacionados à DP (Para revisão, Zhu et al., 2019). Assim, o sistema glutamatérgico é considerado um alvo promissor para estudos fisiopatológicos e terapia da DP (VILLALBA; MATHAI; SMITH, 2015).

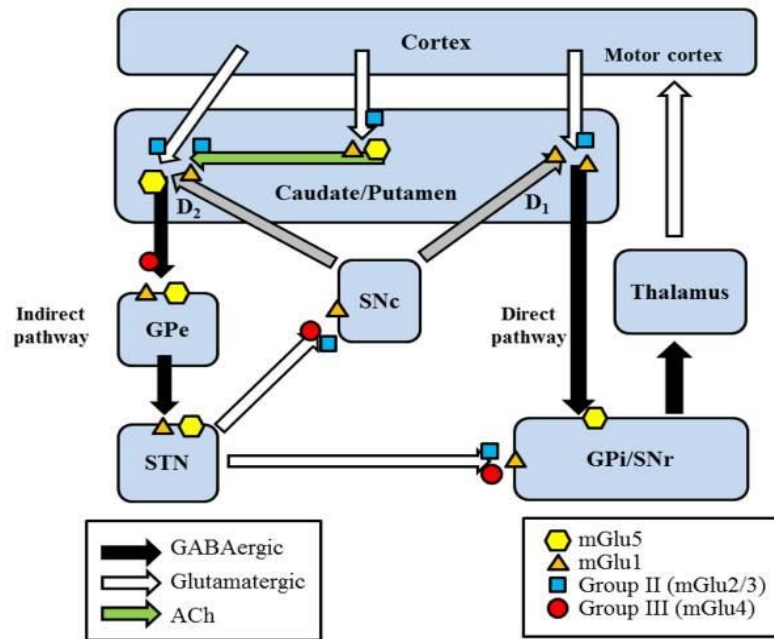


Figura 5: Neurotransmissão glutamatérgica nos núcleos da base. Projeções dopaminérgicas (cinza), colinérgicas (verde), glutamatérgicas (branco) e gabaérgicas (preto) coexistem nestes núcleos e receptores metabotrópicos de glutamato são amplamente expressos nesta região (NICKOLS; CONN, 2014).

1.5 MODELOS ANIMAIS DA DP

Vários modelos experimentais são utilizados para estudo da DP que objetivam uma melhor compreensão da fisiopatologia e a progressão da doença, como também o desenvolvimento de terapias que impeçam a perda neuronal e atuem sobre os sintomas. Estes modelos utilizam primatas não humanos, espécies não mamíferas (levedura, vermes e moscas) e roedores, sendo este último o mais usado (STOKER; BCHIR; GREENLAND, 2018). Estes modelos podem ser classificados em genéticos e os que empregam neurotoxinas para induzir a DP. Vale ressaltar que estes modelos são aproximações e não fenocópias da DP, sendo importante o conhecimento dos mesmos para o discernimento dos resultados observados.

Nesta seção abordaremos os protótipos com neurotoxinas que têm sido usados predominantemente desde a década de 60. O primeiro modelo surgiu da observação que camundongos e coelhos, apresentaram atividade motora reduzida após a administração de reserpina, um depletor de monoaminas. Além disso, estes autores mostraram que, esses animais recuperaram o comportamento motor normal com a administração do precursor da dopamina L-3,4-di-hidroxifenilalanina (L-DOPA)

(CARLSSON; LINDQVIST; MAGNUSSON, 1957). Estas observações forneceram a primeira evidência do uso da L-DOPA para o tratamento dos sintomas motores da DP.

Em 1968, Ungerstedt descreveu o segundo modelo de indução da DP por toxinas, ele demonstrou que a injeção de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) no estriado ou na SNc provocou uma lesão unilateral na via nigroestriatal de ratos (UNGERSTEDT, 1968). Este é um dos modelos mais usados na atualidade, devido a sua reprodutibilidade e perda neuronal preferencialmente nos neurônios da SNc em relação aos da área tegmental ventral (VTA) (PRZEDBORSKI et al., 1995) e por assim manifestar algumas alterações motoras e não motoras características da doença (BONITO-OLIVA; MASINI; FISONE, 2014; MORE et al., 2016). Entretanto, por não atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) é necessário a utilização de cirurgia intracraniana (UNGERSTEDT, 1968). Além disso, esse modelo não induz a formação de corpos de Lewy (DAUER; PRZEDBORSKI, 2003) e não reproduz todos os fenótipos observados nos pacientes.

O terceiro modelo foi desenvolvido em 1983, quando Langston e cols. descobriram que o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) - um subproduto da síntese de um análogo da meperidina - com efeitos potentes semelhantes à heroína, podia induzir síndrome parkinsoniana em humanos quase indistinguível da DP (LANGSTON et al., 1983). Posteriormente estes autores confirmaram que o MPTP era capaz de reproduzir as características neuropatológicas da DP em macacos (LANGSTON et al., 1984).

O MPTP, quando atinge a corrente sanguínea atravessa imediatamente a BHE e é biotransformado até sua forma ativa. Nas células gliais, por ação da monoamina oxidase B (MAO-B), esta toxina é metabolizada em 1-metil-4-fenil-2,3-di-hidropiridínio (MPDP⁺) e espontaneamente oxidada no composto ativo o 1-metil-4-fenilpiridínio (MPP⁺). O MPP⁺ é então internalizado nos neurônios dopaminérgicos, através do transportador de dopamina (DAT), para os quais apresenta alta afinidade. Uma vez dentro dos neurônios, o MPP⁺ se acumula na membrana mitocondrial, inibindo o complexo I da cadeia transportadora de elétrons. Esta inibição impede o fluxo de elétrons ao longo da cadeia transportadora resultando em uma maior produção de radicais livres, o que provoca um aumento do estresse oxidativo e ativação de vias de morte celular programada (Figura 6) (VILA; PRZEDBORSKI, 2003). Vale ressaltar que

pacientes *post mortem* com DP mostraram um defeito seletivo no complexo I da cadeia transportadora de elétrons que é afetado pelo MPTP (GLUCK et al., 1994).

Desta forma, o MPTP pode ser considerado o padrão-ouro para modelos animais baseados em toxinas, pois induz diversas características da DP, como danos à via DA nigrostriatal, perda profunda da DA no estriado e SNc, estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio e inflamação (DAUER; PRZEDBORSKI, 2003; LANGSTON, 2017). No entanto, na maioria dos estudos realizados com o MPTP, não é observado a formação de corpos de Lewy (HALLIDAY et al., 2009; MARIES et al., 2003) em tratamentos mais curtos, apenas quando a toxina foi administrada por períodos mais prolongados (FORNAI et al., 2005; KOWALL et al., 2000).

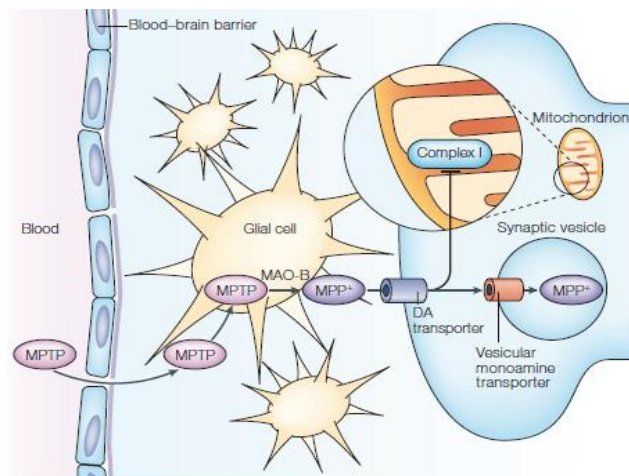


Figura 6: Mecanismo de ação do MPTP (VILA; PRZEDBORSKI, 2003).

Outros modelos têm sido propostos utilizando pesticidas e herbicidas, os quais contribuem com uma maior prevalência da doença. Entre eles os mais estudados são a rotenona e o paraquat os quais provocam a neurodegeneração dopaminérgica através da indução do estresse oxidativo (BERRY; LA VECCHIA; NICOTERA, 2010; BETARBET et al., 2000). Apesar destes modelos serem úteis para entender a fisiopatologia e o desenvolvimento de novas terapias para DP, os modelos supracitados falham na formação dos corpos de Lewy, os quais são um componente importante da doença. Assim, surgiram novos modelos baseados ou na inoculação de fibras pré-formadas de α -sinucleína ou na super expressão da mesma por vetores virais adeno-associados (GÓMEZ-BENITO et al., 2020).

Levando em consideração as limitações apresentadas por cada modelo, assim como, as ferramentas laboratoriais disponíveis por nós para a realização dos experimentos, optamos pela toxina parkinsoniana MPTP para a indução do modelo da DP no que diz respeito principalmente aos sintomas motores, mas também, aos sintomas não motores.

1.6 SINTOMAS NÃO MOTORES DA DP

Atualmente a DP é reconhecida como uma doença caracterizada pela disfunção motora e a manifestação de diversos sintomas não motores (SNM), os quais estão presentes em todos os pacientes (KIM et al., 2013; WITJAS et al., 2002).

Os SNM estão relacionados com várias funções, incluindo distúrbios do sono - regulação do ciclo da vigília, comprometimento cognitivo, distúrbios do humor e afeto, disfunção autonômica (principalmente hipotensão ortostática, disfunção urogenital, constipação e hiperidrose), bem como sinais sensoriais (mais proeminentemente hiposmia), dor e fadiga (ver SCHAPIRA; CHAUDHURI; JENNER, 2017, para revisão). Estes sintomas ocorrem anteriormente (anos) da percepção da disfunção motora, (BOHNEN et al., 2008; CLAASSEN et al., 2010; ISHIHARA; BRAYNE, 2006; SAVICA et al., 2009) e são sub- relatados e pouco reconhecidos. Somente nos últimos anos, testes de diagnósticos específicos têm sido conduzidos para o reconhecimentos dos SNM, mas são pouco tratados na prática clínica (SCHRAG; SAUERBIER; CHAUDHURI, 2015)

Por outro lado, os SNM podem ser causados por alterações dopaminérgicas ou não dopaminérgicas (SCHAPIRA; CHAUDHURI; JENNER, 2017), assim, o tratamento da DP não apresenta uma eficácia terapêutica completa para estas alterações. Os SNM contribuem para a diminuição da qualidade de vida (BAIG et al., 2015) e a incapacidade provocada pela doença (WITJAS et al., 2002). Um dos SNM mais frequentes é o comprometimento cognitivo progressivo que aumenta o risco de demência na DP (AARSLAND et al., 2001).

1.7 DECLÍNIO COGNITIVO NA DP

Devido a descrição original feita por James Parkinson (1917), “*os sentidos e o intelecto permanecem intactos*” e com a reduzida sobrevivência dos pacientes com DP, (HELY et al., 1999; WILLIS et al., 2012) os sintomas cognitivos foram ignorados por muitos anos.

As diretrizes de diagnóstico da Sociedade Internacional de Parkinson e Distúrbios do Movimento (LITVAN et al., 2012), definiram duas síndromes cognitivas comuns em pacientes com DP: o comprometimento cognitivo leve (PD-MCI, *Mild cognitive impairment of Parkinson disease*) que pode estar presente desde o diagnóstico sem causar incapacidade (BROEDERS et al., 2013; MUSLIMOVIĆ et al., 2005) e a Demência da doença de Parkinson (PDD, *Parkinson’s Disease Dementia*), a qual acomete aproximadamente 80% dos pacientes após 20 anos do diagnóstico (HELY et al., 2008).

O declínio cognitivo na DP apresenta fisiopatologia complexa, envolvendo alterações morfológicas em diversos sistemas de neurotransmissão, portanto, os mecanismos subjacentes a ela são pouco conhecidos (para revisão AARSLAND, et al., 2017). Neste contexto, o sistema colinérgico vem ganhando destaque, devido a que diversos trabalhos mostram que déficits cognitivos podem ser relacionados com uma diminuição colinérgica no núcleo basal de Meynert (nbM) em PDD (PERRY et al., 1993; WHITEHOUSE et al., 1983) e pacientes com PDD apresentam maior degeneração colinérgica em relação aos pacientes da DP (KLEIN et al., 2010). Ainda, Bohnen e cols. observaram que a neurodegeneração colinérgica está associada a declínios cognitivos progressivos na DP (BOHNEN et al., 2015), consolidando a importância deste sistema nas alterações cognitivas presentes na mesma.

1.8 SISTEMA COLINÉRGICO NA DOENÇA DE PARKINSON

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor sintetizado no citosol dos neurônios colinérgicos, onde a enzima colina acetiltransferase (ChAT), por meio da acetil-coenzima A (acetil-CoA), acetila a colina formando a ACh. Esta é armazenada em vesículas mediante um gradiente de prótons transvesicular gerado por uma ATPase vacuolar, através do transportador vesicular de acetilcolina (VACHT) (PARSONS, 2000). A liberação da acetilcolina para a fenda sináptica é desencadeada pelo influxo de Ca^{+2} , o que leva à despolarização celular. A acetilcolina atua tanto no neurônio pré-

sináptico como pós-sináptico (WEVER, 2011). A hidrólise da acetilcolina ocorre rapidamente pelas enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) formando colina e acetato. A colina formada é recaptada pelo neurônio através do transportador de colina de alta eficiência (ChT1) (revisado por SILVA, 2008) (figura 7).

A acetilcolina exerce sua ação através de receptores muscarínicos (metabotrópicos) e nicotínicos (ionotrópicos). Os receptores muscarínicos são cinco, e interagem com a proteína G que pode estar acoplada à fosfolipase (M1, M3 e M5), ou à adenilatociclase (M2 e M4). Por outro lado, os receptores nicotínicos são subdivididos em α ($\alpha 2$ - $\alpha 10$), β ($\beta 2$ - $\beta 4$), γ , δ e ϵ , podendo estar estes ligados a canal de Ca^{+2} ou de Na^{+} (MALENKA; NESTLER; HYMAN, 2009).

Dentre os receptores nicotínicos o alfa 7 é intensamente expresso no hipocampo, uma região particularmente afetada em distúrbios cognitivos (PALMA et al., 2012; WALLACE; PORTER, 2011) e sua estimulação melhorou o desempenho cognitivo em animais (NIKIFORUK et al., 2015; SADIGH-ETEGHAD et al., 2015). Por outro lado, os receptores muscarínicos também têm sido associados com processos cognitivos, antagonistas são comumente reconhecidos por prejudicar o desempenho cognitivo em animais (BEATTY, 1986). Dessa forma, um entendimento das alterações colinérgicas na DP se torna importante para o tratamento e/ou prevenção dos déficits cognitivos observados na doença e a intervenção nesse sistema pode emergir como um potencial alvo farmacológico ou não farmacológico.

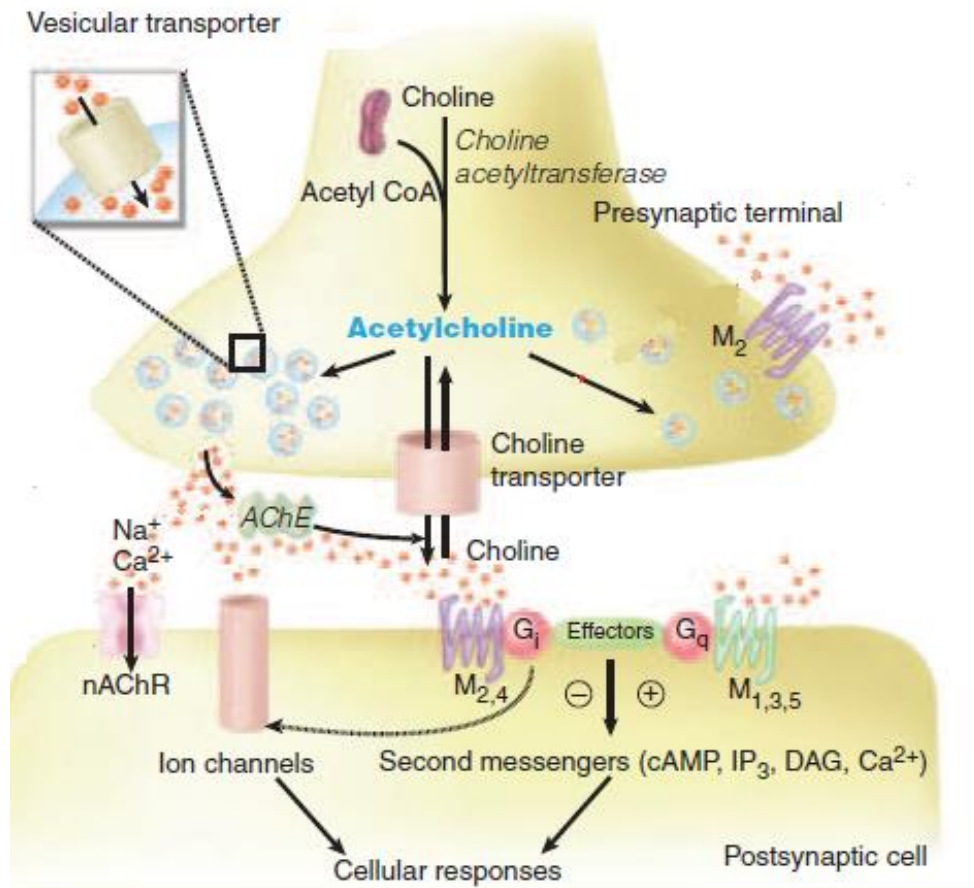


Figura 7: Neurotransmissão colinérgica: A enzima colina acetiltransferase catalisa a formação de acetilcolina (ACh) a partir da acetil coenzima A (Acetyl CoA) e colina. Esta é armazenada em vesículas através do transportador vesicular, com a despolarização do neurônio a ACh é liberada na fenda onde se liga a receptores nicotínicos (nAChR) e muscarínicos os quais podem ser pré e pós sinápticos. A ACh é degradada em colina e acetato pela acetilcolinesterase (AChE) (MALENKA; NESTLER; HYMAN, 2009).

1.9 TRATAMENTO DA DP

O tratamento da DP tem como principal objetivo amenizar as alterações motoras provocadas pela doença, e a reposição dos níveis de dopamina é a intervenção medicamentosa primária para estes pacientes. A neurotransmissão dopaminérgica, está descrita em detalhes na figura 8.

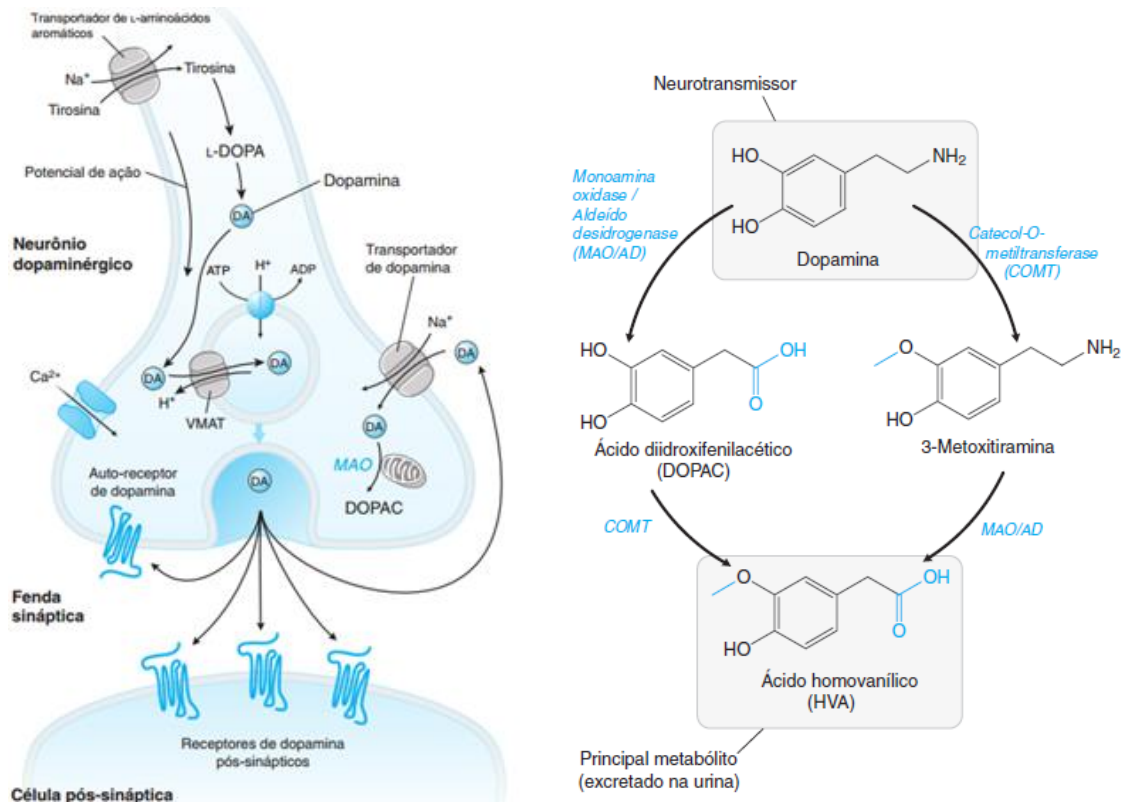


Figura 8: Neurotransmissão dopaminérgica. À esquerda: Síntese da dopamina: A dopamina (DA) é sintetizada e armazenada em vesículas. Com a estimulação das células nervosas, a DA é liberada estimulando assim os receptores dopaminérgicos. Posteriormente, a DA é recaptada pelo transportador de dopamina (DAT), podendo ser internalizada em vesículas e/ou degradada através da enzima monoamino oxidase (MAO). À direita: Degradação de Dopamina: A DA é oxidada a ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) por meio de reações sequenciais das enzimas monoaminooxidase (MAO) e aldeído desidrogenase (AD), em seguida, a DOPAC será oxidada pela catecol-o-metiltransferase (COMT) em ácido homovanílico (HVA). Alternativamente a dopamina é metilada a 3-metoxitiramina através da COMT e subsequentemente oxidada a HVA pela MAO e AD (STANDAERT; GALANTER, 2009)

Mesmo com a grande procura de agentes farmacológicos que regulem a transmissão dopaminérgica na via nigroestriatal, a L-DOPA, precursor da DA, tem sido usada nos últimos 50 anos como terapia da DP para suprir a perda de DA no estriado e é considerada padrão ouro para o tratamento da mesma e do parkinsonismo. Porém, sua administração descontínua (meia-vida curta da L-DOPA), variabilidade na absorção gastrointestinal e seu transporte através da barreira hematoencefálica (NUTT, 1987; OBESO et al., 1994) têm sido associados à complicações motoras, incluindo as oscilações da resposta motora (fenômeno on-off) e a discinesia induzida por L-DOPA (LID, *levodopa induced dyskinesia*) (LEES; SHAW; STERN, 1977; OLANOW; OBESO; STOCCHI, 2006). Formulações com a liberação prolongada de L-DOPA, e também algumas abordagens farmacológicas (ajustes na frequência e na dose, administração da mesma em associação com o inibidor DOPA descarboxilase - IDDC e inibidor seletivo da MAO B) melhoram a eficácia da terapia com L-DOPA, mostrado maior eficácia na diminuição das oscilações da resposta motora (para revisão POEWE; ANTONINI, 2015).

Outra estratégia terapêutica, é a estimulação dos receptores dopaminérgicos pelo uso de agonistas, que teve início em 1951, pela observação da melhora transitória da rigidez e tremor em pacientes parkinsonianos após injeção de apomorfina (Schwab et al, 1951, apud CARBONE et al., 2019). Mais tarde surgiram outros agonistas derivados da ergolina, bromocriptina e cabergolina (RASCOL et al., 1979; SHAW, 1995). Porém estes derivados tiveram seu uso diminuído pois foram associados a fibrose pulmonar e pleuro cardíaca em virtude da ativação de receptores serotoninérgicos como 5HT2B (ALBERTI, 2015; ANTONINI et al., 2009; HOFMANN et al., 2006)

Outros agonistas dopaminérgicos foram introduzidos no mercado - pramipexol, ropinirole e rotigotina - (BENNETT; PIERCEY, 1999; BROOKS; TORJANSKI; BURN, 1995; NAIDU; CHAUDHURI, 2007, respectivamente). Estes apresentam algumas vantagens farmacológicas, como meia-vida mais longa, estimulação direta dos receptores, opção de administração por vias alternativas, diminuem a incidência de complicações motoras (CHONDROGIORGI et al., 2014; HOLLOWAY, 2004), podendo ser utilizados como monoterapia (CLARKE; GUTTMAN, 2002; ZHUO et al., 2017) ou adjunto a L-DOPA (ZHAO et al., 2019a).

A figura 9, compila as estratégias farmacológicas para a terapia dopaminérgica da Doença de Parkinson.

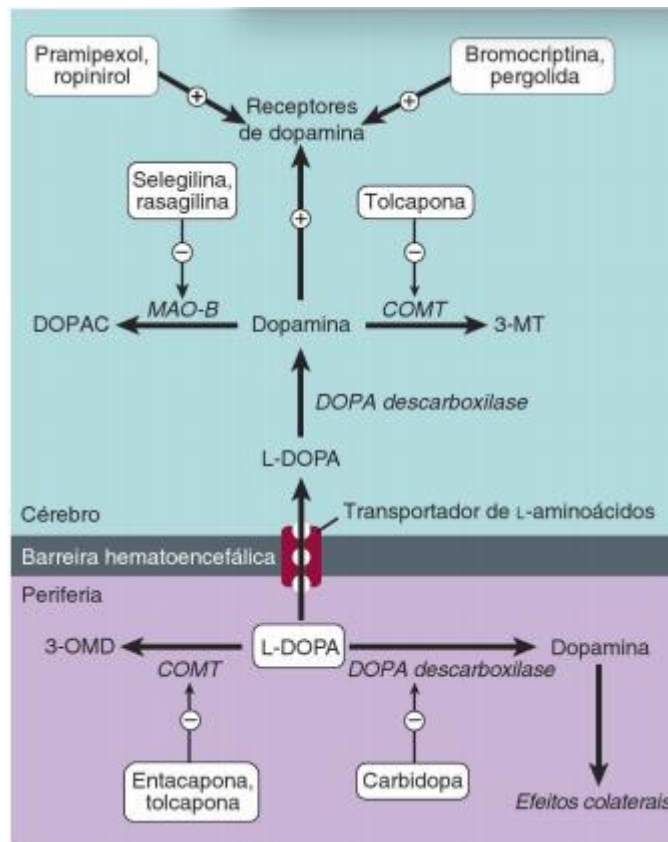


Figura 9: Estratégias Farmacológicas para a terapia dopaminérgica da Doença de Parkinson (DP). A L-DOPA administrada por via oral é metabolizada nos tecidos periféricos pela DOPA descarboxilase e catecol-O-metiltransferase (COMT). A carbidopa é um inibidor da DOPA descarboxilase que não tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Por outro lado, a entacapona e a tolcapona inibem a COMT. Assim, quando a L-DOPA é administrada em associação a estes fármacos uma maior fração da L-DOPA torna-se disponível no cérebro. Por conseguinte, uma dose menor de L-DOPA é necessária para obter uma eficácia clínica, e o fármaco apresenta menos efeitos adversos. A L-DOPA é transportada através da barreira hematoencefálica pelo transportador de L-aminoácidos neutros (LNAA) e metabolizada a dopamina (DA) pela DOPA descarboxilase. No interior do cérebro, a DA é metabolizada pela COMT e pela monoamino oxidase B (MAOB). A tolcapona (um inibidor da COMT) e a selegilina e rasagilina (inibidores seletivos da MAOB) aumentam a eficiência do tratamento com L-DOPA ao inibir o metabolismo da DA no cérebro. 3-O-MD: 3-O-metilDOPA; DOPAC: ácido diidroxifenilacético; 3MT: 3-metoxitiramina (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Como já mencionado, apesar do notável efeito da terapia dopaminérgica sobre os sintomas motores esta pode causar flutuações motoras e discinesia, bem como, ser inefetiva em pacientes resistentes à L-DOPA. Desta forma, torna-se impreterível a necessidade de novas estratégias, direcionadas a outros sistemas, para o tratamento da DP tanto para o controle dos sintomas motores como para uma diminuição das reações motoras adversas e tratamento dos sintomas não motores.

1.9.1 Potencial dos moduladores alostéricos negativos (NAMs) dos recptores mGLURs no tratamento da DP

O glutamato é o neurotransmissor excitatório mais importante do sistema nervoso central (SNC), atuando em diversas funções fisiológicas como memória, plasticidade sináptica e desenvolvimento neuronal. Entretanto, sua superestimulação têm sido relacionada com a neurodegeneração (GASIC; HOLLMANN, 1992; NAKANISHI; MASU, 1994).

No SNC, o glutamato se liga a receptores ionotrópicos de ação rápida, e a receptores metabotrópicos (mGluRs) acoplados à proteína G de modulação lenta para mediar suas ações. Os receptores ionotrópicos compreendem três subtipos: o ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil4-isoxazazol-propionico (AMPA), os receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e o cainato (KA). Esses receptores permitem o fluxo de íons (sódio, potássio ou cálcio) que participam da neurotransmissão excitatória. Por outro lado, os mGluRs são agrupados em três classes (I, II e III) com base na homologia de sequência, mecanismo de transdução de sinais e farmacologia (NAKANISHI; MASU, 1994; PIN; DUVOISIN, 1995). O grupo I (mGlu1 e mGlu5) conduz ativação da fosfolipase C, enquanto os grupos II (mGlu2 e mGlu3) e III (mGlu4, mGlu6, mGlu7 e mGlu8) modulam a atividade da adenilato ciclase (CONN; PIN, 1997). Devido o envolvimento destes receptores na regulação de canais iônicos, transmissão sináptica e plasticidade sináptica são considerados alvos para o desenvolvimento de agentes farmacológicos no tratamento de doenças neurológicas (NICKOLS; CONN, 2014; RIBEIRO et al., 2017).

Alteração nos níveis de glutamato (MEREDITH et al., 2009; ROBELET et al., 2004), aumento da expressão gênica de receptores metabotrópicos (KANG et al., 2019; OUATTARA et al., 2010, 2011) e o excesso de estimulação nos STN foram observados na DP (KLEINER-FISMAN et al., 2003; PAHWA et al., 2006; SIMUNI et al., 2002; VITEK; JOHNSON, 2019). Assim, vários estudos mostram que

bloqueadores glutamatérgicos melhoram as alterações motoras da DP (MOREAU et al., 2013; NASH et al., 2000; SCHWAB et al., 1969) e a LID (BLANCHET; KONITSIOTIS; CHASE, 1998; SHARMA; LYONS; PAHWA, 2018; WOLF et al., 2010).

Apesar dos três grupos de mGluRs estarem presentes nos núcleos da base (Figura 5), levando em consideração sua distribuição, efeitos fisiológicos e disponibilidade de drogas específicas, os receptores mGlu5 e mGlu4 são os principais alvos promissores para o tratamento da DP. O mGluR4 é expresso pré-sinápticamente, modulando negativamente a liberação de glutamato e GABA reduzindo a transmissão estriado-globo pálido, logo, diminuindo a ativação do núcleo STN e SNr, conseqüentemente atenuando a ativação exacerbada da via indireta manifesto na DP (MACINNES; DUTY, 2008; MATSUI; KITA, 2003).

Por outro lado, o mGluR5 é distribuído pós-sinápticamente nos núcleos da base (KUWAJIMA et al., 2004; SHIGEMOTO et al., 1993), atuando de maneira sinérgica aos receptores A2A e NMDA, nos neurônios estriado-globo pálido da via indireta estimulando o GPe (FERRE et al., 2002; NISHI et al., 2003). Além disso, nos neurônios do STN, a ativação do mGluR5 induz a despolarização da membrana acentuando o potencial de ação (AWAD et al., 2000; BEURRIER et al., 1999). Assim, os moduladores alostéricos negativos (NAMs, *negative allosteric modulators*) surgem como uma estratégia para o tratamento da DP e LID, pois a modulação negativa do mGluR5 provoca uma diminuição da transmissão glutamatérgica.

Os primeiros NAMs descritos para os receptores mGlu5 foram 2-metil-6-(feniletênil)-piridina (MPEP) (GASPARINI et al., 1999) e 3-(2-metil-1,3-tiazol-4-il(etinil)piridina (MTEP) (COSFORD et al., 2003). Eles apresentaram efeitos terapêuticos para a DP em modelo murino e primata não humano (BREYSSE et al., 2002; OSSOWSKA et al., 2005). Além disso, foram observados efeitos antidiscinéticos (DEKUNDY et al., 2011; MORIN et al., 2013). Entretanto, ambos não possuem perfil farmacológico adequado para uso crônico em humanos, devido à sua meia-vida curta e *clearance* cerebral rápido (LINDEMANN et al., 2011). LINDEMANN e cols. desenvolveram um derivado (novo NAM), o 2-cloro-4-((2,5-dimetil-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1H-imidazol-4-yl)etinil)piridina (CTEP), que apresenta maior seletividade, potência e biodisponibilidade oral (LINDEMANN et al., 2011). Estudos mais recentes, sugerem a eficácia do CTEP no tratamento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer (HAMILTON et al., 2016), Huntington (ABD-

ELRAHMAN et al., 2017), Síndrome do cromossomo X frágil (MICHALON et al., 2012) e da DP (FARMER et al., 2020). Entretanto, no estudo de Farmer e cols., o modelo utilizado foi o tratamento com 6-OHDA e ainda não foram realizados estudos utilizando CTEP em modelo experimental com MPTP.

1.9.2 Tratamento da DP com a ferramenta não farmacológica do ambiente enriquecido

O ambiente é todo contexto ao redor do indivíduo que afeta o seu metabolismo e comportamento, e envolve relacionamentos familiares, amizades, lazer, condição socioeconômica, moradia, entre outros. O ambiente pode influenciar tanto positivamente quanto negativamente no desenvolvimento cerebral e, conseqüentemente, em diversos aspectos comportamentais relacionados ao indivíduo (apud, SALE, 2018). Fatores ambientais positivos podem ser mimetizados em laboratório através do ambiente enriquecido (AE), o qual é classicamente definido como a combinação complexa de estímulos sociais e inanimados (ROSENZWEIG et al., 1978). Este paradigma foi introduzido pela primeira vez por Donald Olding Hebb em 1947, que observou uma melhor desempenho cognitivo em ratos criados como pet, os quais viviam em condições estimulantes, comparado aos mantidos no laboratório em condições convencionais (Apud, SAMPEDRO-PIQUERO; BEGEGA, 2016). Entretanto somente na década de 1960 que esta ferramenta passou a ser utilizada como um paradigma científico, onde foi possível constatar diferenças neuroanatômicas entre animais mantidos em AE e animais em condição padrão (KRECH; ROSENZWEIG; BENNETT, 1962). Deste modo, o AE passou a ser usado na neurociência, onde os animais são expostos a um ambiente que fornece uma variedade de estímulos sensoriais, motores e cognitivos (figura 10) (NITHIANANTHARAJAH; HANNAN, 2006).

Nos seres humanos a caracterização da exposição ao AE é mais complexa devido aos numerosos elementos presentes no ambiente. Entretanto, podemos citar alguns como nível de escolaridade, suporte emocional, atividades de lazer, prática de exercício (KRAMER et al., 2004). Assim, uma maior exposição a educação formal (tempo) foi associada com uma diminuição do risco de demência (BRAYNE et al., 2010) e de desenvolvimento da DP (GLATT et al., 1996), além disso, pessoas com maior convivência com atividades de lazer desafiadoras como dançar, resolver

palavras cruzadas, jogar baralho entre outras, tinham uma resposta cognitiva superior em relação aos com menor contato com estes estímulos (PÉREZ; MENOR, 2014).

Por outro lado, a exposição ao AE para animais é desenhado pela utilização de gaiolas maiores, com a presença de diversos objetos como túneis, escadas, esconderijos, gangorras e uma roda de correr, que são periodicamente trocados para a estimulação da curiosidade e exploração (Figura 10) (NITHIANANTHARAJAH; HANNAN, 2006; VAN PRAAG; KEMPERMANN; GAGE, 2000). Desta forma, é concebido aos animais diferentes formas de estímulos somatossensoriais, visuais, motores, olfativos e cognitivos, que levam a uma maior interação social, exploração do ambiente e benefícios relacionados à atividade física voluntária (NITHIANANTHARAJAH; HANNAN, 2006). Existem diversos protocolos da exposição ao AE, variando o tamanho da caixa, tipos e números de objetos, tempo de exposição a estes, linhagem e idade, não existindo um consenso de qual protocolo é o mais adequado (SIMPSON; KELLY, 2011).

Diversos benefícios fisiológicos, morfológicos e moleculares já foram descritos em vários estudos relacionados à exposição ao AE. Dentre as alterações morfológicas foi observado que a exposição ao AE provoca um aumento de volume do córtex occipital, hipocampo e áreas subcorticais (BENNETT et al., 1964; DIAMOND et al., 1976; DIAMOND; KRECH; ROSENZWEIG, 1964). Ademais, a exposição ao AE provocou um aumento da arborização dendrítica favorecendo a plasticidade neuronal (JOHANSSON; BELICHENKO, 2002; LEGER et al., 2015). Essa exposição também desencadeia vários efeitos bioquímicos como a alteração da expressão gênica e proteica em diversas células e tecidos (RAMPON et al., 2000; ZHANG et al., 2016), modulação de alguns sistemas de neurotransmissão (ROSENZWEIG et al., 1978; VARMAN; RAJAN, 2015), aumento de fatores neurotróficos (GUALTIERI et al., 2017) e do sistema imune (SINGHAL et al., 2014).

Em relação aos benefícios fisiológicos os mais estudados são os cognitivos e emocionais. A exposição ao AE foi capaz de atenuar o comportamento ansioso em modelo animal de estresse (BENAROYA-MILSHTEIN et al., 2004; RAVENELLE et al., 2014), bem como, reduz a ansiedade em animais adultos no paradigma de exploração livre (GOES; ANTUNES; TEIXEIRA-SILVA, 2015). Os processos de aprendizagem e memória são facilitados pela exposição ao AE, revertendo o prejuízo cognitivo provocado pelo envelhecimento em animais (FRERET et al., 2012a; FRICK;

FERNANDEZ, 2003). Além disso, enquanto alguns autores sugerem que os efeitos da exposição ao AE sobre a aprendizagem são mais acentuados em animais jovens (MORA-GALLEGOS et al., 2015) outros autores observaram o oposto (HARATI et al., 2011). SPEISMAN e cols (2013) propõem que esta melhora cognitiva ocorre devido a uma rápida aquisição e flexibilidade na utilização da informação espacial, por outro lado, BONACCORSI e cols. (2013) sugerem que a ação do AE acontece na consolidação da tarefa. Deste modo, a exposição ao AE tornou-se uma ferramenta potente na prevenção e tratamento de doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (BALTHAZAR et al., 2018; PRADO LIMA et al., 2018a) e seus efeitos não são restritos as alterações comportamentais, mas também a modificações bioquímicas, como a prevenção da formação de placas neuríticas (BALTHAZAR et al., 2018; CRACCHIOLO et al., 2007). Ainda, a exposição ao AE conseguiu retardar o deterioramento cerebral em modelo animal da doença de Huntington (HOCKLY et al., 2002; SKILLINGS; WOOD; MORTON, 2014).

No que diz respeito à DP, apesar do número limitado de trabalhos, a exposição ao AE tem conseguido reverter os déficit motores em diversos paradigmas (JUNGLING et al., 2017; STEINER et al., 2006) e tem apresentado um efeito neuroprotetor sobre aspectos morfológicos (BEZARD et al., 2003; FAHERTY et al., 2005). Bezard e cols. (2003), demonstraram que a exposição ao AE preveniu a perda de neurônios dopaminérgicos na SNc em modelo de administração aguda de MPTP, possivelmente pela depleção dos níveis de expressão do DAT no estriado. Da mesma forma, a exposição ao AE foi capaz de provocar uma recuperação significativa dos neurônios dopaminérgicos na SNc (GOLDBERG; HAACK; MESHUL, 2011). Em um trabalho anterior, nosso grupo de pesquisa verificou que a exposição ao AE, em camundongos tratados com doses subcrônicas de MPTP, foi capaz de prevenir alterações motoras provocadas pela toxina, aumentou o turnover de DA e foi capaz de modular componentes do sistema colinérgico (HILARIO et al., 2016).

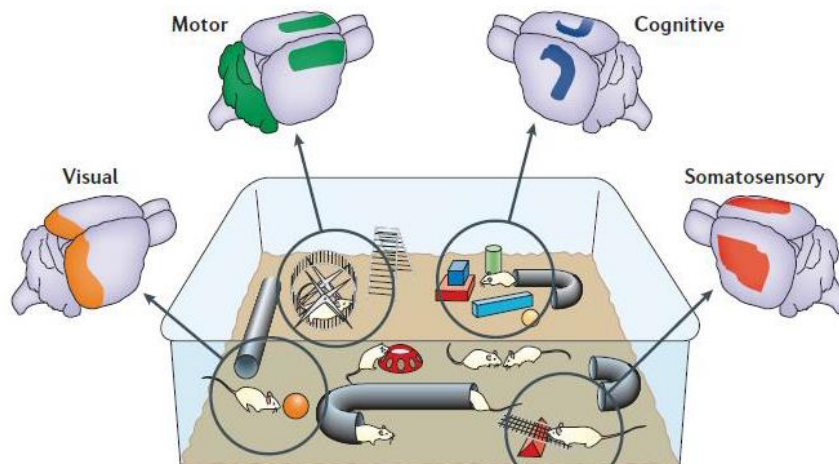


Figura 10: Representação esquemática do ambiente enriquecido. (NITHIANANTHARAJAH; HANNAN, 2006).

2. JUSTIFICATIVA

A doença de Parkinson (DP) é considerada a segunda enfermidade neurodegenerativa, com longa sobrevivência, mais predominante no mundo. Estudos estimam que, em 2040, existam de 12 a 17 milhões de pessoas acometidas com a doença (RAY DORSEY et al., 2018). Essa enfermidade, manifesta-se a partir dos 40 a 50 anos, comprometendo o indivíduo em sua fase produtiva. Os pacientes com DP requerem maiores cuidados médicos e frequentemente precisam faltar ao trabalho. Ainda, com a evolução da doença, perdem a capacidade de laborar e precisam de cuidadores, gerando custos governamentais elevados (YANG et al., 2020).

Pacientes com a DP apresentam alterações motoras como tremor, bradicinesia, rigidez postural, que são características da doença (RADAD et al., 2015). Entretanto, também apresentam mudanças como ansiedade, depressão, déficits cognitivos, entre outras, que são conhecidas como sintomas não motores (SNM) (Para revisão TITOVA; CHAUDHURI, 2018).

Atualmente o tratamento da DP tem como principal objetivo repor os níveis de dopamina (DA), os quais são primariamente afetados na doença, (DICKSON et al., 2009), através da L-DOPA ou levodopa, precursor da síntese de DA. Porém, o mesmo não tem se mostrado eficiente na intervenção das modificações não motoras ou muitas vezes as acentua (VAILLANCOURT et al., 2013).

A principal deficiência do tratamento com a L-DOPA é o desenvolvimento frequente da LID (MANSON; STIRPE; SCHRAG, 2012), além de não impedir a progressão da doença. Evidências sugerem que a LID é causada por uma disfunção na plasticidade neuronal no estriado, a qual é provocada por um desequilíbrio entre a sinalização do glutamato e dopamina (MELLONE; GARDONI, 2018). Dessa forma, a modulação dos receptores de glutamato pode ser uma estratégia para o tratamento da DP. Assim, a inibição ou modulação dos receptores de glutamato podem ser úteis para regular a excitabilidade neuronal exacerbada. Neste cenário, os moduladores alostéricos negativos (NAMs) do receptor mGlu5 também apresentam uma ação neuroprotetora sobre os distúrbios motores e discinesias no tratamento convencional da DP (TISON et al., 2016)

Neste contexto, a exposição ao ambiente enriquecido (AE) tem exibido um potencial efeito neuromodulador, sendo capaz de afetar o comportamento bem como provocar alterações a níveis moleculares e celulares. A exposição ao AE tem apresentado, tanto em humanos como em modelo animal, prevenção do envelhecimento (LEON; WOO, 2018), neuroproteção em doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (PRADO LIMA et al., 2018a), doença de Huntington (NOVATI et al., 2018) e, sendo capaz de provocar alterações em diversos paradigmas cognitivos como no reconhecimento de objeto (SAKALEM et al., 2017), no labirinto aquático de Morris (MWM, *Morris water maze*) (CORTESE et al., 2018) e no labirinto radial (SONG et al., 2020b) em modelos pré-clínicos. Dessa forma, a exposição ao AE se apresenta como uma ferramenta promissora para a prevenção e/ou tratamento das alterações observadas na DP.

Dessa forma, no presente estudo, investigamos aspectos comportamentais, moleculares e bioquímicos da doença de Parkinson focando tanto da prevenção quanto no tratamento da mesma utilizando estratégias não-farmacológicas (AE) e farmacológicas (NAM). Este trabalho foi dividido em dois capítulos. No capítulo 1 foram investigados os efeitos da exposição a um AE sobre os aspectos cognitivos, bioquímicos e moleculares da DP focando no sistema colinérgico, uma vez que apenas um trabalho da literatura, realizado pelo nosso grupo, que investigou esse sistema na DP no modelo animal utilizado no presente estudo. Entretanto, em Hilário e cols., apenas investigaram papel desse sistema nos sintomas motores. No capítulo 2 foi analisado o efeito do tratamento com o modulador alostérico negativo do receptor

mGlu5, o 2-cloro-4-((2,5-dimetil-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1H-imidazol-4-yl)etil)piridina (CTEP), nas possíveis mudanças motoras, cognitivas e bioquímicas da DP. Vale ressaltar que o CTEP é um NAM recentemente desenvolvido e ainda não existem na literatura estudos utilizando esse modulador no modelo da DP utilizado nesse estudo.

CAPÍTULO 1: Efeito da exposição ao Ambiente Enriquecido na prevenção das possíveis alterações cognitivas, bioquímicas e moleculares em animais tratados com a toxina parkinsoniana MPTP e sua interação com o sistema colinérgico

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral: Avaliar o potencial efeito da exposição ao ambiente enriquecido (AE) na prevenção de alterações cognitivas e bioquímicas induzidas pela droga parkinsoniana MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) em camundongos C57Bl/6.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar se a exposição ao AE é capaz de prevenir as possíveis alterações cognitivas induzidas pelo MPTP:
 - na memória de referência;
 - na memória operacional;
 - na memória de curta duração no teste de reconhecimento.

- Avaliar se a exposição ao AE é capaz de prevenir as possíveis alterações neuroquímicas induzidas pelo MPTP através da análise:
 - da expressão gênica do sistema colinérgico no hipocampo e córtex pré-frontal;
 - da atividade da AChE, no hipocampo e córtex pré-frontal, nas condições descritas acima;
 - da expressão proteica da tirosina hidroxilase na parte compacta da substância negra.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais e droga

4.1.1 Animais:

Foram usados camundongos machos da linhagem C57Bl/6J (n=115) recém-desmamados (10-15g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram mantidos em gaiolas com 3-6 animais - sob um ciclo claro-escuro de 12:12h, temperatura \cong 23-24 °C, no Laboratório de Neurobiologia Molecular e Comportamental (LNMC- UFES) e receberam água e ração comercial *ad libitum*. Os experimentos realizados foram previamente aprovados pela comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUA/UFES) - protocolo de número (033/2019).

4.1.2 Grupos experimentais:

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, de acordo com o tratamento:

- **Ambiente Padrão / Veículo (APS):** Animais mantidos em gaiola padrão e receberam salina.
- **Ambiente Enriquecido / Veículo (AES):** Animais mantidos em gaiola de ambiente enriquecido e receberam salina.
- **Ambiente Padrão / MPTP (APMP):** Animais mantidos em gaiola padrão e administrados com MPTP durante cinco dias.
- **Ambiente Enriquecido / MPTP (AEMP):** Animais mantidos em gaiola de ambiente enriquecido e administrados com MPTP durante cinco dias.

4.1.3 Modelo da DP

A droga utilizada para promover a DP foi a toxina parkinsoniana MPTP. Ao frasco contendo a droga (Sigma aldrich,USA), foi acrescentado solução salina (NaCl 0,9%) e armazenado a -20 °C de acordo com o fabricante.

Quarenta e um dias após o desmame os animais foram submetidos, durante 5 dias consecutivos, a uma administração diária de solução MPTP (dose de 25mg/kg) ou solução salina via intraperitoneal (ip). A dose utilizada foi baseada em um estudo anterior do nosso laboratório, no qual foi demonstrado que a dose de 25 mg/kg foi capaz de provocar uma redução aproximada de 60% da dopamina no estriado em camundongos sem causar uma alta letalidade (HILARIO et al., 2016).

4.1.4 Ambiente Enriquecido

A exposição dos animais ao AE foi realizada em gaiolas (60x50x22 cm) contendo cinco tipos diferentes de brinquedos e uma casa miniatura. A casa e dois dos brinquedos (a roda giratória e o túnel) foram elementos presentes durante toda a experimentação, e os outros foram trocados semanalmente (HILARIO et al., 2016), (figura 11).

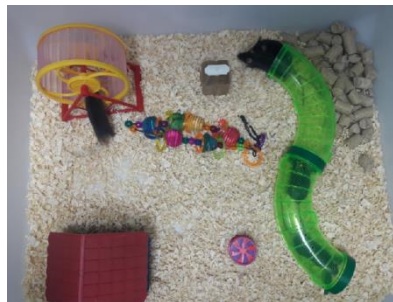


Figura 11: Representação esquemática do Ambiente Enriquecido utilizado neste trabalho.

4.2 Delineamento experimental

Os animais dos grupos experimentais foram expostos a um ambiente enriquecido (AES e AEMP) ou não enriquecido (APS e APMP), com o objetivo de avaliar a prevenção da perda dos neurônios dopaminérgicos e seus efeitos cognitivos em um modelo murino da doença de Parkinson. A figura 12 mostra o delineamento experimental utilizado neste capítulo.

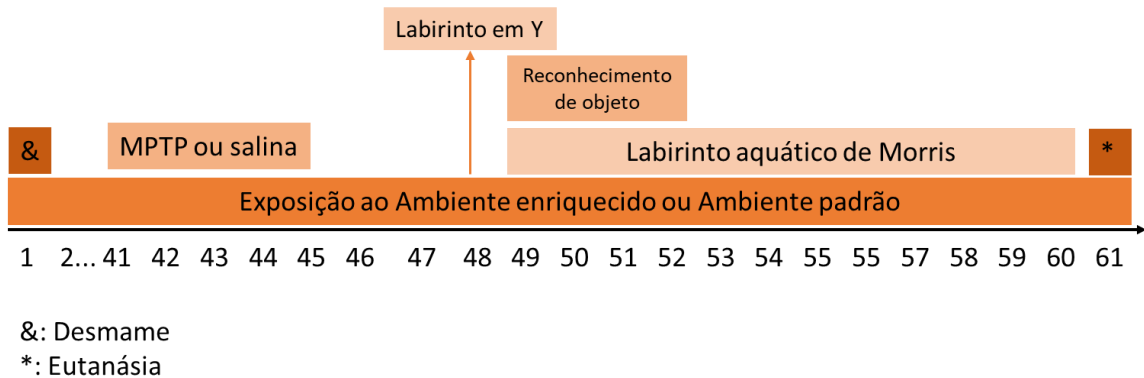


Figura 12: Representação esquemática do delineamento experimental capítulo 1: Prevenção das alterações cognitivas em modelo murino da DP.

4.3 Testes cognitivos

Todas as sessões dos testes cognitivos foram filmadas e analisadas pelo software AnyMaze®.

4.3.1 Labirinto em Y

4.3.1.1 Equipamento

O Labirinto em Y foi construído de acrílico cinza com três braços idênticos (31 x 30 x 6 cm) posicionados em ângulos iguais (Figura 13).



Figura 13: Labirinto em Y. Equipamento comumente utilizado na avaliação da memória operacional, através da alternância espontânea do animal.

4.3.1.2 Teste de memória operacional

Para o teste os animais foram colocados no final de um dos braços do labirinto Y e permitidos mover-se livremente através do labirinto em única sessão de 8 minutos.

A sequência das entradas em cada braço foi gravada para posteriores análises. O número de Alternância foi definido como as entradas sucessivas nos três braços sem sobreposição das mesmas. A avaliação do desempenho dos animais foi medida através da Taxa de alternância: $(\text{Número de alternâncias} / \text{Número total de entradas nos braços} - 2) \times 100$ (CARMO et al., 2014; GONÇALVES et al., 2018). Também, foram analisados a distância percorrida e o número total de entradas nos braços.

4.3.2 Labirinto aquático de Morris (MWM)

4.3.2.1 Equipamento

O MWM (figura 14) consiste em uma piscina circular de 90 cm de diâmetro por 50 cm de altura de cor azul, contendo água e tinta (para tornar a água turva e assim impedir a visualização da plataforma). A área circular foi dividida em quatro quadrantes imaginários, e foram marcados os quatro pontos cardeais. Uma plataforma foi posicionada no quadrante sudeste, (MORRIS, 1984). Em um dos quadrantes, foi posicionada - a 1 cm da superfície da água - uma plataforma submersa e para auxiliar na orientação espacial do animal foram colocadas pistas espaciais na parede da sala de experimentação.

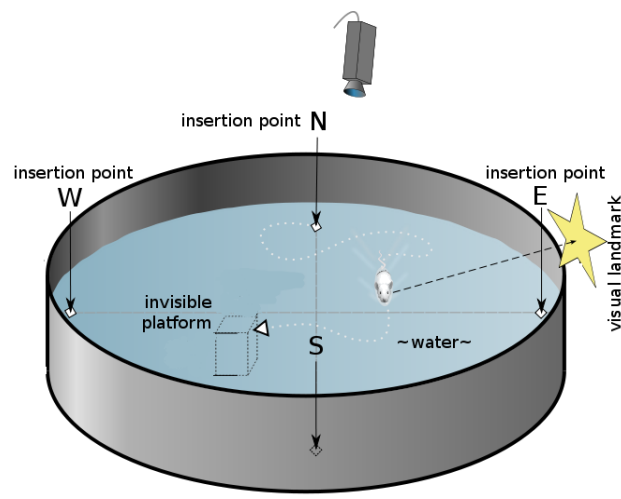


Figura 14: Labirinto aquático de Morris:

(https://en.wikipedia.org/wiki/Morris_water_navigation_task, acessado novembro2020).

4.3.2.2 Teste de memória de referência

O experimento para avaliação de memória de referência constituída de uma sessão diária com quatro tentativas durante 4 dias. Cada uma consistia em colocar o animal na água (voltado para a parede da piscina), em cada um dos pontos cardeais

marcados. Então foi permitido ao animal nadar livremente durante 60 segundos, ou até que o mesmo encontrasse a plataforma de escape. Caso a plataforma não fosse encontrada em 60 segundos, o animal era gentilmente guiado pelo experimentador até a mesma, e nela permanecia por 10 segundos. A avaliação do desempenho dos animais foi feita através da medida da latência (intervalo de tempo desde o início da tentativa até que o animal encontre a plataforma), distância percorrida até achar a plataforma, velocidade média e a distância cumulativa (somatório das distâncias totais percorridas tanto na primeira quanto na quarta tentativa nas quatro sessões de aprendizagem). De acordo com Robinson e cols., o somatório das distâncias de todas as primeiras e últimas tentativas (quarta tentativa) podem ser consideradas como medidas de memória de longa e de curta duração, respectivamente ROBINSON et al. (2010). No quinto dia foi realizado o teste comprobatório (PROBE). Nesse teste, a plataforma foi removida e permitido que o animal nadasse livremente durante 120s, e foi avaliado o tempo de permanência do animal em cada quadrante (PIRES et al., 2005). Após 24 horas do PROBE, os animais foram submetidos a uma nova sessão de memória de referência para evitar a extinção da tarefa. No dia seguinte iniciou-se o teste de memória operacional no MWM.

4.3.2.3 Teste de memória operacional

Neste teste, de forma semi-aleatória a plataforma foi mudada de posição a cada sessão (figura 15). O teste consistiu de pelo menos cinco sessões, sendo que cada sessão diária foi constituída por cinco tentativas, em cada tentativa o animal foi liberado de um dos quatro pontos cardeais sendo o primeiro ponto repetido na quinta tentativa. Tanto a ordem das saídas como a plataforma foram mudadas ao longo das sessões. As tentativas foram executadas de maneira semelhante à memória de referência, porém, após a execução de cada tentativa o animal era mantido por 1 minuto em uma caixa para ser submetido a próxima tentativa, até completar as 5 tentativas diárias. Nesta tarefa é necessário que o animal atinja um critério de aprendizagem, determinado pela capacidade do animal realizar a tarefa em um tempo inferior a 30 segundos nas últimas três tentativas da sessão durante 3 dias seguidos, (VARVEL, S. A; HAMM, R.J.; LICHTMAN, 2001, modificado). A avaliação do desempenho foi determinada pela medida da latência, distância percorrida até alcançar a plataforma e número de sessões para atingir o critério.

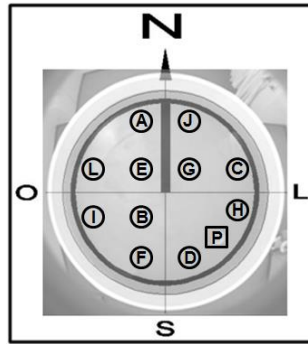


Figura 15: Representação das posições da plataforma ao longo das sessões do teste de memória operacional no MWM. O quadrado com a letra “P” representa a posição da plataforma usada nas sessões de memória de referência, a qual não foi utilizada nas sessões de de memória operacional. A exclusão dessa posição objetivou eliminar os componentes da tarefa de memória de referência (FRIELINGSDORF; THAL; PIZZO, 2006, modificado).

4.3.3 Reconhecimento de objeto

4.3.3.1 Equipamento

Foram utilizadas duas caixas quadradas de acrílico (dimensões - 45x45x45 cm) com paredes branca e maravalha cobrindo o solo (Fig. 16A).

4.3.3.2 Teste de reconhecimento de objeto (RO)

Foi utilizado um grupo separado para a avaliação deste teste. Primeiramente os animais foram ambientados por três dias consecutivos a caixa sem objetos (figura 16A). Nos dois primeiros dias a habituação consistiu em uma sessão de 20 minutos. No terceiro dia, para mimetizar a manipulação dos animais no dia do treino e teste, foram feitas duas seções de 10 minutos com um intervalo de 90 minutos entre elas. No quarto dia, iniciou-se a fase de treino, onde o animal foi colocado na caixa durante 15 minutos para a exploração livre de dois objetos idênticos posicionados no centro e separados por pelo menos 15 cm (figura 16B). Após um intervalo de 90 minutos, o animal foi novamente introduzido na caixa - na qual um dos objetos foi substituído por um novo objeto não familiar - para a exploração dos objetos durante mais 5 minutos de acordo (FRERET et al., 2012b) (Fig. 16C). O desempenho dos animais foi avaliado pelo tempo de exploração do objeto novo e do objeto familiar, assim como do índice de discriminação (% do tempo de exploração do objeto novo no tempo total da exploração). O tempo de exploração é definido como o tempo em que o animal cheira ou toca o objeto com o nariz. O maior tempo de exploração do objeto novo em relação ao objeto familiar indica que o animal recorda a exposição prévia ao objeto, sendo um

indicativo de memória de reconhecimento (AKKERMAN et al., 2012). Para excluir possíveis alterações motoras ocasionadas pelo tratamento foi avaliada a distância percorrida.

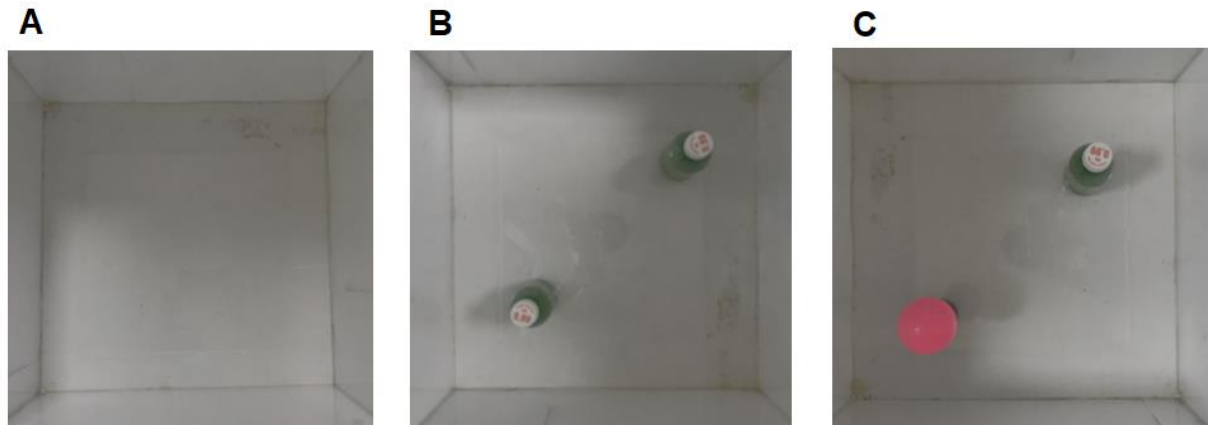


Figura 16: Reconhecimento de objeto.

4.4 Testes bioquímicos

4.4.1 Obtenção das amostras para análise bioquímicas

Vinte e quatro horas após o término dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados por decapitação, e seus cérebros foram retirados e mantidos em gelo seco. O córtex pré-frontal, hipocampo e SNc de ambos hemisférios foram rapidamente dissecados alocados em *ependorf* e armazenados a -80°C até o momento das análises bioquímicas.

4.4.2 Western blot

Para a preparação do extrato proteico da SNc, os tecidos armazenados a -80°C foram descongelados e homogeneizados em um tampão de lise gelado, contendo coquetel de inibidores de protease na proporção de 1:10 (p/v) (Sigma-aldrich). Após uma centrifugação à $12.000g$ a 4°C durante 20 min o sobrenadante foi coletado e o seu conteúdo proteico foi quantificado pelo método de Lowry (LOWRY et al. 1951). Amostras ($60\ \mu\text{g}$ de proteína) foram aplicadas em gel SDS-PAGE de concentração 12% de acordo Laemmli (1970). Após eletroforese, as proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose (Amersham, GE Healthcare, UK) sob uma tensão de 24V a 4°C *overnight*. Em seguida, as membranas foram bloqueadas por 1 hora, à temperatura ambiente, com TBST (137mM NaCl; 20mM Tris.HCl; pH 7,6; Tween0,1%

(v/v)) e 5% de leite desnatado, sob constante agitação mecânica. Posteriormente as membranas foram incubadas com o anticorpo primário anti-TH a 4 °C *overnight* (1:1000) em TBST. A imunodeteção foi realizada por incubação da membrana com anticorpo secundário (anti-mouse 1:5000) por 1 hora, seguida de lavagens com TBST. Foi utilizada substância quimioluminescente (ECL Plus, AmershamTM, GE Healthcare, UK) para revelação das bandas imunorreativas pelo ChemiDoc (Bio-Rad). (TOWBIN; STAEHELIN; GORDON, 1979). As imagens foram analisadas por meio do software ImageLab (Bio-rad).

4.4.3. PCR quantitativo em tempo real (qPCR)

O RNA total do hipocampo e do córtex pré-frontal foi extraído utilizando-se o método do Trizol (Sigma aldrich). Após a extração, o RNA foi tratado com DNase I (Sigma-Aldrich) para eliminação do DNA genômico. Para realização do PCR quantitativo (qPCR), a primeira cadeia de cDNA foi sintetizada utilizando-se iScript cDNA synthesis kit (Biorad, CA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Após a transcrição reversa, o cDNA foi submetido ao qPCR em um equipamento CFX96 qPCR (Biorad, CA, USA) utilizando o kit iQSYBR Green Supermix (Biorad, CA, USA). Resumidamente, a amplificação foi realizada em um volume final de 10 µL contendo 0,5 µL de cada *primer* (concentração inicial 10 µM), 5 µL de SYBR Green Supermix 2X e 0,5µL de cDNA não diluído (concentração inicial 1000 ng/µL). Após o passo de desnaturação inicial (95°C, 2 minutos), foram realizados 40 ciclos de amplificação de acordo com os seguintes parâmetros: 95°C, 15s; anelamento, 60°C, 30s; amplificação. Para cada experimento, uma reação sem cDNA molde foi incluída (controle negativo). A análise da curva de “*melting*” dos produtos amplificados foi feita pelo esfriamento das amostras a 60°C e, em seguida, aumentando-se a temperatura até 95°C a uma taxa de incremento de 0,1 °C/s (HILARIO et al., 2016). A quantificação relativa da expressão gênica foi feita pelo método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ utilizando a expressão do gene S12 para normalização dos dados. Os *primers* utilizados para a avaliação da expressão dos genes de interesse mostrados na tabela 1, foram desenhados utilizando o site da *Integrate dDNA Technologies* (IDT, <http://www.idtdna.com/scitools/Applications/RealTimePCR/>) e posteriormente foi realizado um *BLAST* para a confirmação da homologia e especificidade dos mesmos. Os *primers* utilizados apresentam-se listados na Tabela 1.

Tabela 1: Sequência de primers do sistema colinérgico e S12.

Gene	Referência	Sequência	Amplicon (bp)	Tm (°C)
M1R	NM_001112697.1	F:TGG TTT CCT TCG TTC TCT GG	97	69
		R: GAG GAA CTG GAT GTA GCA CTG		57
α7NR	NM_007390.3	F:AAA GAG CCAT ACC CAG ATG TC	77	58
		R: ATG AGC AGA TTG AGG CCA TAG		59
CHAT	NM_009891.2	F:CAA ATA AGT CAT AAA GGC AGA GGC	140	59
		R:CTC AAG GAA GAC TGT GCT ATG G		60
ACHE	NM_001290010.1	F: GCG CCA CCG ATA CTC TGG ACG	146	69
		R:GGG TCC CCC AAG GGG TCA CA		71
S12	NM_011295.6	F: GGA AGG CAT AGC TGC TGG	122	58
		R: CCT CGA TGA CAT CCT TGG		55

4.4.4 Atividade da Acetilcolinesterase (AChE)

A atividade da enzima AChE foi determinada no extrato proteico do córtex pré-frontal e hipocampo seguindo o método cinético - fotocolorimétrico descrito por ELLMAN et al. (1961) e modificado por PIREZ et al. (2005) de acordo com reações mostradas na figura 17. Resumidamente, o tecido foi homogeneizado em tampão fosfato 0,1 M (pH 8,2) e 1% de Triton (Triton X-100) (v/v) gelado na proporção de 1:50 (p/v) com um potter e mantido no gelo. O homogenato foi centrifugado a 7800g por 5 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C para a quantificação do conteúdo proteico e atividade enzimática (no máximo 1 mês).

Para dosagem da atividade enzimática da AChE foram utilizados 135µL do sobrenadante, 35µL de ácido ditio bisnitrobenzóico 5mM (DTNB), 10µL de acetilticolina 75mM (ATCh) e 850 µL de tampão fosfato 0,1M (pH 8,2) e 1% de Triton (Triton X-100) (v/v). A intensidade do produto formado foi detectada pela absorbância a 412 nm, registradas por 120 segundos em intervalos de 10 segundos usando espectrofotômetro de registro (UV-160A Shimadzu). Todas as amostras foram preparadas em duplicatas. A atividade foi expressa em µM de acetilticolina hidrolisada por hora por miligrama de proteína. Os níveis de proteína foram medidos pelo método de Lowry (1951).

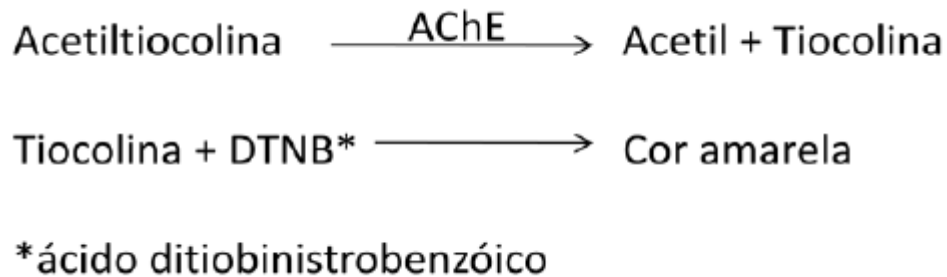


Figura 17: Método de dosagem da atividade da Acetilcolinesterase. Substrato utilizado – acetilcolina - o qual é hidrolisado pela AChE em acetato e tiocolina. A tiocolina reage com o íon ditiobinistrobenzoato (DTNB), produzindo um cromóforo de cor amarela, que absorve em 412nm.

4.5 Análise Estatística

Todas as análises bioquímicas e avaliações comportamentais foram expressas como média \pm erro padrão da média (EPM). Para a análise dos dados comportamentais (MWM, labirinto em Y e reconhecimento de objeto) foi empregada a análise de variância (ANOVA) de duas vias com ou sem medidas repetidas, dependendo do teste, seguida de teste *post-hoc* de Bonferroni. Para as análises bioquímicas e moleculares, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni. O nível de significância considerado foi $p < 0,05$ e as amostras classificadas *outlier* foram retiradas das análises. Foi utilizado o software GraphPadPrism® versão 8.0 tanto para as análises estatísticas quanto para a confecção dos gráficos.

5. RESULTADOS

5.1 Parâmetros Cognitivos

5.1.1 Memória operacional no labirinto em Y

Após um período de estabilização da lesão (72 horas) causada pela toxina MPTP os animais foram submetidos ao labirinto em Y para avaliação da memória operacional através da alternância espontânea. Não foi possível verificar um efeito da neurotoxina MPTP [F (1,64) = 0,2841; $p = 0,5959$] e da exposição ao AE [F (1,64) = 3,259; $p = 0,0757$] sobre a mesma (figura 18A), sugerindo que nem a toxina MPTP e nem a exposição ao AE provocam alterações na memória operacional examinada por esse paradigma. Além disso, os animais AEMP apresentaram uma tendência ao

melhor desempenho em relação aos APMP, porém não foi estatisticamente significativa ($p=0,0763$). Em relação a distância percorrida e o número de entradas nos braços (figura 18B e 18C), observamos um efeito da exposição ao AE ($[F(1,64)=5,924; p=0,0177]$ e $[F(1,64)=4,702; p=0,0338]$) e tratamento com MPTP ($[F(1,64)=9,533; p=0,003]$ e $[F(1,64)=9,253; p=0,0034]$), respectivamente, sobre os parâmetros assinalados anteriormente. Assim, os animais tratados com MPTP mostraram uma predisposição ao aumento dos mesmos, enquanto a exposição ao AE exibiu o efeito contrário, apesar de somente ser estatisticamente significativa entre os grupos AES e APMP ($p<0,05$).

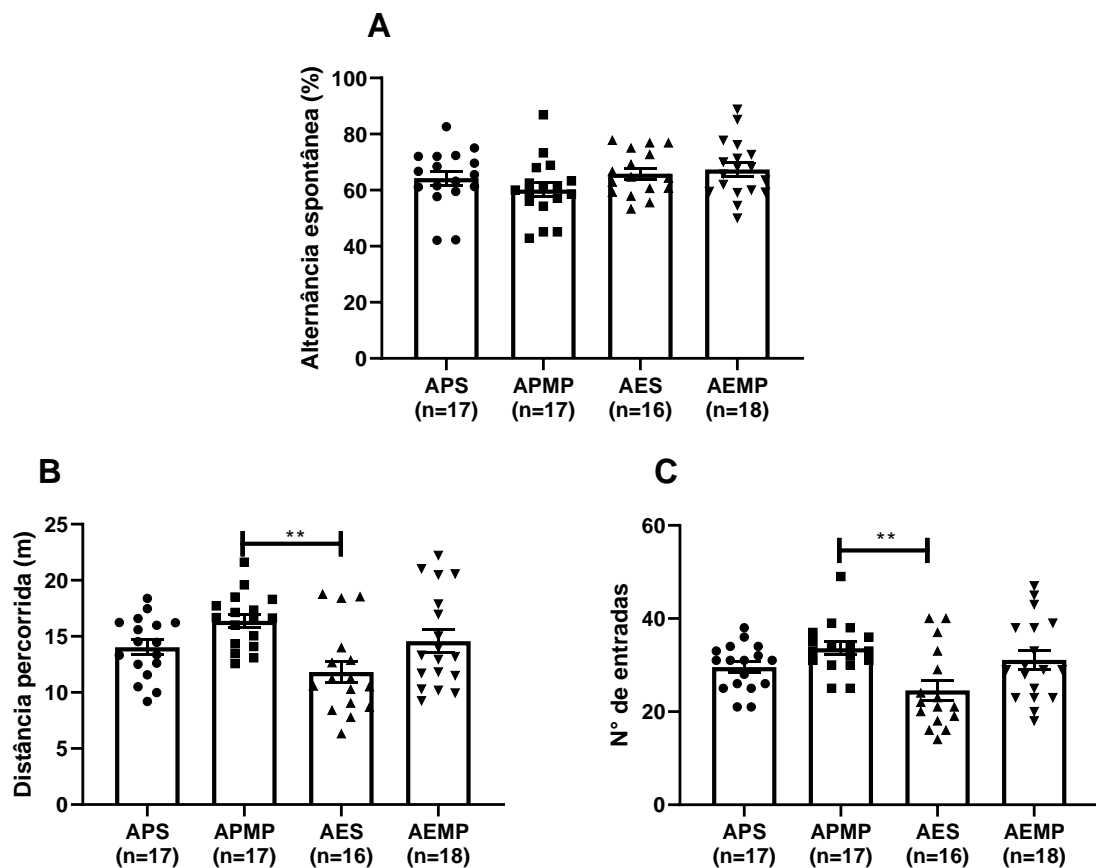


Figura 18: Desempenho da Memória operacional no labirinto em Y. Média \pm EPM da alternância espontânea (Painel A); distância percorrida (Painel B) e número de entradas nos braços (Painel C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). ** $p<0,01$.

5.1.2 Memória de referência no MWM

Observamos que todos os animais apresentaram uma diminuição da latência [$F(3,153)=52,4$; $p<0,0001$] e da distância percorrida [$F(3,153)=65,85$; $p<0,0001$] para encontrar a plataforma de escape ao longo das quatro sessões sugerindo que os mesmos aprenderam a tarefa (Figura 19A e 19B, respectivamente). Em relação à sessão diária, detectamos que o tratamento com MPTP afetou o desempenho espacial no primeiro dia do labirinto [$F(1,51)=6,152$; $p=0,0165$] e [$F(1,51)=12,34$; $p=0,0009$]. Além disso, foi possível constatar que os animais do grupo AES apresentaram um melhor desempenho durante a primeira sessão nos parâmetros mencionados acima [$F(3,51)=6,397$; $p=0,0009$] e [$F(3,51)=8,907$; $p=<0,0001$] respectivamente, entretanto não houve interação entre os tratamentos ($p>0,05$). Esta melhora no desempenho provocado pelo ambiente enriquecido, também foi verificado na distância cumulativa percorrida da tentativa 1 [$F(1,51); 5,987$; $p=0,0179$] mas não na distância acumulativa percorrida da tentativa 4 ($p>0,05$) (Figura 20A e 20B, respectivamente) sugerindo que o ambiente enriquecido tem um potencial facilitador na aprendizagem de tarefas espaciais. Com a finalidade de descartar que as mudanças comportamentais observadas sejam decorrentes de alterações motoras analisamos a velocidade média ao longo das sessões, assim observamos que os animais do ambiente enriquecido apresentam uma menor velocidade média em relação aos animais do ambiente padrão [$F(1,51)=22,28$; $p<0,0001$] (Figura 21), sugerindo que as modificações comportamentais observadas no grupo APMP são decorrentes de alterações cognitivas e não motoras.

Por outro lado, apesar dos animais APMP aprenderem a tarefa, o que foi constatado com a diminuição da latência e distância percorrida (Figura 18), eles não conseguem lembrar onde a plataforma de escape encontrava-se anteriormente no teste comprobatório (Figura 22), visto que estes animais exploraram de forma semelhante o quadrante alvo em relação ao quadrante oposto ($p>0,9999$). Entretanto, os animais do grupo AEMP passaram significativamente mais tempo do quadrante alvo em relação ao quadrante oposto ($p<0,0001$), o que indica o potencial preventivo da exposição ao AE no prejuízo cognitivo provocado pelo MPTP no modelo de Parkinson. As melhoras cognitivas provocadas pela exposição ao AE também foram constatadas no aumento do tempo de exploração do quadrante alvo dos animais AE em relação ao APMP no teste comprobatório [$F(3,51)=4,41$; $p=0,0078$]. Esta melhora

não deve estar associado com uma diminuição na flexibilidade cognitiva, pois, avaliamos o índice de extinção comportamental e não foi possível observar uma diferença estatística entre os grupos [$F(1,49)=0,6807$; $p=0,4134$] (Figura 23). Este parâmetro é calculado através da razão do tempo de exploração do quadrante alvo do primeiro minuto em relação a mesma no segundo minuto no teste comprobatório (PIRES et al., 2005).

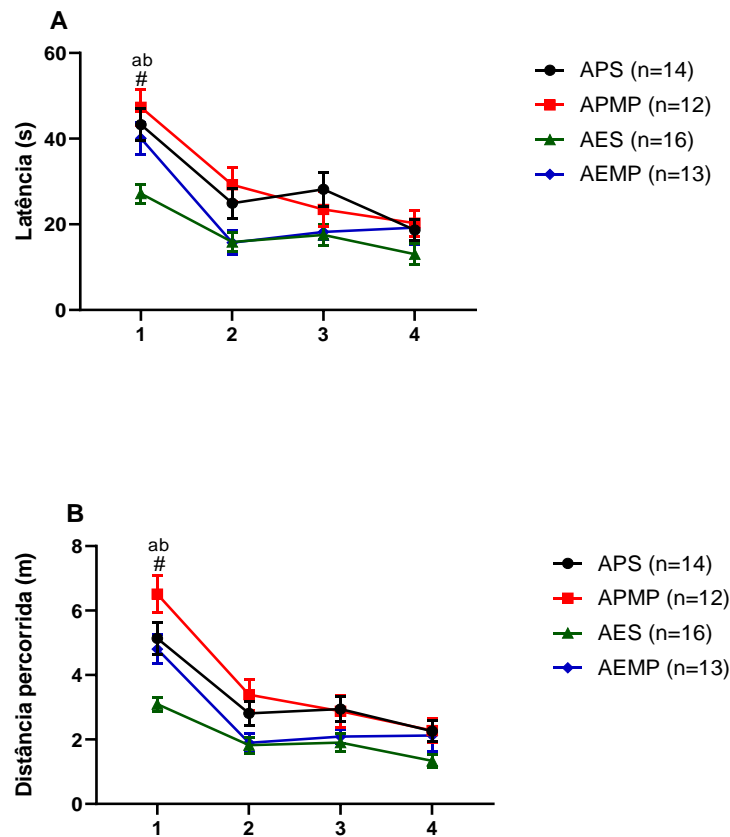


Figura 19: Desempenho dos animais durante a aprendizagem. Média \pm EPM da latência (painel A) e distância percorrida (painel B) para encontrar a plataforma de escape. Análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP).# Diferença do grupo AES em relação aos outros grupos. Efeito da toxina MPTP (a) e do ambiente (b) na sessão.

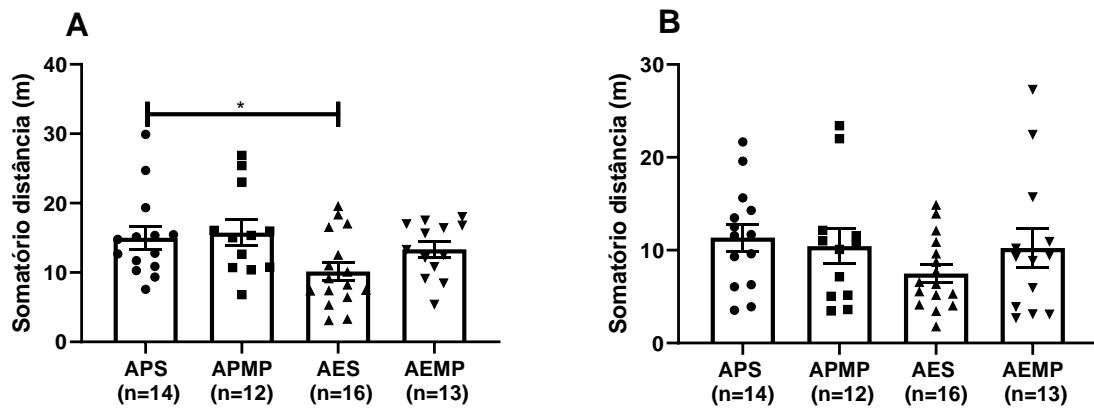


Figura 20: Distância cumulativa percorrida. Média \pm EPM distância cumulativa da tentativa 1 (painel A) e da tentativa 4 (painel B). Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). * $p < 0,05$.

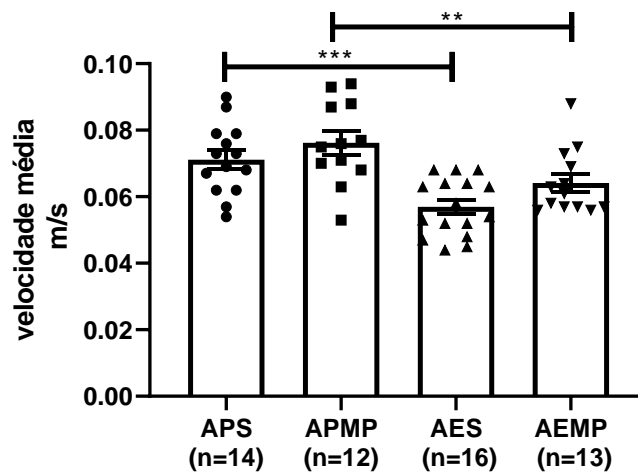


Figura 21: Velocidade média ao longo das sessões. Média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). ** $p = 0,0098$; *** $p = 0,0008$.

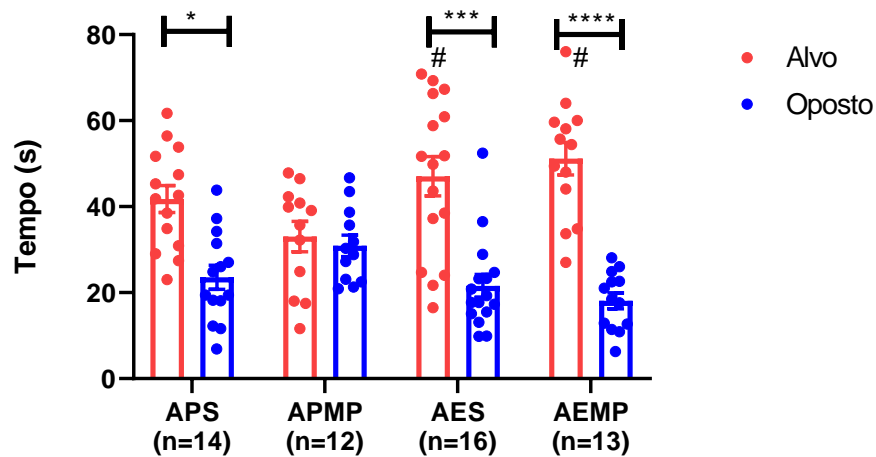


Figura 22: Desempenho dos animais no Teste comprobatório. Média \pm EPM do tempo despendido nos quadrantes alvo e oposto. Análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). # diferença em relação ao APMP. * $p=0,0144$; *** $p=0,0001$; **** $p<0,0001$.

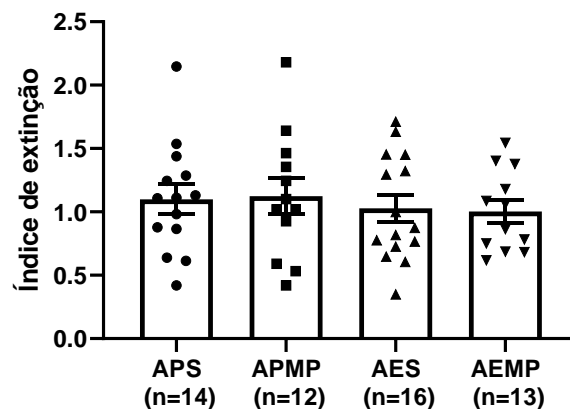


Figura 23: Índice de extinção. Média \pm SEM da razão do tempo despendido no primeiro e segundo minuto no quadrante alvo. Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP).

5.1.3 Memória operacional no MWM

Após o teste comprobatório da memória espacial de referência, os animais foram treinados de maneira semelhante às sessões de aprendizagem com a finalidade de lembrar o objetivo da tarefa (achar a plataforma de escape). No dia seguinte os

animais iniciaram o teste de memória operacional, no qual a posição da plataforma muda a cada sessão. Observamos que todos os animais são capazes de aprender a tarefa visto que todos atingem o critério de aprendizagem e, apresentaram uma diminuição da latência [$F(4,204)=13,16$; $p<0,0001$] e da distância percorrida [$F(4,204)=15,91$; $p<0,0001$] até achar a plataforma submersa ao longo das sessões (figura 24A e 24B, respectivamente). Não foi possível verificar diferença estatística entre os tratamentos ($p>0,05$), o que está de acordo com nossos dados relativos ao somatório das distâncias percorridas na quarta tentativa, a qual é uma estratégia de avaliação da memória de curta duração. Em relação ao número de tentativas para atingir o critério, também não observamos diferença entre os grupos [$F(1,51)=0,2725$; $p=0,6039$] (figura 25).

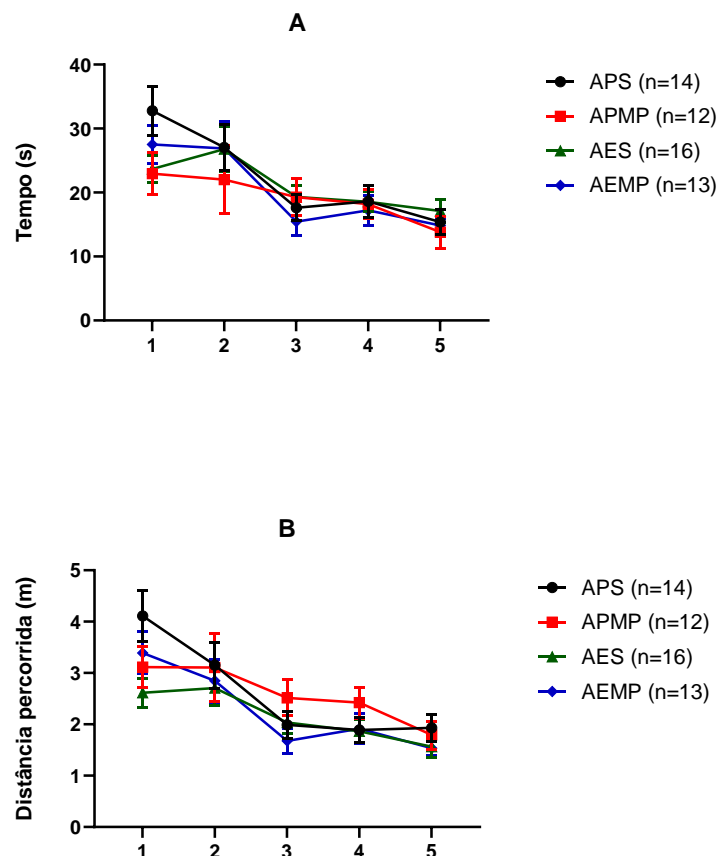


Figura 24: Desempenho dos animais durante o teste de memória operacional. Média \pm EPM da latência (painel A) e distância percorrida (painel B) para encontrar a plataforma de escape. Análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc Bonferroni.

Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP).

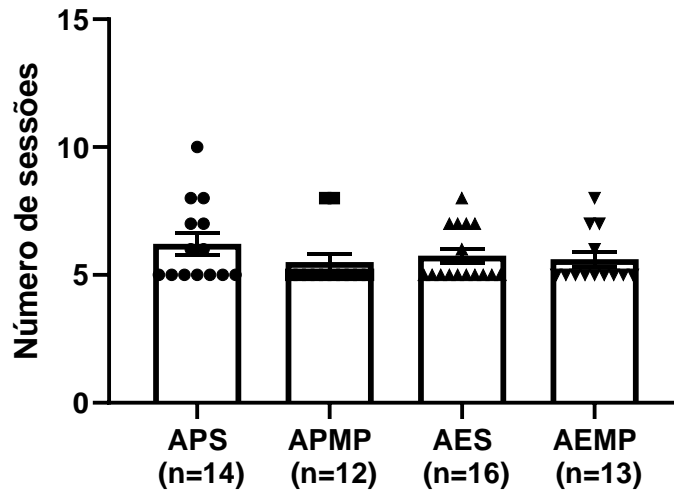


Figura 25: Número de sessões para atingir o critério de aprendizagem. Média \pm EPM do número de sessões. Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP).

5.1.4 Memória de Reconhecimento de Objeto

Foi realizado um grupo diferente para avaliação da memória de reconhecimento de objeto. Após 96 horas da última injeção com o MPTP foi iniciada a habituação do RO. Foram excluídos do teste animais que apresentaram exploração inferior a 15 segundos (LEGER et al., 2013). Na habituação avaliamos a distância percorrida pelos animais nos primeiros 5 minutos de cada sessão com a finalidade de avaliar as possíveis alterações motoras (Figura 26). Observamos um efeito do tempo ao longo das sessões. Nas sessões 2 e 3 da habituação foi observado um efeito somente do ambiente em relação a distância percorrida ($[F(1,34)=22,41; p<0,0001]$ e $[F(1,34)=7,402; p=0,0102]$, respectivamente), sugerindo que a exposição a um ambiente enriquecido diminui a exploração do aparato após a primeira habituação, onde não foi evidenciado o efeito do ambiente na distância percorrida $[F(1,34)=1,964; p=0,1701]$.

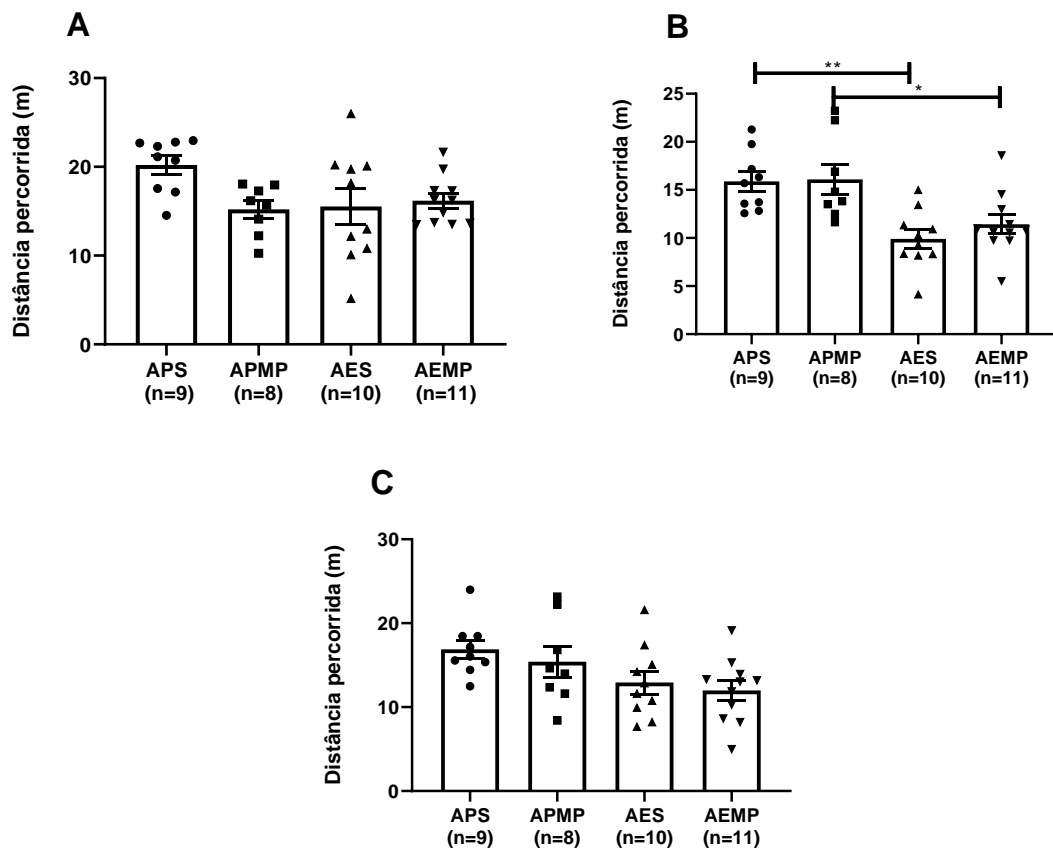


Figura 26: Habituação da memória de reconhecimento de objeto. Média \pm EPM da distância percorrida pelos animais. Painel A: na sessão de habituação 1; Painel B: na sessão de habituação 2; Painel C: na sessão de habituação 3. Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). * $p=0,0123$; ** $p=0,0012$.

No treino (Figura 27), os animais exploram os dois objetos de maneira semelhante [$F(1,34)=0,025$; $p=0,8750$] mostrando que não há preferência do animal por nenhuma localização na caixa (Figura 27A). Além disso, o tempo de exploração total dos objetos foi semelhante ($p>0,05$), entretanto, houve um efeito do ambiente na distância percorrida [$F(1,34)=36,86$; $p<0,0001$] (Figura 27B e 27C, respectivamente).

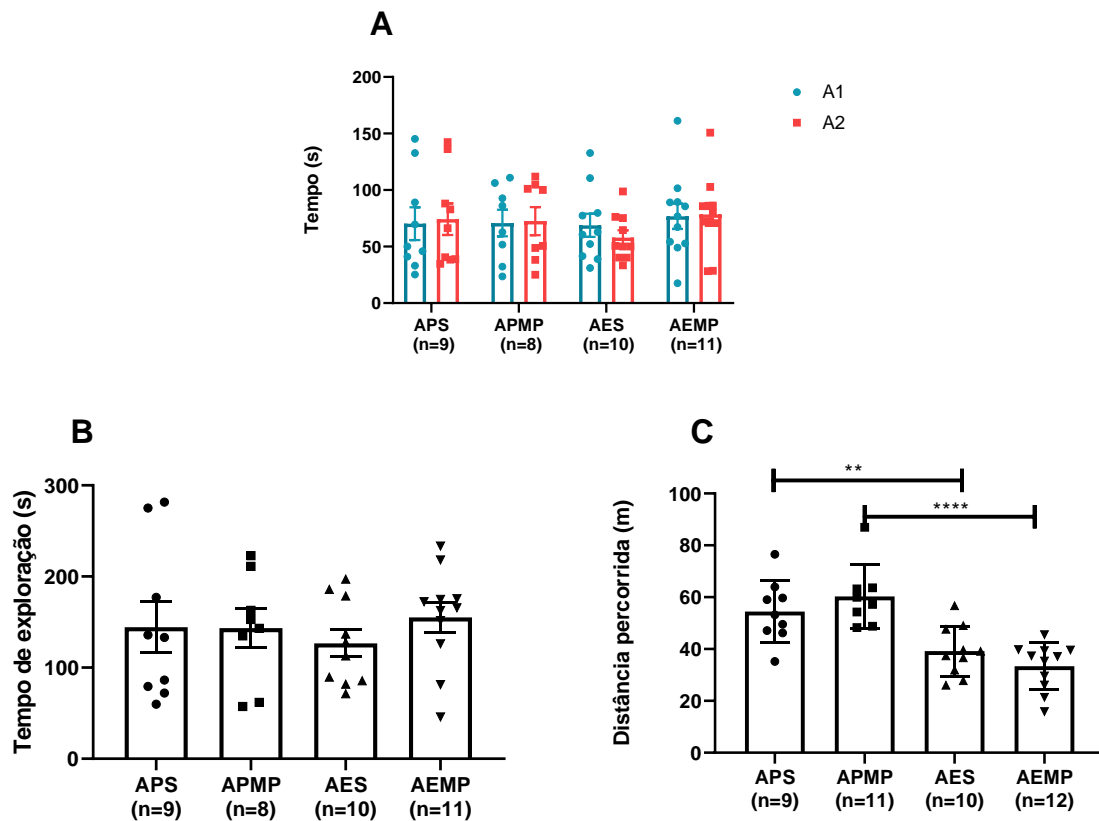


Figura 27: Treino da memória de reconhecimento de objeto. Média \pm EPM do tempo de exploração dos objetos (Painel A), do tempo de exploração total dos objetos (Painel B) e da distância percorrida (Painel C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). ** $p=0,0071$; **** $p<0,0001$.

No teste, o qual foi executado após 90 minutos do treino observamos uma diferença de exploração entre o objeto novo e familiar [$F(1,34)=11,40$; $p=0,0019$] indicando que os animais reconhecem o objeto familiar em relação ao objeto novo (Figura 28A), porém no teste de múltiplas comparações de Bonferroni o valor não foi significativo para nenhum grupo ($p>0,05$), possivelmente pela variação interna dos grupos ou pelo número diminuído de animais para este teste comportamental o qual variou entre 8 a 11 animais após análises. Além disso, foi analisado o índice de reconhecimento de objeto (Figura 28B), no qual não foi evidenciado o efeito da exposição ao AE ou do MPTP no desempenho dos animais ([$F(1,34)= 3,495$; $p=0,0702$] e [$F(1,34)=1,375$; $p=0,2492$], respectivamente). A exposição ao ambiente enriquecido também afetou a distância percorrida no teste [$F(1,34)=16,61$; $p=0,0003$] sem afetar o tempo de exploração total aos objetos [$F(1,34)=0,2855$; $p=0,5966$]

(Figura 28C e 28D, respectivamente). Assim, podemos sugerir que todos os grupos discriminam o objeto novo do familiar, como mostrado pelo tempo de exploração do novo em relação ao familiar e o índice de reconhecimento.

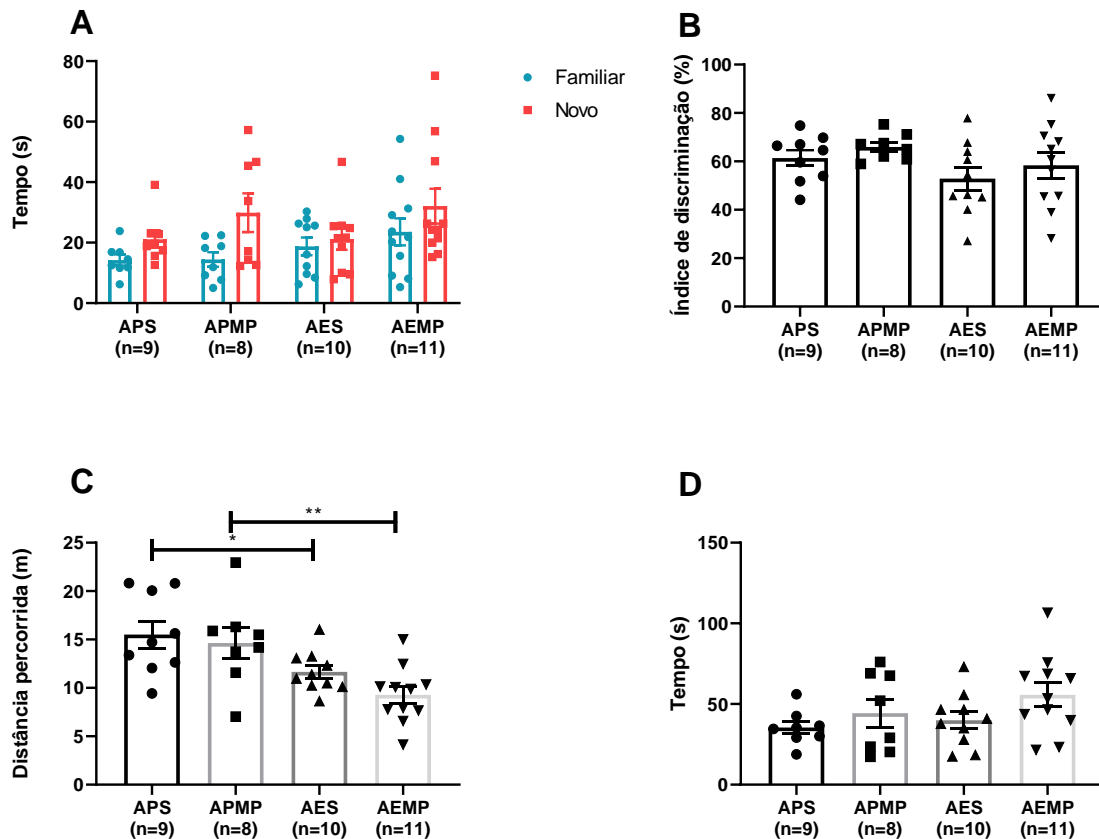


Figura 28: Teste da memória de reconhecimento de objeto. Média \pm EPM do tempo de exploração do objeto novo e familiar (Painel A), do índice de discriminação (Painel B), da distância percorrida (Painel C) e tempo de exploração total (Painel D). Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). * $p=0,042$; ** $p=0,0041$.

5.2 Parâmetros Bioquímicos

5.2.1 Expressão proteica da Tirosina Hidroxilase na SNc

Com o objetivo de confirmar a morte dos neurônios dopaminérgicos pela toxina MPTP realizamos um Western blot na SNc para TH (figura 29). Observamos uma diminuição proteica de aproximadamente 50% nos níveis de TH nos animais tratados com MPTP [$F(1,12)=45,44$; $p<0,0001$], a qual não foi revertida pela exposição ao AE [$F(1,12)=0,5171$; $p=0,4859$].

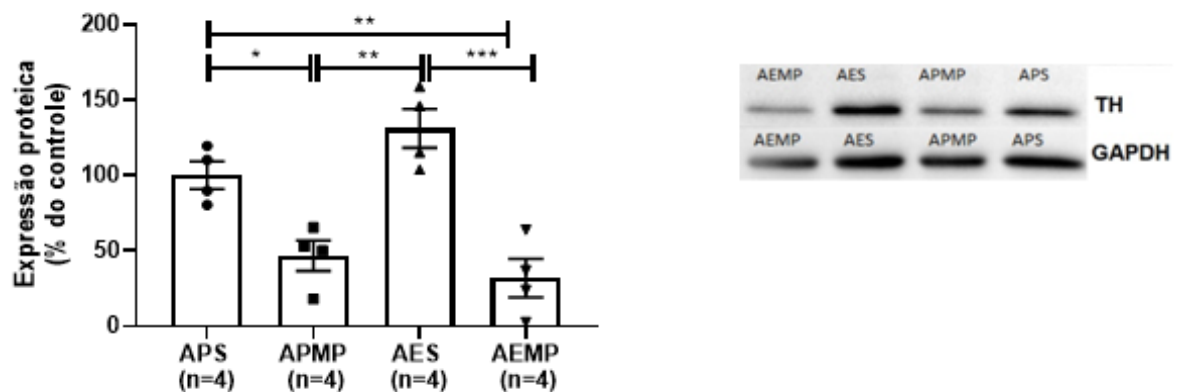


Figura 29: Expressão proteica da Tirosina hidroxilase na parte compacta da substância negra. Média \pm EPM da porcentagem do nível proteico da TH normalizado pelo GAPDH. Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

5.2.2 Expressão gênica do sistema colinérgico

Em busca de compreender melhor os efeitos da toxina parkinsoniana MPTP sobre o sistema colinérgico, avaliamos a expressão gênica de alguns componentes do mesmo no hipocampo e córtex pré-frontal, por qPCR. Avaliamos a expressão dos receptores alfa 7 e M1 e as enzimas de síntese e degradação (ChAT e AChE, respectivamente). No hipocampo (figura 30), não observamos diferença significativa em nenhum parâmetro avaliado ($p > 0,05$), assim como, não houve efeito do tratamento com a toxina MPTP e/ou a exposição ao AE sobre estes ($p > 0,05$).

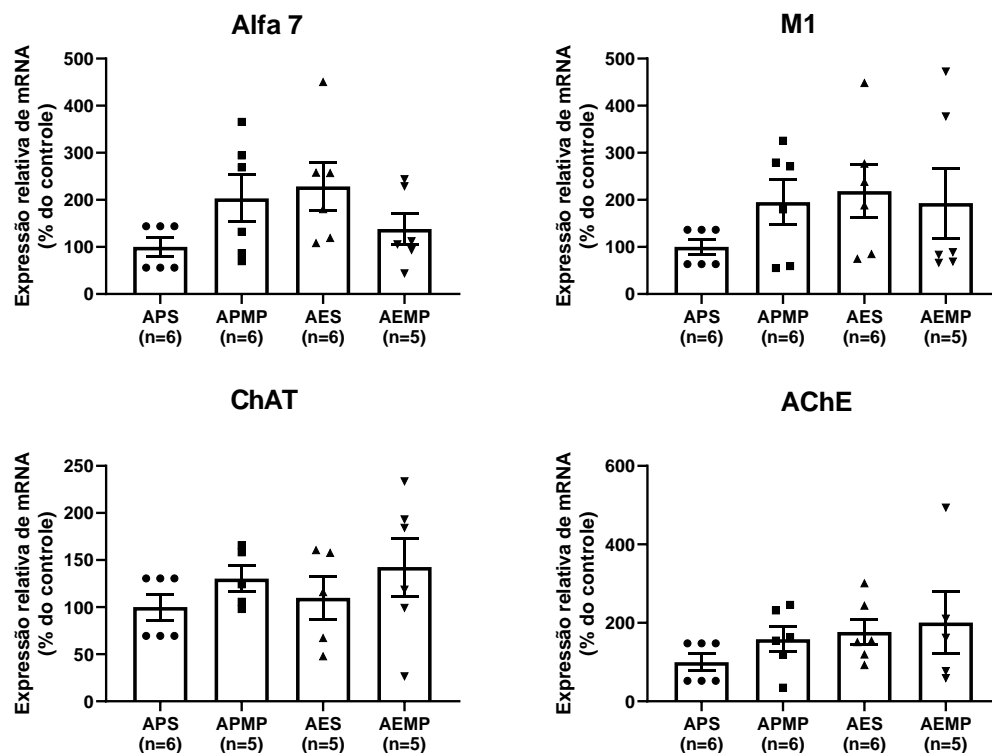


Figura 30: Expressão relativa de mRNA do sistema colinérgico no hipocampo. Os dados foram normalizados pelo gene S12 e apresentados como média \pm EPM da porcentagem de expressão do receptor alfa 7 e M1, enzima colina acetiltransferase (ChAT) e acetilcolinesterase (AChE). Análise de variância (ANOVA) de duas vias. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP).

Em relação ao córtex pré-frontal (figura 31), verificamos uma influência da exposição ao ambiente enriquecido sobre os níveis do receptor alfa 7 [$F(1,19)=5,830$; $p=0,0260$] ocasionando um aumento dos mesmos, entretanto após o post-hoc de Bonferroni, esta diferença não foi significativa entre os grupos salina ($p=0,0967$) e os tratados com MPTP ($p=0,3796$). Além disso, a exposição ao AE também influenciou a expressão da enzima AChE [$F(1,18)=9,673$; $p=0,006$] apresentando uma diferença entre os animais do grupo AES em relação ao APS ($p=0,032$). Não houve diferença entre os grupos na avaliação da expressão gênica do receptor M1 e a enzima ChAT no córtex pré-frontal ($p>0,05$).

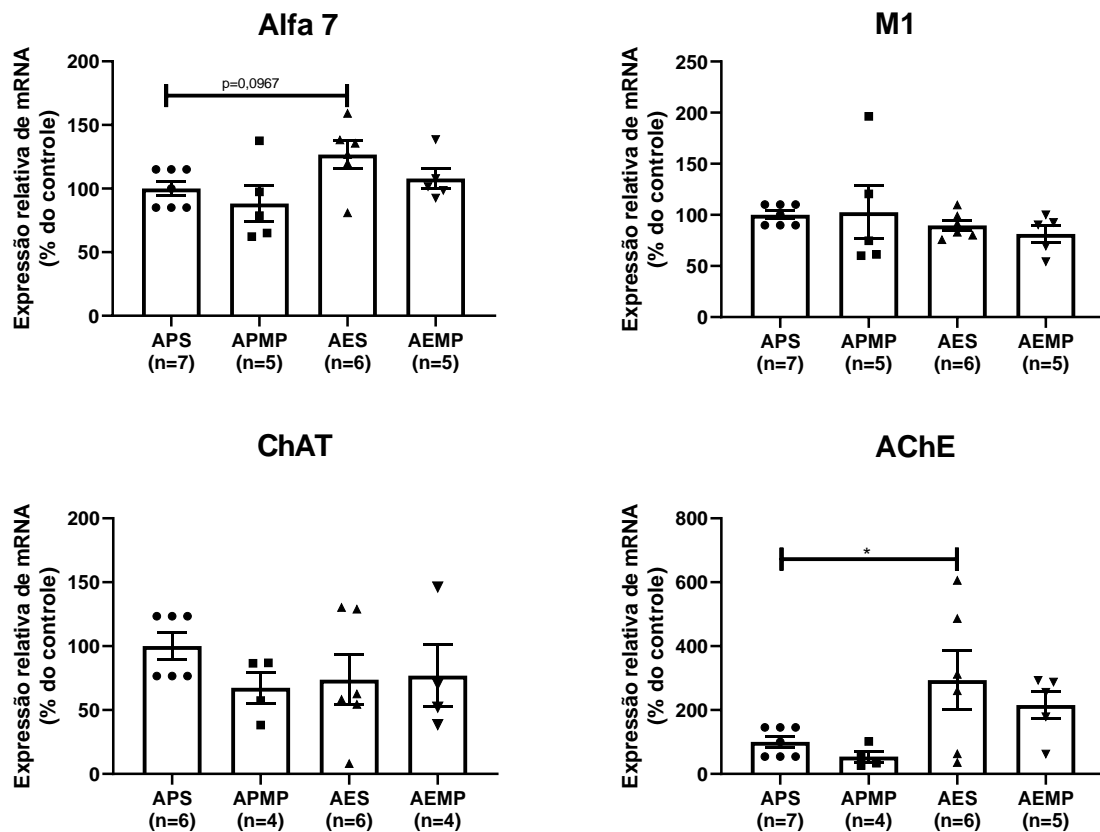


Figura 31: Expressão relativa de mRNA do sistema colinérgico no córtex pré-frontal. Os dados foram normalizados pelo gene S12 e apresentados como média \pm EPM da porcentagem de expressão do receptor alfa 7 e M1, enzima colina acetiltransferase (ChAT) e acetilcolinesterase (AChE). Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP). * $p=0,0320$.

5.2.3 Determinação da atividade enzimática da acetilcolinesterase

Como observamos uma alteração dos níveis de RNA mensageiro (RNAm) da enzima AChE no córtex pré-frontal, decidimos avaliar se essa alteração na expressão gênica era refletida na sua atividade nesta região e no hipocampo e, para isso, realizamos o ensaio cinético da mesma. Não observamos alteração significativa da atividade enzimática entre os grupos, nem efeito do tratamento com MPTP ou da exposição ao AE, em nenhuma das duas regiões estudadas ($p>0,05$) (Figura 32). Esses dados mostram que, mesmo com o nível de RNAm aumentado no córtex pré-frontal, a atividade da enzima permaneceu inalterada.

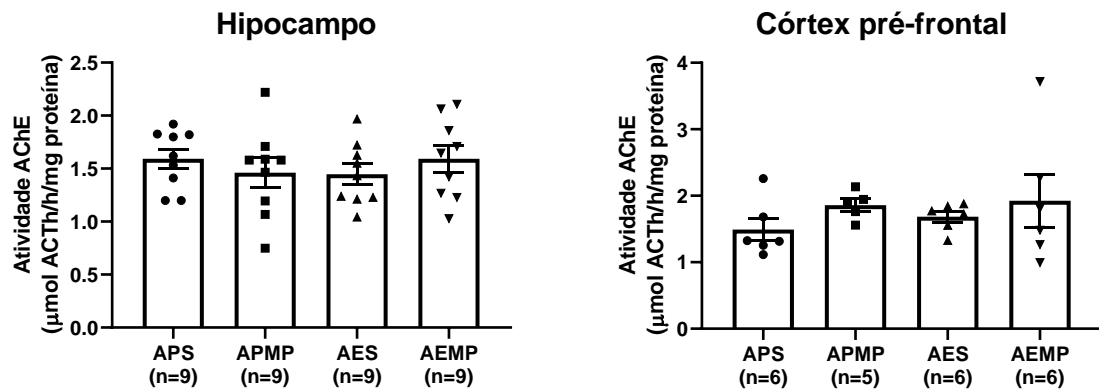


Figura 32: Atividade enzimática da acetilcolinesterase no hipocampo e córtex pré-frontal. Média±EPM da atividade da acetilcolinesterase em μmoles de acetiltiocolina hidrolizados /hora/mg de proteína. Análise de variância (ANOVA) de duas vias. Ambiente padrão salina (APS), ambiente padrão MPTP (APMP), ambiente enriquecido salina (AES), ambiente enriquecido MPTP (AEMP).

6. DISCUSSÃO

Prejuízos cognitivos na doença de Parkinson são frequentes, apresentando-se em 30 a 60% dos pacientes (KATUNINA; TITOVA, 2017; MONASTERO et al., 2018). Esses danos aparecem desde estágios iniciais ou precedem o diagnóstico da doença e progridem rapidamente (PIGOTT et al., 2015; SANTANGELO et al., 2015), se manifestam de diversas formas, sendo classificados por domínios, como memória, atenção, linguagem, funções visuoespaciais e executivas (LAWRENCE; GASSON; LOFTUS, 2016), dificultando seu melhor entendimento. Neste contexto, sabe-se que a exposição ao AE atua como uma estratégia não-farmacológica neuroprotetora em doenças neurodegenerativas através de adaptações bioquímicas e comportamentais (CHO; KANG, 2020; SILVA et al., 2020; WEI et al., 2020). Além disso, o AE é amplamente usado na modificação de processos cognitivos (MORA-GALLEGOS et al., 2015; OHLIN; ABRAHAM, 2019; SALE, 2018). Deste modo, nosso objetivo foi avaliar se a exposição ao AE previne os possíveis comprometimentos cognitivos em um modelo murino da DP e se os mesmos estavam associados com alterações do sistema colinérgico. Verificamos que a toxina parkinsoniana MPTP provocou prejuízo na memória de referência espacial sem afetar a memória operacional e de curta duração, embora, não afetou nenhum dos parâmetros colinérgicos avaliados neste trabalho. Além disso, a exposição ao ambiente enriquecido não somente preveniu as alterações cognitivas induzidas neste modelo como também provocou uma melhora

cognitiva em relação ao controle, e incrementou a expressão gênica do receptor alfa 7 no córtex pré-frontal, o qual pode estar relacionado com o benefício cognitivo apresentado por nós neste trabalho.

O MPTP causa características neuroquímicas e imuno-histológicas muito semelhantes às dos pacientes com DP, sendo portanto um recurso útil para estudar os mecanismos neurodegenerativos relevantes para a doença (HUANG et al., 2017, 2018; SCHILDKNECHT et al., 2017), embora existam muitas divergências nos resultados comportamentais utilizando a mesma, como discutiremos a seguir.

Dentre os danos cognitivos observados nos pacientes com DP os relacionados com as tarefas executivas e memória operacional são os mais comuns e estão presentes nos estágios iniciais (LAWRENCE; GASSON; LOFTUS, 2016; PEREIRA et al., 2015). No intuito de examinar este domínio intelectual usamos o labirinto em Y em uma única sessão de 8 min., sendo assim um teste simples, com baixo manuseio animal e com poucos fatores estressores, visto que utiliza a curiosidade inata do animal para explorar ambientes desconhecidos (DEACON; RAWLINS, 2006; KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019). Além disso, apresenta poucas variações no protocolo facilitando a sua reprodutibilidade. Não observamos diferenças entre os grupos na alternância espontânea apesar de haver uma tendência ao melhor desempenho nos animais do grupo AE, como mostrado pela análise estatística. Diversos modelos da doença de Parkinson têm evidenciado uma diminuição na alternância após o uso da toxina (AMIN; HASSAN; RASHED, 2018; LI et al., 2011; YADAV; PANDEY; SINGH, 2017), enquanto outros não mostraram a mesma (COSTA; SIMOLA; MORELLI, 2014; KIM et al., 2015; MORIGUCHI; YABUKI; FUKUNAGA, 2012). Os protocolos empregados pelos autores supracitados são semelhantes ao nosso na maioria das vezes, uma vez que não realizaram uma exposição prévia ao aparato. Entretanto existem divergências com relação a linhagem do animal, dose da toxina e sexo dos animais (AMIN; HASSAN; RASHED, 2018; KIM et al., 2015; YADAV; PANDEY; SINGH, 2017, respectivamente) os quais podem estar intimamente relacionados com as discordâncias observadas. Em consonância com isto, Moriguchi e cols utilizando o mesmo esquema de administração da toxina, sexo e linhagem dos animais do nosso estudo, não revelaram decréscimo na alternância espontânea avaliada na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª semanas após a última administração da droga (MORIGUCHI; YABUKI; FUKUNAGA, 2012). Também, os animais não apresentaram

alteração no número de braços visitados, em desacordo com nossos achados que mostram que o MPTP possui um efeito sobre este parâmetro, entretanto no nosso estudo o labirinto em Y foi executado com um intervalo de 3 dias ao invés de 7 dias da última administração da toxina. Além disso, verificamos um efeito da toxina sobre a distância percorrida, isto está em concordância com dados prévios do nosso laboratório, nos quais animais tratados com MPTP apresentaram uma hiperlocomoção após três dias da última administração da toxina (HILARIO et al., 2016). Ainda, Zhang e cols. sugerem que este efeito pode ser resultado de uma ação compensatória da depleção dopaminérgica inicial (ZHANG et al., 2017).

O AE tem se mostrado eficiente na modificação dos déficits apresentados nesta tarefa em modelo animal de envelhecimento (HE et al., 2017), demência vascular (PARK et al., 2017) e na doença de Alzheimer (PRADO LIMA et al., 2018), embora, outros autores não verificaram o mesmo efeito (COTEL et al., 2012). Além disso, um trabalho anterior de nosso laboratório também não verificou melhora cognitiva do grupo ambiente enriquecido em relação ao grupo controle em modelo animal de acidente vascular encefálico (GONÇALVES et al., 2018).

No presente estudo, o labirinto aquático de Morris foi utilizado para avaliar tanto a memória espacial de referência quanto a operacional. Deste modo, esta ferramenta pode ser empregada no estudo de diversos paradigmas cognitivos além dos citados anteriormente, como a memória de recuperação, reversão e função sensorio-motora (VORHEES; WILLIAMS, 2006; WEITZNER et al., 2015). Nossos resultados mostraram que o MPTP e a exposição ao ambiente enriquecido apresentaram um efeito sobre o tempo e distância percorrida para achar a plataforma de escape na primeira sessão da curva de aprendizagem, entretanto, este não persistiu ao longo das sessões. Ainda, o grupo APMP revelou comprometimento na recuperação da memória no teste comprobatório, visto que exploraram de maneira semelhante o quadrante alvo e o oposto, estes efeitos foram revertidos pelo ambiente enriquecido. Na literatura, já foi descrito que o MPTP é capaz de induzir um aumento no tempo para achar a plataforma de escape em relação aos animais controle (IGGENA et al., 2019; WANG et al., 2018) e diminui o tempo de exploração do quadrante alvo no teste comprobatório (DEGUIL et al., 2010; TANG et al., 2020; YUAN et al., 2018). Por outro lado, alguns trabalhos não observaram alteração na curva de aprendizagem (POTHAKOS; KURZ; LAU, 2009; PREDIGER et al., 2006), sem a realização do teste

comprobatório. Além disso, há autores que somente viram modificações neste último parâmetro (LUCHTMAN; MENG; SONG, 2012). Dentre os variados fatores que influenciam as ações do MPTP, podemos citar o intervalo entre a última administração com MPTP e a execução do teste (KLEIN et al., 2016). Neste estudo foram analisados os efeitos de curto e longo prazo do exercício sobre a memória de referência, utilizando 10 ou 28 dias de exercício respectivamente, com isto, o tempo após a última administração do MPTP variou de 14 para 32 dias. Os autores verificaram que, o tratamento com a toxina causou um ligeiro incremento na latência no primeiro dia de treino sem interferir o teste comprobatório no componente que avalia a memória de curta duração. Entretanto, no que se refere ao componente de longa duração, foram evidenciadas alterações unicamente no teste comprobatório. Ademais, nesse estudo, foi constatado apenas um decréscimo nos níveis de dopamina no hipocampo desses animais sugerindo que os danos cognitivos são acentuados com a progressão da doença (KLEIN et al., 2016). Ainda, dando suporte a diversidade de resultados obtidos no labirinto aquático, Tang e cols. (2017), após a realização do labirinto aquático de Morris separaram os animais tratados com MPTP em dois grupos: animais parkinsonianos sem prejuízo (PDCN) e animais parkinsonianos com prejuízo cognitivo leve (PD-MCI) usando o tratamento crônico com MPTP, indicando que nem todos os animais desenvolvem alterações cognitivas (TANG et al., 2017), também alguns autores mostram que o tratamento crônico apresenta uma maior extensão nas alterações bioquímicas em comparação aos tratamentos agudos e subcrônico (MEREDITH; RADEMACHER, 2011; MUÑOZ-MANCHADO et al., 2016).

Em relação à memória operacional utilizando o labirinto aquático, não observamos diferença entre os grupos em nenhum dos parâmetros avaliados. O protocolo de memória de operacional utilizado por nós foi diferente ao empregado por alguns autores, os quais observaram prejuízo nesta tarefa (DEGUIL et al., 2010; FERRO et al., 2007; PREDIGER et al., 2006). Nestes estudos, os animais foram treinados com quatro tentativas durante quatro dias e a plataforma foi trocada de posição a cada sessão diária, estes animais não foram previamente treinados para análise da memória de referência. Esse pré-treino na memória de referência espacial pode ter prevenido o efeito do MPTP. Sabe-se que o pré-treino melhora o desempenho em tarefas cognitivas (ALARCON et al., 2020; PIRES et al., 2005), assim

como, a prática cognitiva é capaz de reverter o comprometimento cognitivo leve em pacientes (DUFF et al., 2008; HILL et al., 2017).

Por outro lado, nossos dados evidenciam que os animais expostos ao ambiente enriquecido apresentaram um desempenho superior tanto na aquisição da tarefa quanto na retenção da memória de referência, o que indica que a exposição ao AE melhora as habilidades cognitivas de camundongos no labirinto aquático de Morris (GARTHE; ROEDER; KEMPERMANN, 2016). Além disso, a exposição ao AE tem revelado seu potencial no tratamento cognitivo da Alzheimer (BLÁZQUEZ et al., 2014; PRADO LIMA et al., 2018a), lesão intracraniana (PASSINEAU; GREEN; DIETRICH, 2001; RADABAUGH et al., 2016), Doença de Huntington (SKILLINGS; WOOD; MORTON, 2014), isquemia cerebral (GONÇALVES et al., 2018), esclerose múltipla (SILVA et al., 2020), entre outros. Contudo há escassos relatos do mesmo em modelo pré-clínico utilizando o MPTP, sendo que os sintomas motores foram avaliados na maioria dos estudos (Para revisão JUNGLING; REGLODI; TAMAS, 2018). Yuan et al. (2018) mostraram que a exposição ao AE durante três meses provocou uma melhora cognitiva tanto na curva de aprendizagem quanto no teste comprobatório, e reverteu os prejuízos ocasionados pelo tratamento agudo com a toxina (YUAN et al., 2018). Outros estudos, verificaram os benefícios da atividade física voluntária na redução do dano cognitivo causado pela toxina sobre a curva de aprendizagem no labirinto aquático (IGGENA et al., 2019; KLEIN et al., 2016).

Por fim, foi realizado o teste de reconhecimento de objeto avaliando a memória de curta duração, o qual é baseado na predisposição natural dos roedores à exploração espontânea do objeto novo em relação ao familiar (ENNACEUR; DELACOUR, 1988; RENÉ MISSLIN; ROPARTZ1, 1981). Apesar da simples execução o uso de diferentes abordagens metodológicas dificulta a comparação entre os estudos e, ainda, estas variações podem depender da linhagem, ciclo estral, condições do intervalo entre treino e teste, manipulação prévia do animal e habituação ao aparato (LEGER et al., 2013; OKUDA; ROOZENDAAL; MCGAUGH, 2004; VAN GOETHEM et al., 2012).

A fase de habituação foi feita com a finalidade de amenizar o estresse ocasionados pelo novo ambiente (BESHEER; BEVINS, 2000). Nesta, observamos uma diminuição na distância percorrida nos animais expostos ao ambiente enriquecido, em consonância com outros trabalhos que mostraram uma minoração

neste parâmetro no campo aberto (BRENES et al., 2016; BRENES; PADILLA; FORNAGUERA, 2009; ROJAS-CARVAJAL et al., 2018). Este decréscimo parece ser influenciado pelo tempo de exposição ao ambiente enriquecido (ELLIOTT; GRUNBERG, 2005). Entretanto, não observamos diferenças no tempo de exploração durante o treino e teste, embora exista uma redução no deslocamento em ambas situações, isto pode ser ocasionado por uma exploração inicial maior seguida de um declínio ao longo do tempo (ROJAS-CARVAJAL et al., 2018; VARTY et al., 2000), o que pode ser relacionado com uma habituação mais rápida destes animais (BRENES; PADILLA; FORNAGUERA, 2009). Em concordância com isto, Brenes e cols. obtiveram resultados semelhantes aos nossos nestes quesitos evidenciando uma atenuação da atividade locomotora em todas as etapas do RO sem afetar o tempo de exploração dos objetos no treino. Contudo eles verificaram uma melhora cognitiva no reconhecimento espacial em relação aos animais controle após a exposição ao AE durante 5 semanas (BRENES et al., 2016). Esta diminuição na atividade locomotora provavelmente não está associada a um dano motor ou fadiga, visto que a exposição ao AE melhora e restaura o desempenho motor (HILARIO et al., 2016; MAEGELE et al., 2015; MARQUES et al., 2014).

Apesar de haver uma diferença estatística entre a exploração do novo objeto em relação ao familiar, não foi possível elucidar quais grupos apresentaram a mesma. Contudo, mostramos que a toxina MPTP não causou alterações cognitivas no teste de reconhecimento de objeto de curta duração. Autores verificaram esse prejuízo utilizando uma dose semelhante à nossa após um período de pelo menos 3 (MORIGUCHI; YABUKI; FUKUNAGA, 2012) ou 4 semanas (HAGA et al., 2019) da última administração da toxina. Outros, observaram modificações em ratos (HO et al., 2014) e após 24 horas da última administração (COSTA; SIMOLA; MORELLI, 2014), o que pode ser explicado pelas mudanças dinâmicas na neurodegeneração. Estas modificações foram descritas no sistema dopaminérgico a partir do tratamento agudo com a toxina (HUANG et al., 2017, 2018). Neste último trabalho, Huang e cols. observaram prejuízos no *rotarod* somente após 35 dias e uma recuperação dos danos motores depois de 65 dias da administração com MPTP (HUANG et al., 2018). Xie e cols., utilizando a dose de 25 mg/kg uma vez por dia durante 5 dias, mostraram que os níveis de DA e TH embora não se equiparem com o controle eles aumentam com o transcorrer do tempo (XIE et al., 2020). Sabe-se que no tratamento agudo com

MPTP os níveis DA retornam com 42 dias (JACKSON-LEWIS et al., 1995). Além disso, Zhang e cols. postulam que os efeitos verificados após a administração da toxina dependem do nível de depleção dopaminérgica, assim quando esta é menor de 80%, o animal apresenta uma hiperatividade comportamental e, quando ultrapassa os 80% aparecem os sintomas comportamentais da doença, entretanto, não postula qual nível de depleção é necessária para evidenciar o início da hiperatividade (ZHANG et al., 2017).

Em relação ao AE, os grupos expostos ao mesmo exibiram um índice de reconhecimento inferior aos animais expostos ao ambiente padrão, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Isto pode ser explicado por uma atenuação do interesse pelos objetos pelos animais AE, devido ao contato constante a novos artefatos (LEGER et al., 2013), provocando uma redução na exploração dos mesmos (LEGER et al., 2012; MODLINSKA; CHRZANOWSKA; PISULA, 2019). A maioria dos autores verificaram uma melhora cognitiva após a exposição ao AE (DINIZ et al., 2016; LEAL-GALICIA et al., 2008; LEGER et al., 2015; TANG et al., 2001), enquanto outros não distinguiram este efeito (PRADO LIMA et al., 2018a; VIOLA et al., 2010). A diversidade de protocolos usados na exposição ao AE causa esta heterogeneidade de resultados o que dificulta a interpretação dos mesmos (REDOLAT; MESA-GRESA, 2012). Leger e cols. analisaram diferentes tempos de exposição ao AE (24h, 1-3-5 semanas) em parâmetros cognitivos e de ansiedade. Referente à cognição, o AE melhorou a performance a partir da primeira semana de exposição e este efeito é mantido por pelo menos 5 semanas no RO (LEGER et al., 2015). Outro critério a ser considerado é o tempo de início desta exposição, Chandler e cols. mostraram que animais expostos precocemente, 35 dias após o nascimento, apresentaram uma maior influência do AE na cognição comparado aos expostos a partir de 90 dias utilizando o labirinto aquático de Morris (CHANDLER et al., 2020). Com o intuito de avaliar estes dois parâmetros citados anteriormente, Mesa-Gresa e cols. compararam diferentes períodos de enriquecimento (6-4 e 2 meses) com distintos tempos de início à exposição do AE (28-91 e 154 dias após o nascimento). Neste trabalho foi constatada uma diminuição na exploração dos animais expostos precocemente e durante 6 meses ao AE no campo aberto (MESA-GRESA; RAMOS-CAMPOS; REDOLAT, 2021).

Em relação aos parâmetros bioquímicos, a perda aproximada de 50% dos níveis proteicos da TH na SNc, está em consonância com dados prévios de nosso grupo, o qual mostrou uma redução de 60% nos níveis de DA no estriado após 15 dias da última administração com MPTP utilizando a mesma dose os quais também não foram revertidos pelo AE (HILARIO et al., 2016). Uma redução semelhante à nossa está relacionada com o aparecimento dos primeiros sintomas motores (CHENG; ULANE; BURKE, 2010; DIJKSTRA et al., 2014; FEARNLEY; LEES, 1991). Estas informações indicam que as modificações observadas neste trabalho podem ser relacionadas com as de aparecimento precoce da DP.

Em comparação com os sintomas motores, pouco se sabe sobre os mecanismos subjacentes ao declínio cognitivo na DP. A sua complexidade pode advir da variedade de neurotransmissores, dopaminérgico e não dopaminérgicos, envolvidos nos sintomas cognitivos (HALLIDAY et al., 2014). Conseqüentemente, o uso de drogas antiparkinsonianas tradicionais podem melhorar, piorar ou não apresentar efeito sobre os danos cognitivos (POLETTI; BONUCCELLI, 2013; VAILLANCOURT et al., 2013).

Em relação às regiões cerebrais envolvidas pacientes com PD-MCI demonstraram um padrão de perda do volume cortical no córtex parietal e frontal, e atrofia no hipocampo, a qual está relacionada com o declínio cognitivo (MAK et al., 2015; YILDIZ et al., 2015). Esses achados indicam que as alterações bioquímicas iniciais relacionadas aos processos cognitivos acontecem preferencialmente nestas áreas. Além disso, a degeneração do núcleo basal Meynert precede e pode predizer o comprometimento cognitivo (SCHULZ et al., 2018), uma vez que esses núcleos se projetam para todo o neocórtex (para revisão, LIU et al., 2015). No córtex pré-frontal esta projeção está relacionada com a atenção (DALLEY et al., 2004; NEWMAN; MCGAUGHY, 2008) e o hipocampo também recebe projeções colinérgicas relacionadas com alterações cognitivas (CAMICIOLI et al., 2003; LA et al., 2019). Ainda, Brück e cols. examinaram pacientes em estágios iniciais da DP, nos quais observaram uma atrofia no hipocampo e córtex pré-frontal, os quais se relacionavam com um dano na memória e atenção respectivamente (BRÜCK et al., 2004).

O desequilíbrio dopamina-acetilcolina pode afetar o comportamento motor e cognitivo (CALABRESI et al., 2013; FAROMBI et al., 2020). Os efeitos da acetilcolina são mediados por receptores nicotínicos e muscarínicos, neste trabalho investigamos

a expressão gênica dos receptores alfa 7 e M1 no hipocampo e córtex pré-frontal. Em relação ao receptor nicotínico alfa 7, o mesmo tem sido extensamente associado à atenção (HOYLE et al., 2006; YOUNG et al., 2007), e sua ativação com uma melhora cognitiva (MARDER, 2016; MEDEIROS et al., 2014). Dessa forma, seu uso tem sido estudado em doenças como Alzheimer (MA; QIAN, 2019), esquizofrenia (TREGELLAS; WYLIE, 2019) e Parkinson (TIZABI; GETACHEW, 2017). Não evidenciamos uma diferença estatística na expressão dos receptores alfa 7 e M1 no hipocampo e no córtex pré-frontal após o tratamento com MPTP, apesar de verificar um aumento na média da expressão do receptor alfa 7 no hipocampo. Estudos post mortem mostram uma diminuição dos receptores nicotínicos em pacientes com DP (COURT et al., 2000; PERRY et al., 1995), assim como do receptor alfa 7 (BURGHAUS et al., 2003) e alfa-4 beta-2 (PIMLOTT et al., 2004). Rinne e cols. observaram uma redução dos receptores nicotínicos e uma correlação negativa entre o grau da demência e o número de receptores (RINNE et al., 1991). Com o intuito de avaliar se estes receptores modulam o desenvolvimento da doença, Morissete e cols. (2016) estudaram os níveis do receptor em pacientes com DP e macacos tratados com MPTP e notaram que níveis normais do receptor no estriado estão ligados com alterações motoras moderadas, e seu aumento relacionado com LID, mostrando o potencial modulador do receptor nas complicações da doença (MORISSETTE et al., 2016). Além disso, Kulak e Schneider (2004) utilizando diferentes protocolos de administração da toxina MPTP em macacos, separaram os animais em: tratamento agudo, crônico assintomático e sintomático. Eles evidenciaram que animais com tratamento crônico assintomático apresentaram níveis elevados do receptor alfa-7 em algumas regiões e sugeriram que este aumento inicial pode ser um efeito compensatório para manter as funções motoras e cognitivas adequadas nos estágios iniciais da DP (KULAK; SCHNEIDER, 2004).

Em relação ao receptor M1, outro foco de estudo desse trabalho, trata-se do receptor muscarínico mais abundante no hipocampo (SCARR et al., 2016) e sua estimulação apresenta efeitos procognitivos (para revisão ERSKINE et al., 2019). Estudos de neuroimagem usando radioligantes não seletivos relatam níveis elevados de mAChRs no córtex frontal (ASAHINA et al., 1998) e lobo occipital (COLLOBY et al., 2006) em pacientes com estágio avançado da DP. Esses dados são corroborados por alguns estudos *post mortem* (LANGE et al., 1993; PERRY et al., 1990). No

entanto, este incremento separado por subtipos de mAChRs é menos claro. Alguns trabalhos tem mostrado que os níveis do receptor M1 permanecem inalterados no hipocampo, córtex (RINNE et al., 1989; SHIOZAKI et al., 2001), e estriado (MCOMISH et al., 2017; PIGGOTT et al., 2003), enquanto outros observaram um aumento no córtex, diminuição no estriado e nenhuma alteração no hipocampo (LANGE et al., 1993). Além disso, foi observada uma redução desses receptores em pacientes com PDD e demência provocada por corpos de Lewy (PIGGOTT et al., 2003; SHIOZAKI et al., 2001) o que sugere que sua alteração está relacionada com a progressão da doença e está de acordo com nossos achados, os quais não se apresentaram alterados.

No presente estudo, o tratamento com MPTP não alterou o nível da expressão gênica da ChAT no córtex pré-frontal e no hipocampo, embora o tratamento com MPTP tenha causado uma diminuição na média da expressão do RNAm da ChAT quando comparado ao grupo controle no córtex pré-frontal. Uma diminuição da atividade desta enzima tem sido observada no hipocampo e córtex frontal em estudos *post mortem* em pacientes com DP (RUBERG et al., 1982), e também no córtex pré-frontal e temporal (MATTILA et al., 2001). Esta redução no córtex pré-frontal foi correlacionado com o declínio cognitivo observado nestes pacientes (MATTILA et al., 2001). Além disso, em animais tratados com a toxina MPTP foi vista uma diminuição na expressão proteica da mesma no bulbo olfatório (YANG et al., 2019), embora esta redução não foi observada no hipocampo (ZHANG et al., 2020). Ainda, Hall e cols. (2014) verificaram que pacientes com PDD tiveram uma redução da atividade neocortical da ChAT sem degeneração dos núcleos basais de Meynert, indicando um comprometimento funcional sem alteração estrutural dos neurônios, o que não foi verificado no hipocampo (HALL et al., 2014), sugerindo que as fibras colinérgicas que inervam o córtex são mais sensíveis na DP. Também não evidenciamos diferenças em relação a enzima AChE nas regiões acima mencionadas, estando de acordo com dado prévio do nosso laboratório, no qual essa expressão foi examinada no mesencéfalo (HILARIO et al., 2016). Entretanto, diversos autores sugerem que a toxina MPTP causa uma diminuição da expressão da mesma no cérebro total (LV et al., 2012), no estriado (ALI et al., 2019), na substância negra parte compacta e córtex pré-frontal (YADAV; PANDEY; SINGH, 2017). Este efeito pode ser desencadeado por um ação compensatória da perda dos neurônios colinérgicos (RUBERG et al., 1986)

ou pela inibição reversível desta enzima através do MPTP (ZANG; MISRA, 2003). Uma das limitações para a compreensão dos nossos resultados, deve-se a variação dentro do grupo MPTP, a qual pode ser ocasionada pela heterogeneidade da degeneração colinérgica (BOHNEN et al., 2006, 2012). Assim, mais estudos são necessários para avaliar o efeito do MPTP sobre o desequilíbrio colinérgico.

Em relação ao ambiente enriquecido, observamos que a exposição ao mesmo indziu um aumento na expressão do RNAm do receptor alfa 7 e da enzima AChE no córtex pré-frontal, enquanto os outros parâmetros avaliados não apresentaram mudanças, embora, o incremento da expressão gênica da AChE não foi refletido na atividade da mesma. A AChE possui outras funções, além da degradação da ACh, como adesão celular, crescimento de neurites e sinaptogênese (PARAOANU; LAYER, 2008; TRANG; KHANDHAR, 2020). Vale ressaltar que alguns autores observaram um aumento da atividade da AChE em cérebros de camundongos após a exposição ao AE (ROSENZWEIG et al., 1978; ROSENZWEIG; BENNETT, 1996). Enquanto, outros autores não evidenciaram este efeito (NAWAZ et al., 2018; PRADO LIMA et al., 2018), sendo estes últimos em consonância com nossos achados que mostram que apesar do aumento na expressão gênica da AChE, a sua atividade não é alterada em relação aos animais do ambiente padrão. Por fim, o nível aumentado do receptor alfa 7 no córtex pré-frontal, pode atuar como um facilitador de processos cognitivos como mencionado anteriormente. Já foi visto que o exercício aumenta os níveis destes receptores no hipocampo e núcleo accumbens (ALBUQUERQUE; TORNISIELO, 2016). Ainda, a exposição ao AE reverteu os prejuízos cognitivos provocados pelo acidente vascular encefálico e a diminuição dos receptores alfa 7 no hipocampo observados neste modelo (YUAN et al., 2020). Vale ressaltar que as alterações na expressão gênica nem sempre se refletem em modificações nos níveis da proteína (CHEN et al., 2016; MOUSAVI et al., 2003), assim como em sua atividade (LIEDHEGNER, E. S.; AMY SASMAN, AND HILLARD, 2014; SCHOBBER et al., 1997).

Assim, no capítulo 1 do presente trabalho, mostramos os benefícios cognitivos da exposição ao ambiente enriquecido na prevenção das alterações cognitivas na memória de referência nos animais induzidos ao parkinsonismo, assim como, seus efeitos *per se*. Deste modo uma exposição precoce, desde a infância, a diversos estímulos positivos como educação formal, exercício, dança, entre outros, podem ser benéficas na prevenção das possíveis alterações cognitivas presentes em pacientes

com DP. Também apresentamos evidências da participação do sistema colinérgico nesta melhora cognitiva. No entanto, estudos complementares são necessários para corroborar esta hipótese. Neste sentido, é interessante avaliar se o bloqueio do receptor alfa 7 é capaz de reverter os efeitos cognitivos verificados neste trabalho, bem como, a funcionalidade do mesmo.

7. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 1

- A exposição ao ambiente enriquecido melhora o desempenho cognitivo no labirinto aquático de Morris através de uma diminuição no tempo de latência e distância percorrida para achar a plataforma de escape;
- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 25mg/kg provoca prejuízo na memória de referência no labirinto aquático de Morris;
- A exposição ao ambiente enriquecido previne o prejuízo cognitivo provocado pela droga parkinsoniana MPTP no labirinto aquático de Morris;
- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 25mg/kg e a exposição a um AE não induziram alterações na memória operacional avaliada no MWM e no labirinto em Y;
- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 25mg/kg e a exposição a um AE não induziram alterações na memória de reconhecimento de objeto de curta duração;
- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 25mg/kg não modificou a expressão gênica do sistema colinérgico nos componentes avaliados;
- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 25mg/kg não modificou a atividade da AChE no hipocampo e córtex pré-frontal;
- A exposição ao ambiente enriquecido incrementou a expressão gênica da AChE sem causar mudança na sua atividade no córtex pré-frontal.
- A exposição ao ambiente enriquecido aumentou a expressão gênica do receptor alfa 7 no córtex pré-frontal, sem alterar os níveis da mesma no hipocampo.

CAPÍTULO 2: Efeito do tratamento com CTEP nas possíveis alterações motoras, cognitivas e bioquímicas em animais tratados com a toxina parkinsoniana MPTP e seu efeito sobre a apoptose em cultura primária de neurônios corticais.

8. OBJETIVOS

8.1 Objetivo geral: Avaliar se o CTEP atua no tratamento das alterações motoras, cognitivas e bioquímicas provocadas pela droga parkinsoniana MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina) em camundongos C57Bl/6. Além disso, avaliar se o CTEP modifica o efeito da neurotoxina MPP⁺ (1-methyl-4-phenylpyridinium) em cultura primária de neurônios corticais.

8.2 Objetivos específicos

- ◆ Avaliar se o CTEP é capaz de reverter as alterações motoras induzidas pela droga parkinsoniana MPTP;
- ◆ Avaliar se o CTEP é capaz de reverter as possíveis alterações cognitivas induzidas pela droga parkinsoniana MPTP;
- ◆ Avaliar o nível proteico da enzima tirosina hidroxilase da parte compacta da substância negra;
- ◆ Avaliar se o CTEP é capaz de reverter a apoptose provocada pelo MPP⁺ em cultura primária de neurônios corticais.

9. MATERIAIS E MÉTODOS

9.1 Animais e droga

9.1.1 Animais:

Foram usados camundongos machos da linhagem C57Bl/6N (n=67) com idade entre 6-7 semanas (20-25g), os quais foram comprados do Laboratório Charles River (Sherbrooke, QC, Canadá) e mantidos durante toda a experimentação na Neurobehavioral Core Facility no Instituto de Pesquisa Robarts da Universidade Western de Ontario (Canadá). Os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 4 animais sobre um ciclo claro-escuro de 12:12h e receberam água e ração comercial *ad libitum*. Todos os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do Conselho Canadense de Cuidado Animal e previamente aprovados pelo comitê de cuidados com animais da Universidade Western de Ontario (protocolo AUP 2018-073).

9.1.2 Grupos experimentais:

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, de acordo com o tratamento:

- **Salina / Veículo (SS):** Animais que receberam administração de salina e posteriormente foram tratados com veículo.
- **Salina / CTEP (SCT):** Animais que receberam administração de salina e posteriormente foram tratados com CTEP.
- **MPTP / Veículo (MPS):** Animais que receberam administração de MPTP durante 5 dias e posteriormente foram tratados com veículo.
- **MPTP / CTEP (MPCT):** Animais que receberam administração de MPTP durante 5 dias e posteriormente foram tratados com CTEP.

9.1.3 Modelo da DP

A droga utilizada para induzir a DP, como no capítulo 1, foi o MPTP (Sigma aldrich,USA), o qual foi dissolvido em salina (NaCl 0,9%) na concentração de 10 mg/mL e as alíquotas armazenadas a -80°C. No dia da utilização as alíquotas foram

diluídas para a concentração de 3 mg/mL e administrada na dose de 30 mg/kg. Os animais foram submetidos a uma administração diária de MPTP ou salina durante 5 dias consecutivos por via intraperitoneal. A dose utilizada foi baseada em diversos trabalhos, nos quais a dose de 30 mg/kg foi eficaz na depleção da dopamina estriatal (MORAES et al., 2016; SWANSON et al., 2013; YU et al., 2008).

9.1.4 Tratamento com CTEP

O tratamento com CTEP (Axon Medchem, Groningen, The Netherlands), na dose 2mg/kg diluído em DMSO 1% (v/v), foi realizado utilizando-se de um pudim de chocolate como veículo a cada 48h durante 12 dias (ABD-ELRAHMAN et al., 2017). O CTEP foi inicialmente diluído em 100% de DMSO na concentração 25 mg/mL e armazenado em alíquotas a -80°C, e para a sua utilização foi diluído em pudim de chocolate na concentração de 0,25 mg/mL. Duas semanas antes de iniciar o tratamento com MPTP os animais foram treinados para a ingestão espontânea do pudim de chocolate usando 200 µL de pudim. 24 horas após o término das administrações do MPTP iniciou-se o tratamento com CTEP na dose de 2mg/kg a cada 48 horas. Foram realizadas 6 administrações com CTEP e 48h após a última administração, os animais foram eutanasiados.

9.2 Delineamento experimental

Com o objetivo de avaliar se o tratamento com o CTEP era capaz de atenuar a perda dos neurônios dopaminérgicos e seus efeitos motores e cognitivos em um modelo murino da doença de Parkinson, animais foram tratados com CTEP na dose de 2mg/kg a cada 48h durante 12 dias (figura 33).

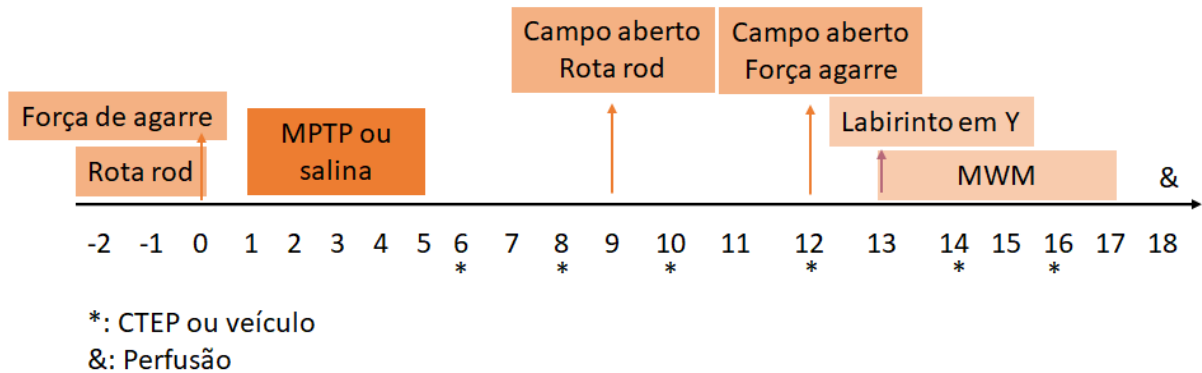


Figura 33: Representação esquemática do delineamento experimental do capítulo 2. Tratamento das alterações cognitivas e motoras usando o CTEP em modelo murino da DP.

9.3 Testes Motores

9.3.1 Campo aberto

9.3.1.1 Equipamento

O Campo aberto consiste em um sistema de 8 caixas quadrada de acrílico (40 x 40 cm) (Omnitech Electronics, Columbus, OH) monitoradas pelo software fusion v5.6 VersaMax edition (Omnitech Electronics) (figura 34).

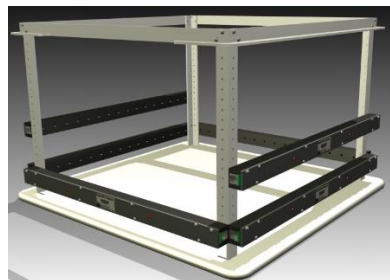


Figura 34: Campo aberto (Fonte: <http://www.omnitech-electronics.com>).

9.3.1.2 Atividade locomotora

O campo aberto é comumente usado para avaliar a atividade locomotora de animais em diversos modelos experimentais. No presente estudo, os animais foram habituados na sala durante 30 min antes do teste. O teste consistiu em posicionar o animal no centro da caixa e permitir sua livre locomoção dentro do aparato durante 5 min (HILARIO et al., 2016). A atividade locomotora foi registrada pelos sensores ao longo dos eixos. Durante o teste foi avaliada a distância percorrida.

9.3.2 *Rotarod*

9.3.2.1 Equipamento

O *Rotarod* consiste em uma caixa automatizada AccuRotor 4-Channel Rotarod (Omnitech Electronics, Columbus, OH) monitorada pelo software fusion v5.6 VersaMax edition (Omnitech Electronics). O aparato cujas dimensões são de 49 cm x 48 cm x 58 cm, possui um cilindro transversal de 3 cm de diâmetro a aproximadamente 38 cm do piso do equipamento, mantido em rotação através de um motor. A caixa é dividida em quatro baias, de aproximadamente 11 cm de largura, permitindo assim a análise de quatro animais simultaneamente (figura 35).

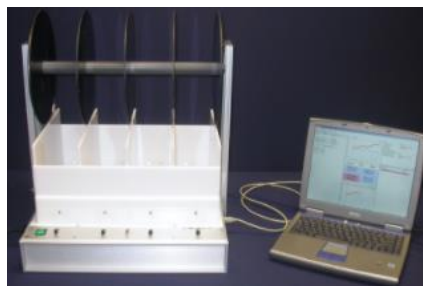


Figura 35: *Rotarod* (Fonte: <http://www.omnitech-electronics.com>).

9.3.2.2 Coordenação motora

O *Rotarod* é utilizado para avaliar a coordenação motora, equilíbrio e aprendizagem motora em roedores (DEACON, 2013; SHIOTSUKI et al., 2010). O treino e o teste foram realizados de maneira semelhante. O treino foi realizado durante três dias seguidos antes da administração do MPTP, enquanto o teste foi feito quatro dias após a última administração do MPTP, no dia 9. O animal foi colocado sobre o cilindro sem movimento e a velocidade foi aumentando gradativamente de 4 até 40 rotações por minuto em um intervalo de 5 minutos (CAMPOS et al., 2013; MONVILLE; TORRES; DUNNETT, 2006). Cada sessão consistiu em 4 tentativas com um intervalo mínimo de 30 minutos entre cada. A tentativa termina quando o animal cai do cilindro, neste momento é registrado a latência da queda.

9.3.3 Teste de Força de agarre (*Grip test*)

9.3.3.1 Equipamento

O equipamento utilizado é um medidor de força da Columbus Instruments. Constituído por uma base e um pedestal que suporta e orienta o medidor de força. O

animal deve segurar a barra de tração, acoplada ao medidor de força, e os resultados foram expressos em N (figura 36).



Figura 36: Medidor de força de agarre (*grip test*). (Fonte: https://www.robarts.ca/research/core_facilities/neurobehavioral_core_facility)

9.3.3.2 Teste de força de agarre

O teste de força de agarre foi usado para medição de força muscular (BROOKS; DUNNETT, 2009). Os camundongos foram treinados no dia zero de experimentação para garantir que não existissem diferenças prévias entre os grupos. No treino e no teste, os animais foram permitidos de segurar a barra de tração com seus membros anteriores e posteriormente eram puxados pela cauda de maneira horizontal. A força aplicada à barra foi registrada quando o animal soltava a mesma. Cada animal executou 5 tentativas com um intervalo de pelo menos 10 minutos entre cada e foram excluídos da análise o menor e maior valor de cada animal (MORAES et al., 2016).

9.4 Testes Cognitivos

9.4.1 Labirinto em Y

9.4.1.1 Equipamento

Labirinto com formato de Y construído de PVC branco com três braços idênticos (30 x 6 cm) posicionados em ângulos iguais (Figura 13).

9.4.1.2 Teste de memória operacional

O teste de memória operacional utilizando o labirinto em Y foi executado como descrito no item 4.3.1.2 do capítulo 1. A sessão foi filmada e analisada pelo software AnyMaze®.

9.4.2 Labirinto aquático de Morris (MWM)

9.4.2.1 Equipamento

O MWM consistiu em uma piscina circular de 130 cm de diâmetro por 50 cm de altura na cor branca, dividida em quatro quadrantes imaginários, preenchida com água. Pistas espaciais foram colocadas na parede da sala para auxiliar na orientação espacial do animal. Em um dos quadrantes, foi posicionada uma plataforma submersa, a 0,75 cm da superfície da água. A piscina foi marcada com os quatro pontos cardeais equidistantes, sendo que a plataforma foi posicionada no quadrante sudeste (MORRIS, 1984) (Figura 14).

9.4.2.2 Teste de memória de referência

O teste de memória de referência foi executado como descrito no item 4.3.2.2 do capítulo 1. Entretanto, durante à aprendizagem foram analisadas a distância percorrida e velocidade média, enquanto no teste comprobatório o tempo de exploração do quadrante alvo e oposto. Todas as sessões foram analisadas pelo software AnyMaze®

9.5 Testes Bioquímicos

9.5.1 Imunohistoquímica

9.5.1.1 Anestesia, perfusão e criocortes

Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina (80 mg/kg e 13 mg/kg, respectivamente) por via intraperitoneal. Após a certificação da ausência de reflexo, foi realizada a toracotomia para a exposição do coração. Em seguida, utilizando uma agulha (0,36x1,5mm) foi realizada a cardiopunção no ventrículo esquerdo, seguindo de uma incisão no átrio direito. A agulha foi previamente conectada a uma bomba peristáltica (Gilson, Minupuls evolution), e os animais foram infundidos com uma solução salina (0,9% NaCl) durante 5 minutos, seguida, de solução fixadora composta por paraformaldeído 4% em tampão fosfato-salino (PBS) durante 10 minutos.

Ao final do processo de perfusão os encéfalos foram removidos e pós fixados por 24 horas em solução de paraformaldeído 4% em PBS e posteriormente crioprotetidas em uma solução de sacarose 30% em PBS durante 48 horas a 4°C.

Após este período os cérebros foram congelados em Optimal Cutting Temperature (OCT) e gelo seco durante 2 horas ou até o completo congelamento. Os cérebros congelados foram armazenados em -80°C até serem cortados.

Posteriormente, o tecido foi seccionado a $15\ \mu\text{m}$ de espessura no plano coronal usando um criostato de congelamento (Leica, Alemanha). As seções foram coletadas sequencialmente e montadas em lâminas cobertas com gelatina na facility Molecular Pathology e armazenadas a -80°C para posterior marcação.

9.5.1.2 Marcação para Tirosina Hidroxilase (TH)

As lâminas foram descongeladas por pelo menos 1h e lavadas com PBS. Posteriormente, foram fixadas com metanol gelado por 10min e secadas a temperatura ambiente. Após uma nova lavagem com PBS as lâminas foram tratadas com peróxido de hidrogênio 0,3% (H_2O_2) durante 30 minutos para bloqueio da atividade das peroxidases endógenas. Depois foram novamente lavadas para posterior bloqueio com soro de cabra 4% em triton 0,3% PBS por 2h a temperatura ambiente. Em seguida, foram incubadas overnight a 4°C com o anticorpo primário policlonal anti-TH (1:200, cat T2928-Sigma- Aldrich) em soro de cabra 2%. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com PBS-T (triton 0,3% PB) e incubadas com anticorpo secundário durante 1h. Finalmente, foram lavadas com PBS e incubadas com 3,3',4,4'tetrahidrocloroeto-diaminobenzidina (DAB, abcam), utilizada como cromógeno, seguindo as instruções do fornecedor, com posterior lavagem. As lâminas receberam uma contracoloração com hematoxilina de Mayer, sendo desidratadas e posteriormente clareadas com xilol e cobertas com meio de montagem (Entellan, Merck) e lamínulas para análise no microscópio. As imagens foram digitalizadas no microscópio óptico Olympus BX45 e software Image-Pro Plus (Leeds, Minneapolis, MN, EUA) e a perda neuronal dopaminérgica foi realizada pela análise semi-quantitativa da densidade óptica utilizando-se o software Image J. A área cerebral estudada foi identificada utilizando o atlas para cérebro e rato de (PAXINOS; WATSON, 2006).

9.6 Cultura primária de neurônios corticais

9.6.1 Preparação das placas de cultura

Para os testes com cultura primária de neurônios corticais foram utilizadas placas de cultura de células de quatro poços (Nunc Cell-Culture Treated Multidishes, Thermo Fisher Scientific K.K., Yokohama, Japan) sensibilizadas com 400 uL de solução Poli-L-Ornitina (PLO) em água ultra pura *overnight*, posteriormente a solução é removida e lavada com água ultrapura. Esperar a secagem das placas para sua utilização.

9.6.2 Preparação do cultivo primário de neurônios corticais

As culturas de células neurais foram preparadas a partir do córtex cerebral de embriões no dia 13-15 de gestação (FORTIN et al., 2001, com modificações) de camundongos selvagens CD-1. Os embriões foram obtidos após a eutanásia materna por deslocamento cervical com uso de anestésico, o mesmo utilizado na perfusão (ver a sessão 10.5.1.2), imersos em solução Hank's Balanced Salt Solution (HBSS, livre de cálcio e magnésio) e mantidos no gelo. O tecido cortical foi obtido através da microdissecção com auxílio de um microscópio em ambiente asséptico. Posteriormente o tecido foi submetido a digestão por tripsina durante 30 min á 37°C, seguido, de e dissociado mecanicamente com pipeta Pasteur polida. Os neurônios foram ressuspendidos em meio Neurobasal™ (Thermo Fisher Scientific) suplementado com N-2 e B-27® (Invitrogen), GlutaMAX™ (Gibco™) e antibióticos (Penicilina e Estreptomicina 50 mg/ml cada - Gibco™). Os neurônios corticais foram quantificados utilizando uma câmara de Neubauer através da coloração do azul de trypan 0,4%. Finalmente, foram adicionados 500uL de uma solução (0.5×10^6 células/mL de neurônios) em cada poço. As células foram incubadas a 37°C e 5% CO₂ em uma incubadora com atmosfera umidificada e cultivadas por 7 dias.

9.6.3 Delineamento experimental e tratamento

Para a avaliação da morte neuronal por apoptose, utilizamos cultura de neurônios corticais devido a sua facilidade de extração e maior quantidade dos mesmos, com a finalidade de reduzir o número de animais necessários para padronizar as condições experimentais. Foram realizados três experimentos, o primeiro com o objetivo de determinar a dose de 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) (10 µM, 25 µM, 50 µM) capaz de provocar a morte neuronal após 24 horas de

tratamento. Posteriormente, executamos um experimento para determinar a dose de CTEP (2,5 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 20 μ M) segura após 24 horas de tratamento, e finalmente analisamos a dose de CTEP capaz de diminuir a apoptose neuronal ocasionada pelo MPP⁺ (figura 37).

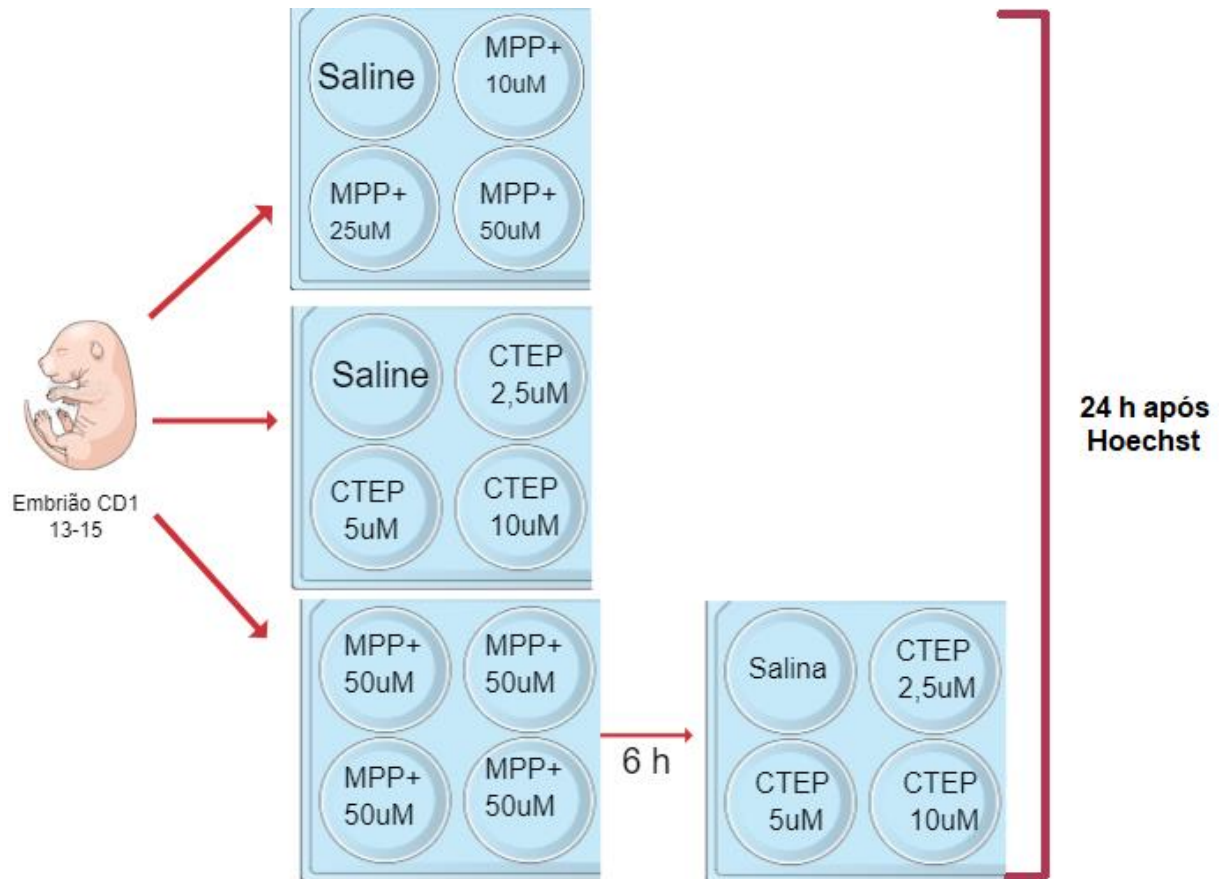


Figura 37: Delineamento experimental em cultura primária de neurônios corticais.

9.6.4 Avaliação do apoptose neuronal

Com a finalidade de avaliar a apoptose neuronal foi utilizado o corante fluorescente bi benzidina Hoechst 33342 (HO), o qual é permeável às membranas celulares unindo-se as ligações de adenina-timina no DNA com consequente emissão de fluorescência a 461 nm quando excitados por uma fonte de luz ultravioleta a 350 nm. As células foram avaliadas de acordo com a coloração e morfologia (CROWLEY; MARFELL; WATERHOUSE, 2016; ZHIVOTOSKY; ORRENIUS, 2001). Resumidamente, os neurônios cultivados foram fixados com uma solução de 4% paraformaldeído e 0,2% ácido pícrico durante 30 minutos, para posterior lavagem com PBS e coradas com Hoechst 33342 (Invitrogen # H1399) na concentração de 0,5 μ g/mL cobertas com papel alumínio por 10 min a temperatura ambiente, finalmente

as placas foram lavadas para posterior visualização (CREGAN et al., 2002). As placas foram visualizadas em microscópio de fluorescência (Olympus) e as imagens capturadas utilizando uma câmera CCD (Q-imaging) e Northern Eclipse software (Empix Imaging). Os neurônios foram avaliados segundo a sua morfologia nuclear apoptótica caracterizada por núcleos picnóticos e / ou fragmentados contendo cromatina condensada.

9.7 Análise Estatística

Todas as análises bioquímicas e comportamentais foram expressas como média \pm erro padrão da média (EPM) dos dados. Para a análise dos dados comportamentais e bioquímicos foi empregada a análise de variância (ANOVA) de duas vias com ou sem medida repetida seguida do post-hoc de Bonferroni. Enquanto, para as análises da apoptose celular foi empregada a análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo post-hoc de Dunnet. Foi aplicado um nível de significância de $p < 0,05$ e o software usado para as análises estatísticas e confecção dos gráficos foi o GraphPadPrism® versão 8.0.

10 RESULTADOS

10.1 Parâmetros Motores

10.1.1 Atividade locomotora no Campo aberto

Com o intuito de avaliar os efeitos motores da toxina parkinsoniana MPTP executamos o campo aberto em duas oportunidades após 4 e 7 dias da última administração com MPTP (dias 9 e 12 de experimentação). Observamos o efeito da toxina [$F(1,56)=11,91$; $p=0,0011$] e [$F(1,56)=12,40$; $p=0,0009$], respectivamente) e do modulador alostérico somente no dia 9 ([$F(1,56)=36,31$; $p < 0,00001$] e [$F(1,56)=0,3681$; $p=0,5465$], respectivamente). No teste do dia 9, verificamos uma hiperlocomoção do grupo SCT e MPCT em relação ao SS (figura 38A), por outro lado, no dia 12 este efeito foi somente verificado no grupo MPCT em relação ao SS (figura 38B). Indicando que o efeito do CTEP na locomoção é transitório, enquanto o possível efeito sinérgico de estas drogas permaneceu ao longo do tempo. Além disso, não observamos diferença da porcentagem da distância percorrida no centro do aparato em relação aos tratamentos CTEP e MPTP nas sessões do dia 9 e 12 ($p > 0,05$)

descartando possível efeito ansiogênico provocado pelos tratamentos (figura 38C e 38D, respectivamente).

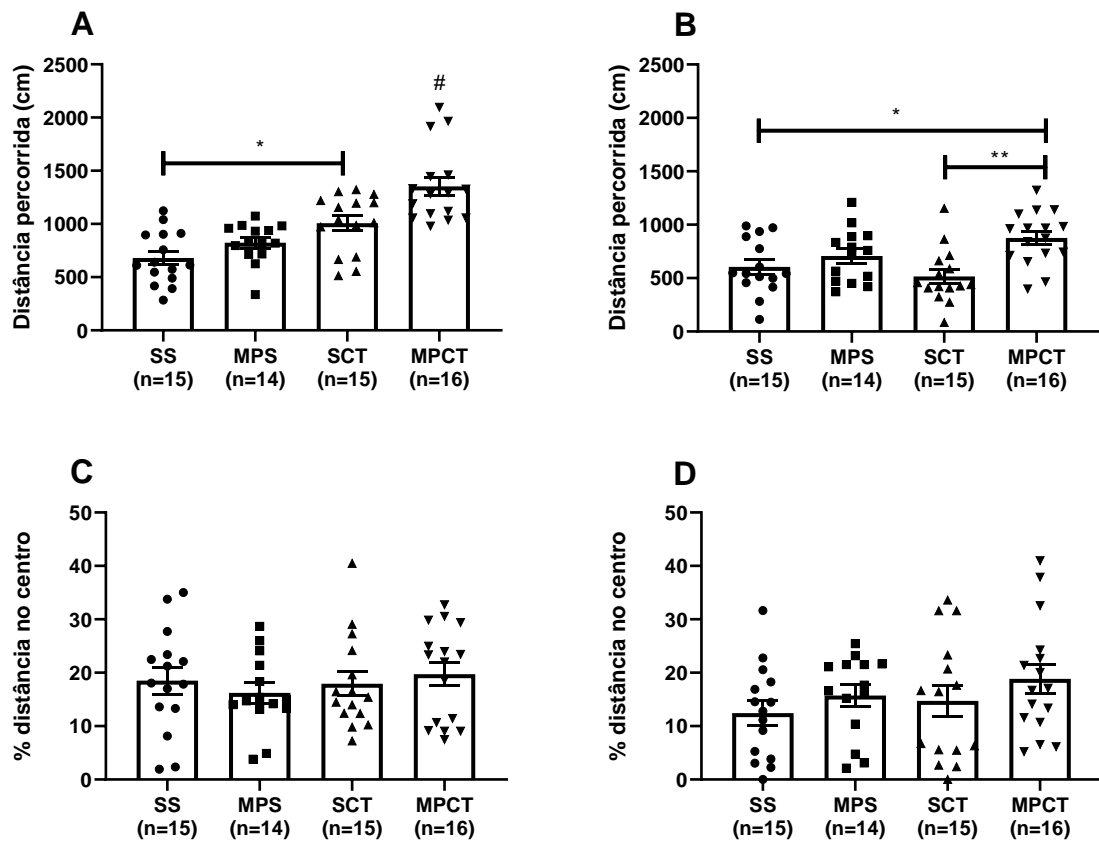


Figura 38: Desempenho dos animais no Campo aberto. Média \pm EPM da distância percorrida total no dia 9 (painel A) e no dia 12 (painel B) de experimentação. Porcentagem da distância percorrida no centro no dia 9 (painel C) e no dia 12 (painel D) de experimentação. Análise de variância (ANOVA) de duas vias com seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Animais tratados com: Salina/Veículo (SS), MPTP/Veículo (MPS), Salina/CTEP (SCT) e MPTP/CTEP (MPCT). * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; #estatisticamente diferente comparado com os outros grupos experimentais.

10.1.2 Coordenação e equilíbrio no Rotarod

Antes do início da administração com MPTP os animais foram pré-treinados no aparato com a finalidade de atingir uma linha de base entre os grupos, assim, na terceira sessão de treino não foi observada diferença entre os grupos ($p > 0,05$). Após um intervalo de pelo menos 3 horas do campo aberto, os animais foram submetidos ao Rotarod para avaliação da coordenação e equilíbrio. No teste foi verificado um efeito do tratamento com MPTP [$F(1,22) = 8,140$; $p = 0,0092$]. Os animais tratados somente com MPTP apresentaram um tempo para queda superior em relação ao controle ($p = 0,0358$), isto não foi evidenciado nos animais tratados com MPTP e CTEP

($p > 0,05$) (figura 39A), apesar de observarmos uma diferença entre o antes e o depois da administração neste grupo ($p = 0,0392$) (figura 39B). Esses dados sugerem que a toxina MPTP causa um aumento no tempo de permanência no aparato.

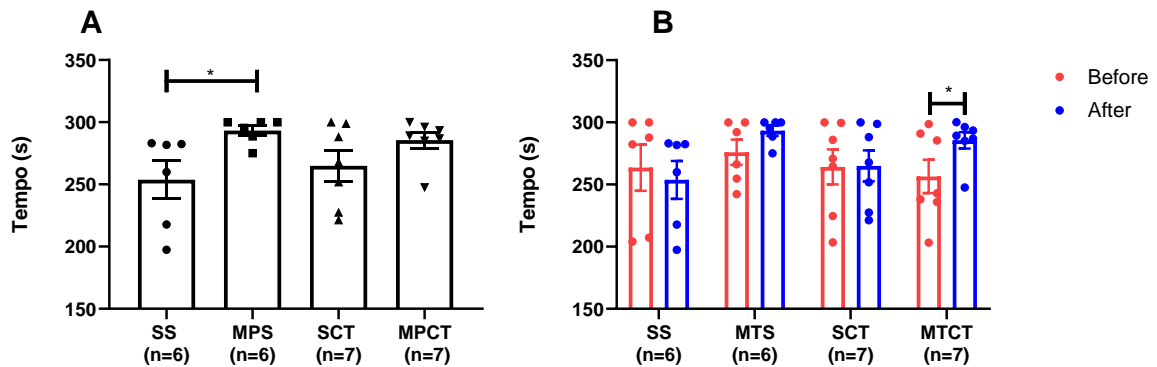


Figura 39: Desempenho dos animais no Rotarod. Média \pm EPM do tempo de permanência no aparelho depois da administração do MPTP (painel A) e comparação do antes e depois da administração (painel B). Análise de variância (ANOVA) de duas vias com ou sem medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Animais tratados com: Salina/Veículo (SS), MPTP/Veículo (MPS), Salina/CTEP (SCT) e MPTP/CTEP (MPCT). * $p < 0,05$.

10.1.3 Força de agarre (*Grip test*)

No treino, não foram observadas diferenças entre os grupos [$F(3,47) = 0,04084$; $p = 0,9889$] (figura 40A). Em relação ao teste, observamos um efeito do tempo [$F(1,49) = 5,960$; $p = 0,0183$] no grupo MPS ($p = 0,0146$) e da interação tempo e tratamentos [$F(3,49) = 3,413$; $p = 0,0245$], embora os tratamentos não foram estatisticamente diferentes [$F(3,490) = 2,410$; $p = 0,0781$]. Além disso, foi observada uma diferença na força de agarre nos grupos MPS e SCT com relação ao SS (Figura 40B), sugerindo que o MPTP e o CTEP sozinhos apresentam um efeito de aumento da força de agarre.

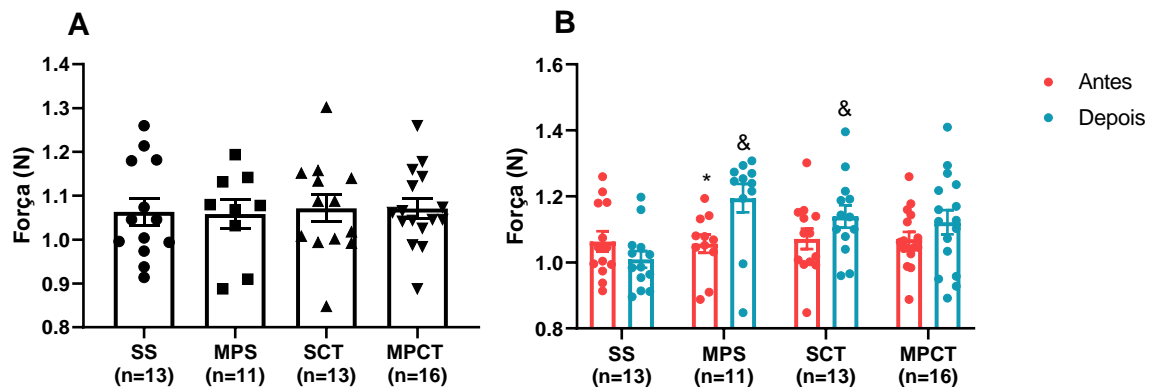


Figura 40: Desempenho dos animais no Teste de agarre. Média \pm EPM da força de agarre em Newton. Análise de variância (ANOVA) de duas vias com ou sem medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Animais tratados com: Salina/Veículo (SS), MPTP/Veículo (MPS), Salina/CTEP (SCT) e MPTP/CTEP (MPCT). * $p=0,0146$; & Diferente comparado ao SS.

10.2 Parâmetros Cognitivos

10.2.1 Memória operacional no labirinto em Y

Neste experimento avaliamos a memória operacional através do labirinto em Y no dia 13 de experimentação. Em relação a alternância espontânea observamos um efeito do MPTP [$F(1,55)=5,798$; $p=0,0194$] na atenuação deste parâmetro, o qual foi evidenciado estatisticamente entre os grupos SCT e MPCT ($p=0,0413$) (Figura 41A). Para descartar a possibilidade de que estas alterações observadas sejam decorrentes de um declínio motor foram analisadas a distância percorrida e o número de entradas (figura 41B e 41C). Mais uma vez verificamos um efeito da toxina sobre estes parâmetros ($[F(1,55)=4,901$; $p=0,0310]$ e $[F(1,55)=4,313$; $p=0,0425]$, respectivamente), o qual é apenas exibido entre os grupos SCT e MPCT, em acordo com o observado no campo aberto onde as alterações foram mais pronunciadas.

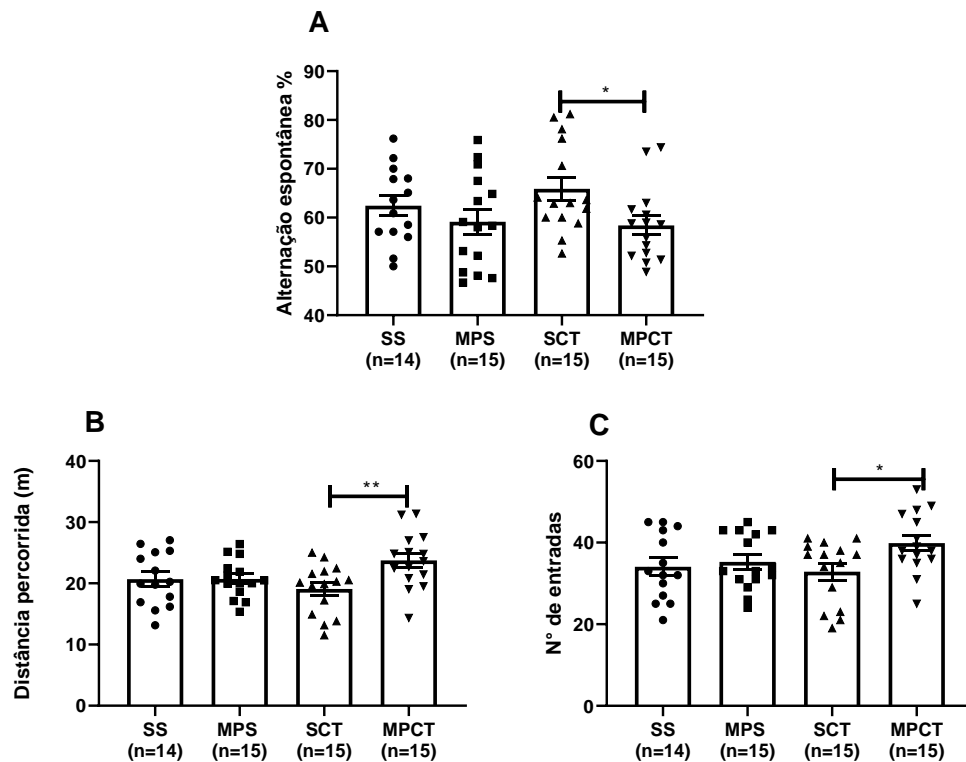


Figura 41: Desempenho dos animais na memória operacional no labirinto em Y. Média \pm EPM da porcentagem da alternância espontânea (painel A), distância percorrida (painel B) e número de entradas nos braços (painel C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Animais tratados com: Salina/Veículo (SS), MPTP/Veículo (MPS), Salina/CTEP (SCT) e MPTP/CTEP (MPCT). * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

10.2.2 Memória de referência no labirinto aquático de Morris

Por fim, em relação a parâmetros comportamentais, avaliamos a memória de referência no MWM e todos os animais aprendem a tarefa visto que apresentam uma diminuição na distância percorrida [$F(3,165)=118,9$; $p < 0,0001$] no decorrer das sessões sem apresentar diferenças em relação aos tratamentos [$F(3,55)=1,914$; $p=0,1380$] (Figura 42A). Da mesma forma, todos os animais lembram da localização da plataforma como observado no teste comprobatório onde os grupos despendem maior tempo explorando o quadrante alvo em relação ao oposto [$F(1,55)=345,0$; $p < 0,0001$] (Figura 42B). Em relação a velocidade média observamos um efeito do tratamento com CTEP [$F(1,55)=8,888$; $p=0,0043$] induzindo uma maior velocidade, a qual foi verificada no grupo MPCT em comparação com MPS (Figura 42C).

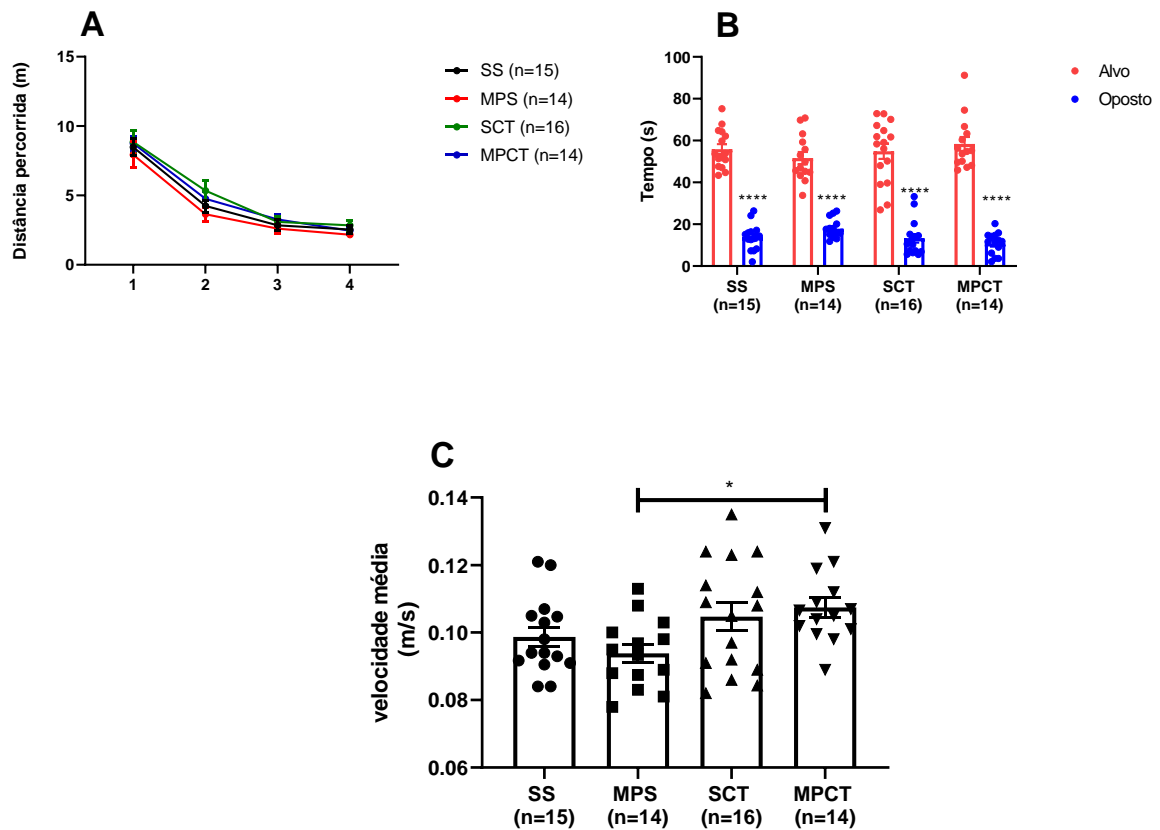


Figura 42: Desempenho dos animais na memória de referência no labirinto aquático de Morris. Média \pm EPM da distância percorrida para achar a plataforma de escape (painel A), tempo de exploração do quadrante alvo no teste comprobatório (painel B) e velocidade média (painel C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias com ou sem medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc Bonferroni. Animais tratados com: Salina/Veículo (SS), MPTP/Veículo (MPS), Salina/CTEP (SCT) e MPTP/CTEP (MPCT). * $p=0,0359$; **** $p<0,0001$.

10.3 Parâmetros Bioquímicos

10.3.1 Imunohistoquímica da enzima tirosina hidroxilase

Em relação a expressão da enzima tirosina hidroxilase, os dados apresentados ainda são preliminares, devido ao número limitado de animais. Assim, não evidenciamos efeito da toxina parkinsoniana MPTP [$F(1,8)=2,031$; $p=0,1919$], embora há indícios de uma diminuição dos neurônios dopaminérgicos causada pela mesma. Também não observamos efeito do CTEP sozinho [$F(1,8)=1,637$; $p=0,2366$] nesse parâmetro, entretanto, no grupo MPCT não observamos a redução observada nos animais tratados apenas com MPTP (Figura 43). Assim, estes dados preliminares

sugerem que o MPTP induz a morte dos neurônios dopaminérgicos e, o CTEP foi capaz de reverter o mesmo.

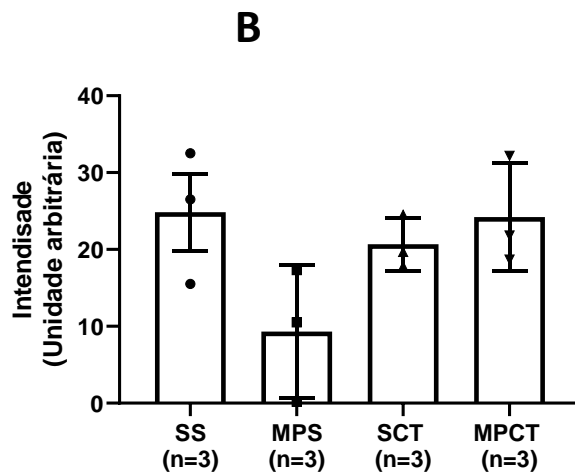
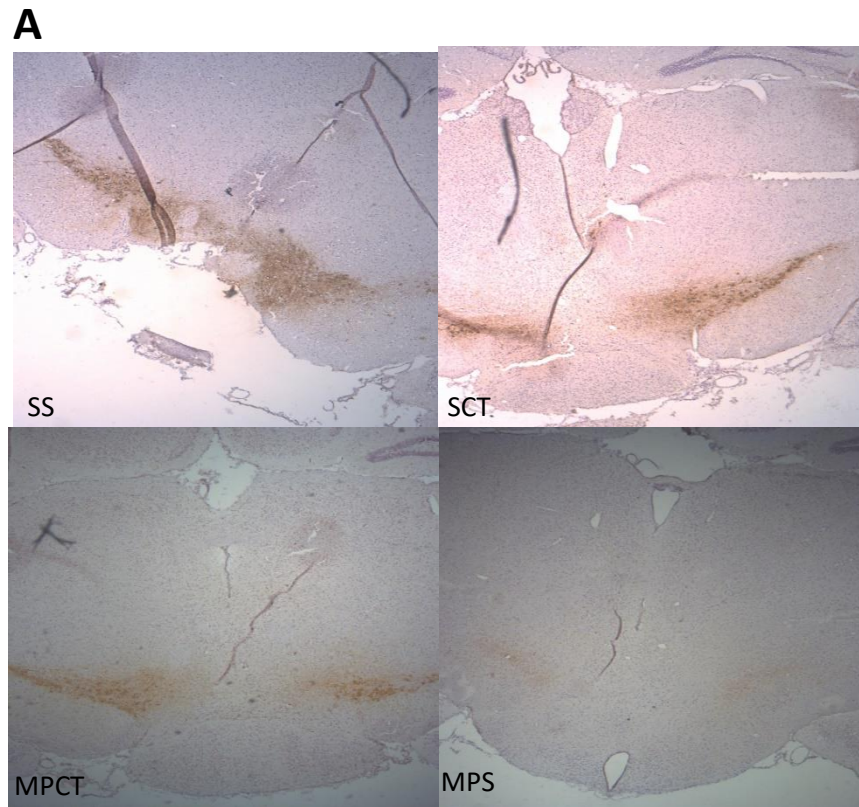


Figura 43: Análise por imunohistoquímica da enzima Tirosina Hidroxilase na substância negra parte compacta (SNc). Figura representativa da imunohistoquímica para as diferentes condições experimentais (Painel A). Média \pm EPM da Representação da quantificação da imunorreatividade para a TH (Painel B). Análise de variância (ANOVA) de duas vias. Animais tratados com: Salina/Veículo (SS), MPTP/Veículo (MPS), Salina/CTEP (SCT) e MPTP/CTEP (MPCT).

10.4 Cultura de células

10.4.1 Avaliação da apoptose neuronal

Inicialmente verificamos qual concentração de MPP⁺ causaria uma lesão significativa após 24 horas do tratamento com a toxina. Observamos uma diminuição dos neurônios usando as concentrações de 25 μ M e 50 μ M ($p=0,0011$ e $p<0,0001$, respectivamente) (Figura 44) indicando que a dose de 50 μ M seria a melhor para ser utilizada. Posteriormente, o objetivo foi avaliar se o tratamento com CTEP seria capaz de provocar morte celular após 24 horas (Figura 45). O tratamento com CTEP provocou morte neural [$F(4,35)=4,291$; $p=0,0063$] na dose de 20 μ M ($p=0,0063$), indicando que essa dose não seria ideal para ser utilizada. Dessa forma, decidimos utilizar as doses de 2,5 μ M, 5 μ M e 10 μ M para avaliar se o CTEP diminui a apoptose neuronal provocada pela toxina MPP⁺ (50 μ M), observamos que o CTEP nas doses de 5 μ M e 10 μ M diminuem a morte neuronal ocasionada pelo MPP⁺ [$F(3,32)=3,316$; $p=0,0322$] ($p=0,0341$ e $p=0,0441$, respectivamente) (Figura 46), sugerindo um potencial efeito neuroprotetor desse modulador.

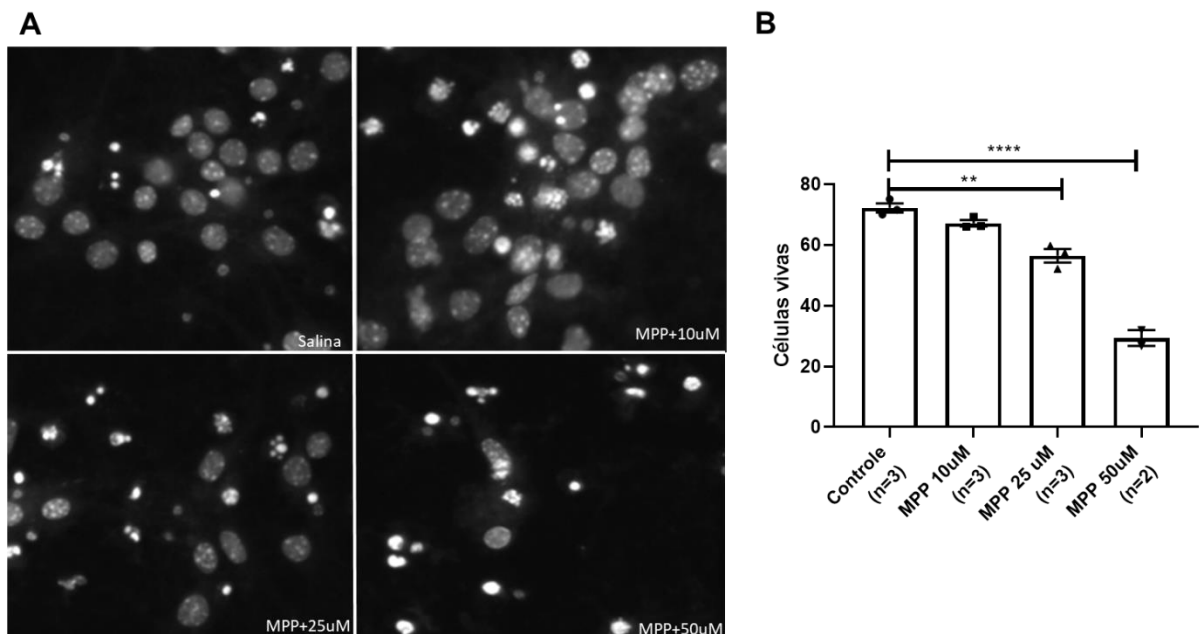


Figura 44: Avaliação da apoptose neuronal causada pela toxina MPP⁺ em cultura primária de neurônios corticais 24 horas após o tratamento. Figura ilustrativa da coloração por Hoescht para as diferentes condições experimentais (Painel A). Média \pm EPM da da quantificação da apoptose (Painel B). Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste post-hoc Dunnet. ** $p=0,0011$; **** $p<0,0001$.

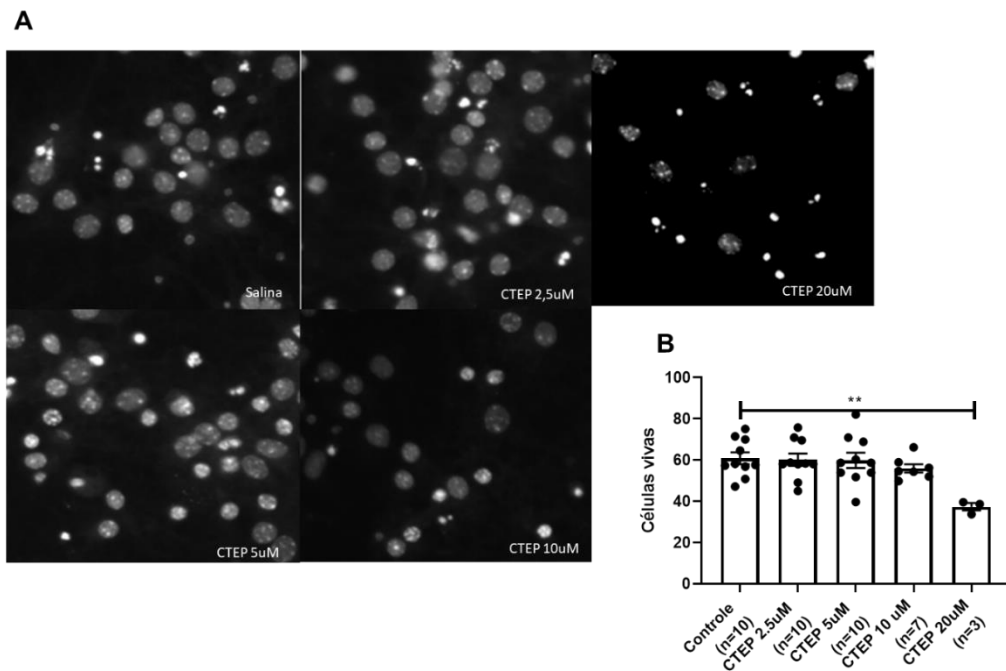


Figura 45: Avaliação da apoptose neuronal causada pelo CTEP em cultura primária de neurônios corticais 24 horas após o tratamento com CTEP. Figura ilustrativa da coloração por Hoescht para as diferentes condições experimentais (Painel A). Média \pm EPM da quantificação da apoptose (Painel B). Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste post-hoc Dunnet. $**p=0,0018$.

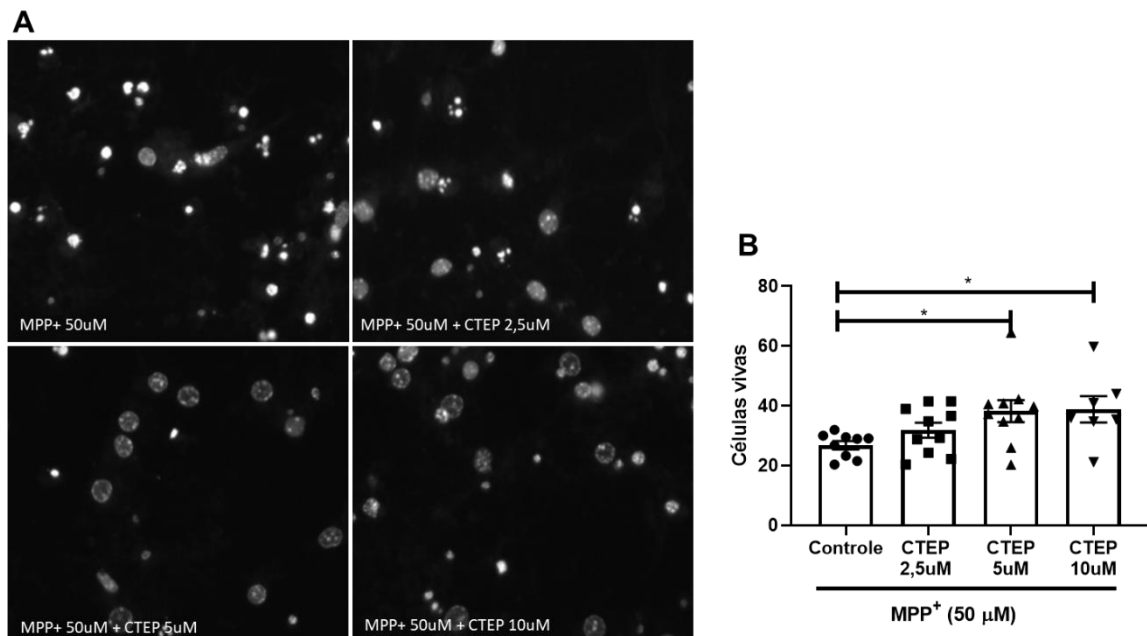


Figura 46: Avaliação do tratamento com CTEP sobre a apoptose neuronal provocada pelo MPP+ na dose de 50 μ M em cultura primária de neurônios corticais 24 horas após o tratamento com CTEP. Figura ilustrativa da coloração por Hoescht para as diferentes condições experimentais (Painel

A). Média \pm EPM da quantificação da apoptose (Painel B). Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste post-hoc Dunnet (n=7-10). *p<0,05.

11. DISCUSSÃO

Os sinais motores da doença de Parkinson se apresentam de diversas formas além dos sintomas cardinais (acinesia e bradicinesia, tremor e rigidez), apresentando-se também como uma ampla gama de déficits motores, incluindo: distúrbios da marcha, dificuldade de escrita, déficits de fala, entre outros. Por serem os primeiros sintomas descritos da doença são os mais estudados nos diversos modelos da mesma. Causados pela morte dos neurônios dopaminérgicos, o que provoca uma diminuição na estimulação do D1R, levando a uma atenuação das interações talâmocorticais, enquanto a falta de estimulação mediada pelo D2R resulta em uma desinibição do STN originando uma estimulação glutamatergica excessiva (BLANDINI; PORTER; GREENAMYRE, 1996). O STN tem sido envolvido em muitas das alterações motoras citadas anteriormente (para revisão MOUSTAFA et al., 2016). Ainda, a estimulação deste núcleo tem se mostrado uma estratégia eficiente para o tratamento dos sinais motores (DELONG et al., 2014; LIMOUSIN; FOLTYNIE, 2019). A presença de mGluR5 nesta região (Apud, CONN et al., 2005), torna este receptor um alvo promissor para o tratamento da DP, onde sua modulação tem se mostrado eficiente no tratamento da DP e LID (FARMER et al., 2020; TISON et al., 2016).

De forma geral, o tratamento com a toxina MPTP afetou os comportamentos motores avaliados. No teste de campo aberto, o tratamento com a toxina MPTP e o modulador CTEP induziram um incremento da distância percorrida na primeira sessão, porém esta diferença foi estatisticamente significativa no grupo MPCT e SCT em relação ao SS. O efeito da toxina perdurou ao longo do tempo, visto que, na sessão do dia 12 ainda verificamos uma hiperlocomoção do grupo MPCT, enquanto a distância percorrida do grupo SCT retorna a níveis do grupo SS. O teste em campo aberto, é um dos testes comportamentais mais conhecidos, usado para avaliar o comportamento motor e ansiedade (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015). Em animais tratados com a toxina parkinsoniana, os efeitos apresentados na literatura são diversos. Já foi descrita hipolocomoção (ESCAMILLA-RAMÍREZ et al., 2017; JI et al., 2020; POTHAKOS; KURZ; LAU, 2009), hiperlocomoção (FERGUSON; LAW; SARKAR, 2015; HILARIO et al., 2016; TSYBKO et al., 2019), e alguns autores não

observaram efeito da mesma (ALVAREZ-FISCHER et al., 2013; LUCHTMAN; SHAO; SONG, 2009; WANG et al., 2019a; ZHANG et al., 2017) utilizando tratamento agudo, subcrônico e crônico com MPTP. Ainda, no esquema de administração usado nesse trabalho, têm sido descrito os três resultados assinalados anteriormente (JI et al., 2020; MORAES et al., 2016; ZHANG et al., 2017). Estas divergências podem ser ocasionadas pelo intervalo do teste após a última administração da toxina, assim, trabalhos que acompanharam a atividade locomotora ao longo do tempo observaram modificações motoras iniciais, um dia após o tratamento com a toxina, as quais desaparecem ao longo do tempo (LI et al., 2011; SCHWARTING et al., 1999).

A diferença observada em comparação com os dados na habituação no teste de reconhecimento de objeto do capítulo 1, onde não foi evidenciado o efeito da toxina sobre a atividade locomotora, pode ser explicada pela dose utilizada. Visto que, alguns autores sugerem que doses maiores induzem esta hiperatividade (LUCHTMAN; SHAO; SONG, 2009; ROUSSELET et al., 2003).

Em relação ao equilíbrio e coordenação motora, analisados através do *rotarod*, a toxina causou um aumento no tempo de queda no teste, o qual foi estatístico no grupo MPS em relação ao SS. Em acordo com isto os animais do grupo MPCT apresentaram um melhor desempenho no teste em comparação com o treino. De forma semelhante ao observado no campo aberto, existem diversos resultados na literatura, em divergência com os nossos achados, sendo que a maioria dos autores mostraram prejuízo nesta tarefa após a administração com MPTP (JI et al., 2020; LAURETTI et al., 2016; ZHAO et al., 2019b), ou não observaram efeito (FERGUSON; LAW; SARKAR, 2015; SEDELIS et al., 2000; WANG et al., 2019a). Já Zhang e cols., verificaram um aumento no tempo de queda quando comparado ao controle, após seis dias da última administração com MPTP usando o mesmo esquema de administração utilizado por nós (ZHANG et al., 2017), em concordância com nossos dados. Ainda, o intervalo entre a última dose de MPTP e o teste é relevante, uma vez que, este efeito pode ser transitório (SEDELIS et al., 2000; TILLERSON et al., 2002).

Alguns autores sugerem que o desempenho nesta tarefa está relacionado com o tamanho da lesão dopaminérgica, assim, quanto maior a dose da toxina utilizada, pior o desempenho motor neste teste (HUTTER-SAUNDERS; GENDELMAN; MOSLEY, 2012). Em acordo com isto, Petroske e cols., utilizando o esquema subcrônico e o crônico da toxina evidenciaram prejuízo neste último, o qual foi

correlacionado com o dano neuronal (PETROSKE et al., 2001). Entretanto, Luchtman e cols. observaram um efeito bifásico do tratamento com a toxina, uma vez que o tratamento agudo e crônico induziu um decréscimo no tempo de queda em relação ao controle e o tratamento subcrônico incrementou o mesmo (LUCHTMAN; SHAO; SONG, 2009).

Além disso, estas diferenças podem ser explicadas pelos diferentes aparatos usados, diâmetro da base de agarre, sessões de treinamento e rotação fixa ou crescentes. Sobre o diâmetro da base de agarre, Shiotsuki e cols. testaram dois protocolos, o primeiro usando uma barra de 3 cm de diâmetro e rotação crescente, como a utilizada por nós, no segundo, a barra possuía um diâmetro de 9 cm e rotação fixa de 10 rpm. Neste trabalho, somente observaram efeito do MPTP nessa última condição experimental, sugerindo que o teste com rotação crescente deve ser empregado para avaliar o desempenho motor máximo, não sendo apropriado para detectar modificações no aprendizado (SHIOTSUKI et al., 2010). Em concordância com isto, outro estudo testou duas bases de agarre, uma de 12,5 cm e outra de 22,5 cm, sendo visualizado dano motor somente na barra de 22,5 cm (HUTTER-SAUNDERS; GENDELMAN; MOSLEY, 2012), indicando que a habilidade de agarre do camundongo é inversamente proporcional à barra. Por último, Monville e cols. comparando a aceleração fixa e crescente verificaram alterações motoras, empregando a aceleração fixa, sugerindo que a mesma é mais sensível (MONVILLE; TORRES; DUNNETT, 2006).

Finalmente, a toxina MPTP induziu um aumento da força de agarre, o qual foi estatisticamente significativo no grupo MPS em comparação ao grupo SS, ainda, este efeito foi evidenciado em comparação com o desempenho do treino destes animais. Semelhante ao descrito anteriormente, alguns autores observaram diminuição (MORAES et al., 2016; SINGH et al., 2017), aumento (SCONCE et al., 2015) ou sem alteração (FERGUSON; LAW; SARKAR, 2015; HILARIO et al., 2016) na força de agarre em animais tratados com MPTP. Sconce e cols., usando dois esquemas crônicos de administração da toxina, de 2 e 4 semanas com doses crescentes da mesma, verificaram um incremento da força no tratamento de 4 semanas (SCONCE et al., 2015).

Em relação a lesão dopaminérgica alguns autores observaram que animais tratados com doses maiores da toxina apresentaram uma maior lesão dopaminérgica

a qual estava relacionada com um pronunciado prejuízo motor (FREDRIKSSON; ARCHER, 1994). Entretanto, Herlinger e cols. observaram um efeito bifásico da toxina 2-metil-MPTP, nas doses de 2,5 mg/kg, 5mg/kg e 10mg/kg, na qual a dose intermediária utilizada foi a única capaz de ocasionar hipolocomoção. Esta modificação motora pode ser explicada pela biodisponibilidade diminuída da DA na fenda sináptica ocasionada pelas alterações moleculares dopaminérgicas observadas nesta dose, as quais induzem uma regulação negativa da mesma, não sendo relacionada com a extensão da morte neuronal dopaminérgica (HERLINGER et al., 2018).

Resumindo, esta hiperatividade motora é frequentemente evidenciada em modelos murinos da doença de Parkinson utilizando a toxina parkinsoniana MPTP. Existem hipóteses que podem explicar esse efeito. Alguns autores sugerem que a hiperatividade é resultado de um efeito compensatório da morte dos neurônios dopaminérgicos através do incremento dos níveis de serotonina (MAITI; GREGG; MCDONALD, 2016; MITRA; MOHANAKUMAR; GANGULY, 1992). De fato, após o tratamento com MPTP foram observados níveis elevados de serotonina e hiperlocomoção a qual não foi evidenciada em animais tratados concomitantemente com uma neurotoxina serotoninérgica (CHIA et al., 1996). Outros trabalhos propõem a hipersensibilização pré-sináptica de D1R devido à perda severa dos neurônios dopaminérgicos (DING; LI; ZHOU, 2015; GERFEN et al., 2002). Ainda, animais tratados com MPTP apresentaram uma hiperlocomoção e incremento do RNAm deste receptor, e, em contrapartida, animais previamente expostos ao ambiente enriquecido não exibiram nenhuma das mudanças citadas (HILARIO et al., 2016). Por fim, outros autores atribuem este efeito a um aumento dos níveis de noradrenalina (NA). Rommelfanger e cols. sugerem que animais tratados com o esquema agudo de MPTP nem sempre apresentam alterações motoras, indicando que os danos motores podem ser advindos de outros sistemas de neurotransmissão como a NA (ROMMELFANGER et al., 2007). Ainda, o MPTP não causa lesão destes neurônios (GIBB et al., 1989; LANGSTON et al., 1984) e induz um aumento dos níveis de NA no estriado (MAITI; GREGG; MCDONALD, 2016; ZHANG et al., 2017), o qual pode ser um efeito compensatório da perda dos neurônios dopaminérgicos.

Em relação aos testes cognitivos, observamos um efeito do MPTP na memória operacional no labirinto em Y e o tratamento com CTEP não foi capaz de reverter esse

efeito. Ainda, esta modificação não é decorrente de prejuízos motores, uma vez, que observamos um incremento da distância percorrida com a toxina. Como mencionado no capítulo 1, as alterações na memória operacional são frequentes em pacientes com DP e as mesmas têm sido evidenciadas em modelo animal da doença (AMIN; HASSAN; RASHED, 2018; LI et al., 2011; YADAV; PANDEY; SINGH, 2017). Entretanto, alguns autores não observaram os mesmos efeitos como já descrito no capítulo 1 (MORIGUCHI; YABUKI; FUKUNAGA, 2012). Ainda, não evidenciamos efeito da toxina MPTP e do modulador alostérico CTEP na memória de referência avaliada no labirinto aquático de Morris. Diversos trabalhos têm mostrado alterações neste parâmetro cognitivo (DEGUILL et al., 2010; WANG et al., 2018, 2019b), entretanto, alguns fatores interferem nestes resultados como já discutido no capítulo 1. Ainda vários autores identificaram alterações morfológicas no hipocampo após o tratamento com a toxina fortalecendo estas observações (CASTRO-HERNÁNDEZ; ADLARD; FINKELSTEIN, 2017; HSIEH et al., 2017; WANG et al., 2010; ZHANG et al., 2018b).

Em relação ao CTEP verificamos uma hiperlocomoção transitória no campo aberto, a qual parece ter induzido um efeito sinérgico com a toxina MPTP no grupo MPCT. Além disso, a mesma não foi capaz de reverter a hiperatividade motora ocasionada pela toxina MPTP nos testes avaliados anteriormente. Estudos mostraram que o bloqueio agudo do mGluR5 via intraperitoneal altera a atividade locomotora espontânea entretanto, este efeito parece ser transitório (RIBEIRO et al., 2014), em acordo com nossas observações. Ainda, animais nocaute para este receptor apresentaram uma hiperlocomoção e melhora na coordenação motora (RIBEIRO et al., 2014). Além disso, Abd-Elrahman e cols. não observaram efeito isolado do CTEP no teste de força, *rotarod* e campo aberto em modelo animal da Doença de Huntington (ABD-ELRAHMAN et al., 2017).

Nos testes cognitivos avaliados neste trabalho, o CTEP não foi capaz de reverter o efeito ocasionado pela toxina na memória operacional, e isso pode ser ocasionado pelo tempo de tratamento, visto que, Hsieh e cols. verificaram melhora na memória operacional e de reconhecimento de objeto após 14 dias de tratamento com MPEP, em modelo animal da DP (HSIEH et al., 2012). Ainda, em modelo animal da doença de Alzheimer, o tratamento crônico (3 meses) com CTEP foi capaz de reverter os prejuízos cognitivos da doença no teste de reconhecimento de objeto e MWM,

enquanto o tratamento agudo (5 dias) não apresentou o mesmo efeito (HAMILTON et al., 2016). De acordo, Farmer e cols. observaram a completa reversão dos efeitos motores da toxina 6-OHDA após 12 semanas de tratamento, assim como a recuperação das fibras estriatais (FARMER et al., 2020).

Ainda, nossos dados sugerem que o MPTP induziu a morte dos neurônios dopaminérgicos na parte compacta da substância negra, a qual é amplamente descrita na literatura (DEHMER et al., 2004; XIAO-FENG et al., 2016), e o tratamento com CTEP reverteu os mesmos. No único trabalho usando CTEP sobre a doença de Parkinson, os autores, verificaram que o CTEP promoveu uma recuperação de fibras dopaminérgicas no estriado, embora este efeito não foi observado na SNc (FARMER et al., 2020). Entretanto, outros trabalhos utilizando NAM para o receptor mGlu5, observaram uma recuperação destes neurônios na SNc (CHEN et al., 2011; HSIEH et al., 2012; ZHANG et al., 2021).

Por fim, no cultivo primário de neurônios corticais observamos que o tratamento com CTEP nas doses de 5 μ M e 10 μ M foi capaz de reverter a apoptose neuronal ocasionada pela toxina MPP⁺. A coloração de Hoechst foi utilizada para visualizar a integridade nuclear com o objetivo de detectar células apoptóticas através da condensação e fragmentação nuclear. A presença do receptor mGlu5 tem sido relacionada à facilitação da apoptose em astrócitos por meio da ativação da fosfolipase C (PAQUET et al., 2013). Da mesma forma, o glutamato induziu morte neuronal em cultura de célula e o tratamento com MPEP reverteu a mesma, enquanto, o tratamento com o agonista do receptor mGlu5 aumentou a apoptose (LI et al., 2017). Esses resultados mostram que a inibição do mGluR5 desempenha um papel neuroprotetor da neurotransmissão glutamatérgica excessiva. Ainda, o CTEP reverteu a apoptose em fatias do estriado em modelo animal da doença de Huntington (ABD-ELRAHMAN et al., 2017). Em relação a DP, Xia e cols. verificaram que o tratamento com MPEP diminui os danos ocasionados ao DNA pela rotenona em células (XIA et al., 2015). Todas estas evidências corroboram as nossas observações do efeito neuroprotetor do CTEP sobre a apoptose in vitro.

Em resumo, no capítulo 2 observamos que o MPTP provoca hiperatividade motora e déficit na memória operacional, e as mesmas não foram revertidas pelo tratamento com CTEP, possivelmente pelo curto tempo de duração do mesmo. Entretanto, o CTEP induziu uma menor perda neuronal dopaminérgica na SNc. Além

disso, em cultura primária de neurônios corticais o tratamento com CTEP diminuiu a apoptose induzida pela toxina MPP⁺. No entanto, estudos complementares são necessários para corroborar esta hipótese. Sendo interessante concluir estes experimentos iniciais e utilizar um tratamento mais prolongado com o CTEP em modelo animal da DP.

12. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO 2

- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 30 mg/kg induziu uma hiperatividade motora nos testes de campo aberto, *rotarod* e teste de força de agarre;
- A toxina parkinsoniana MPTP na dose de 30 mg/kg induziu alterações cognitivas na memória operacional no labirinto em Y;
- O tratamento com CTEP na dose de 2 mg/kg não reverteu as alterações provocadas pela toxina MPTP;
- O tratamento com CTEP na dose de 2 mg/kg induziu uma hiperlocomoção transitória e aumento da força no teste de força de agarre;
- O tratamento com CTEP na dose de 5 μ M e 10 μ M diminuiu a apoptose provocada pela toxina MPP⁺ na dose de 50 μ M;

13. CONCLUSÃO GERAL

No presente trabalho, no capítulo 1, demonstramos a exposição ao ambiente enriquecido pode ser utilizado como uma ferramenta complementar no tratamento da doença de Parkinson, visto que, preveniu as alterações cognitivas causadas pela toxina MPTP, entretanto não foi capaz de prevenir a morte dos neurônios dopaminérgicos da parte compacta da Substância Negra. Enquanto no capítulo 2, sugerimos que o CTEP, modulador alostérico negativo do mGluR5, é um potencial fármaco no tratamento da DP, visto que atenuou a lesão provocada pela toxina MPTP e diminuiu a apoptose induzida pela toxina MPP⁺.

14. REFERÊNCIAS

- AARSLAND, D.; ANDERSEN, K.; LARSEN, J. P.; LOLK, A.; NIELSEN, H.; KRAGH-SORENSEN, P. Risk of dementia in Parkinson's disease: A community-based, prospective study. **Neurology**, [S. l.], v. 56, n. 6, p. 730–736, 2001. DOI: 10.1212/wnl.56.6.730.
- AARSLAND, Dag; CREESE, Byron; POLITIS, Marios; CHAUDHURI, K. Ray; FFYTCHÉ, Dominic H.; WEINTRAUB, Daniel; BALLARD, Clive. Cognitive decline in Parkinson disease. **Nature Reviews Neurology**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 217–231, 2017. DOI: 10.1038/nrneurol.2017.27.
- ABBAS, Masoom M.; XU, Zheyu; TAN, Louis C. S. Epidemiology of Parkinson's Disease—East Versus West. **Movement Disorders Clinical Practice**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 14–28, 2018. DOI: 10.1002/mdc3.12568.
- ABD-ELRAHMAN, Khaled S.; HAMILTON, Alison; HUTCHINSON, Shaunessy R.; LIU, Fang; RUSSELL, Ryan C.; FERGUSON, Stephen S. G. mGluR5 antagonism increases autophagy and prevents disease progression in the zQ175 mouse model of Huntington's disease. **Science Signaling**, [S. l.], v. 10, n. 510, p. 1–12, 2017. a. DOI: 10.1126/scisignal.aan6387.
- AKKERMAN, Sven; BLOKLAND, Arjan; RENEERKENS, Olga; VAN GOETHEM, Nick P.; BOLLEN, Eva; GIJSELAERS, Hieronymus J. M.; LIEBEN, Cindy K. J.; STEINBUSCH, Harry W. M.; PRICKAERTS, Jos. Object recognition testing: Methodological considerations on exploration and discrimination measures. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 232, n. 2, p. 335–347, 2012. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.03.022.
- ALARCON, T. A.; AREAL, L. B.; HERLINGER, A. L.; PAIVA, K. K.; CICILINI, M. A.; MARTINS-SILVA, C.; PIRES, R. G. .. The cannabinoid agonist WIN-2 affects acquisition but not consolidation of a spatial information in training and retraining processes: Relation with transcriptional regulation of the endocannabinoid system? **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 377, n. May 2019, p. 112231, 2020. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112231.
- ALBERTI, Contardo. Drug-induced retroperitoneal fibrosis: Short aetiopathogenetic note, from the past times of ergot-derivatives large use to currently applied biopharmacology. **Giornale di Chirurgia**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 187–191, 2015. DOI: 10.11138/gchir/2015.36.4.187.
- ALBUQUERQUE, Marilia Silva; TORNISIELO, Ticiana Baraldi. Treadmill Exercise Improved Memory Evocation and Upregulated Alpha7 Nicotinic Receptors Density in Lower Cognitive Performance Rats. **Neurochemistry & Neuropharmacology**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 1–6, 2016. DOI: 10.4172/2469-9780.1000108.
- ALEXI, Tajrena; BORLONGAN, Cesario V.; FAULL, Richard L. M.; WILLIAMS, Chris E.; CLARK, Ross G.; GLUCKMAN, Peter D.; HUGHES, Paul E. Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. **Progress in Neurobiology**, [S. l.], v. 60, n. 5, p. 409–470, 2000. DOI: 10.1016/S0301-0082(99)00032-5.
- ALI, Shaheen Jafri; ELLUR, Govindraj; KHAN, Md Touseef; SHARAN, Kunal. Bone loss in MPTP mouse model of Parkinson's disease is triggered by decreased osteoblastogenesis and increased osteoclastogenesis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S. l.], v. 363, n. November 2018, p. 154–163, 2019. DOI:

10.1016/j.taap.2018.12.003.

ALVAREZ-FISCHER, Daniel et al. Bee venom and its component apamin as neuroprotective agents in a Parkinson disease mouse model. **PloS one**, [S. l.], v. 8, n. 4, p. e61700, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0061700.

AMIN, Shaimaa Nasr; HASSAN, Sherif Sabry; RASHED, Laila Ahmed. Effects of chronic aspartame consumption on MPTP-induced Parkinsonism in male and female mice. **Archives of Physiology and Biochemistry**, [S. l.], v. 124, n. 4, p. 292–299, 2018. DOI: 10.1080/13813455.2017.1396348.

ANTONINI, Angelo; TOLOSA, Eduardo; MIZUNO, Yoshikuni; YAMAMOTO, Mitsutoshi; POEWE, Werner H. A reassessment of risks and benefits of dopamine agonists in Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, [S. l.], v. 8, n. 10, p. 929–937, 2009. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70225-X.

ASAHINA, Masato; SUHARA, Tetsuya; SHINOTOH, Hitoshi; INOUE, Osamu; SUZUKI, Kazutoshi; HATTORI, Takamichi. Brain muscarinic receptors in progressive supranuclear palsy and Parkinson's disease: A positron emission tomographic study. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, [S. l.], v. 65, n. 2, p. 155–163, 1998. DOI: 10.1136/jnnp.65.2.155.

AWAD, H.; HUBERT, G. W.; SMITH, Y.; LEVEY, A. I.; CONN, P. J. Activation of metabotropic glutamate receptor 5 has direct excitatory effects and potentiates NMDA receptor currents in neurons of the subthalamic nucleus. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 20, n. 21, p. 7871–7879, 2000. DOI: 10.1523/jneurosci.20-21-07871.2000.

BÁEZ-MENDOZA, Raymundo; SCHULTZ, Wolfram. The role of the striatum in social behavior. **Frontiers in Neuroscience**, [S. l.], v. 7, n. 7 DEC, p. 1–14, 2013. DOI: 10.3389/fnins.2013.00233.

BAIG, Fahd; LAWTON, Michael; ROLINSKI, Michal; RUFFMANN, Claudio; NITHI, Kannan; EVETTS, Samuel G.; FERNANDES, Hugo R.; BEN-SHLOMO, Yoav; HU, Michele T. M. Delineating nonmotor symptoms in early Parkinson's disease and first-degree relatives. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 30, n. 13, p. 1759–1766, 2015. DOI: 10.1002/mds.26281.

BALTHAZAR, Janaina; SCHÖWE, Natalia Mendes; CIPOLLI, Gabriela Cabett; BUCK, Hudson Sousa; VIEL, Tania Araujo. Enriched environment significantly reduced senile plaques in a transgenic mice model of Alzheimer's disease, improving memory. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [S. l.], v. 10, n. September, p. 1–10, 2018. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00288.

BANDRES-CIGA, Sara; DIEZ-FAIREN, Monica; KIM, Jonggeol Jeff; SINGLETON, Andrew B. Genetics of Parkinson's disease: An introspection of its journey towards precision medicine. **Neurobiology of Disease**, [S. l.], v. 137, n. January, p. 104782, 2020. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.104782.

BASSANI, Taysa B. et al. Neuroprotective and antidepressant-like effects of melatonin in a rotenone-induced Parkinson's disease model in rats. **Brain Research**, [S. l.], v. 1593, p. 95–105, 2014. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.09.068.

BEAR, Mark. F.; CONNORS, Barry. W.; PARADISO, Michael. A. **Neuroscience. Exploring the brain**. [s.l.: s.n.]. v. 3rd ed. DOI: 10.1007/BF02234670.

BEATTY, William W. Patterns of Memory Failure after Scopolamine Treatment: Implications for Cholinergic Hypotheses of Dementia. **Behavioral and Neural Biology**, [S. l.], v. 45, p. 196–211, 1986.

BENAROYA-MILSHTEIN, N.; HOLLANDER, N.; APTER, A.; KUKULANSKY, T.; RAZ, N.; WILF, A.; YANIV, I.; PICK, C. G. Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 20, n. 5, p. 1341–1347, 2004. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2004.03587.x.

BENNETT, Edward L.; DIAMOND, Marian C.; KRECH, David; ROSENZWEIG, Mark R. Chemical and anatomical plasticity of brain. **Science**, [S. l.], v. 146, n. 3644, p. 610–619, 1964. DOI: 10.1126/science.146.3644.610.

BENNETT, James P.; PIERCEY, Montford F. Pramipexole - A new dopamine agonist for the treatment of Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, [S. l.], v. 163, n. 1, p. 25–31, 1999. DOI: 10.1016/S0022-510X(98)00307-4.

BERNHEIMER, H.; BIRKMAYER, W.; HORNYKIEWICZ, O.; JELLINGER, K.; SEITELBERGER, F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington Clinical, morphological and neurochemical correlations. **Journal of the Neurological Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 415–455, 1973. DOI: 10.1016/0022-510X(73)90175-5.

BERRY, C.; LA VECCHIA, C.; NICOTERA, P. Paraquat and parkinson's disease. **Cell Death and Differentiation**, [S. l.], v. 17, n. 7, p. 1115–1125, 2010. DOI: 10.1038/cdd.2009.217.

BESHEER, Joyce; BEVINS, Rick A. The role of environmental familiarization in novel-object preference. **Behavioural Processes**, [S. l.], v. 50, n. 1, p. 19–29, 2000. DOI: 10.1016/S0376-6357(00)00090-5.

BETARBET, Ranjita; SHERER, Todd B.; MACKENZIE, Gillian; GARCIA-OSUNA, Monica; PANOV, Alexander V; GREENAMYRE, J. Timothy. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. **Nature neuroscience**, [S. l.], v. 3, n. 12, p. 1301–1306, 2000. DOI: 10.1038/81834.

BEURRIER, Corinne; CONGAR, Patrice; BIOULAC, Bernard; HAMMOND, Constance. Subthalamic nucleus neurons switch from single-spike activity to burst-firing mode. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 599–609, 1999. DOI: 10.1523/jneurosci.19-02-00599.1999.

BEZARD, Erwan; DOVERO, Sandra; BELIN, David; DUCONGER, Sophie; JACKSON-LEWIS, Vernice; PRZEDBORSKI, Serge; PIAZZA, Pier Vincenzo; GROSS, Christian E.; JABER, Mohamed. Enriched Environment Confers Resistance to 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine and Cocaine: Involvement of Dopamine Transporter and Trophic Factors. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 23, n. 35, p. 10999–11007, 2003. DOI: 10.1523/jneurosci.23-35-10999.2003.

BLANCHET, Pierre J.; KONITSIOTIS, Spyridon; CHASE, Thomas N. Amantadine reduces levodopa-induced dyskinesias in parkinsonian monkeys. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 13, n. 5, p. 798–802, 1998. DOI: 10.1002/mds.870130507.

BLANDINI, Fabio; PORTER, Richard H. P.; GREENAMYRE, J. Timothy. Glutamate and Parkinson's disease. **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 73–94, 1996. DOI: 10.1007/BF02740748.

BLASCHKO, H. Metabolism and storage of biogenic amines. **Experientia**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 9–12, 1957. DOI: 10.1007/BF02156938.

BLÁZQUEZ, Gloria; CAÑETE, Toni; TOBEÑA, Adolf; GIMÉNEZ-LLORT, Lydia; FERNÁNDEZ-TERUEL, Alberto. Cognitive and emotional profiles of aged Alzheimer's disease (3xTgAD) mice: Effects of environmental enrichment and sexual dimorphism.

Behavioural Brain Research, [S. l.], v. 268, p. 185–201, 2014. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.04.008.

BOHNEN, N. I.; STUDENSKI, S. A.; CONSTANTINE, G. M.; MOORE, R. Y. Diagnostic performance of clinical motor and non-motor tests of Parkinson disease: A matched case-control study. **European Journal of Neurology**, [S. l.], v. 15, n. 7, p. 685–691, 2008. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2008.02148.x.

BOHNEN, Nicolaas I. et al. Cognitive correlates of cortical cholinergic denervation in Parkinson's disease and parkinsonian dementia. **Journal of Neurology**, [S. l.], v. 253, n. 2, p. 242–247, 2006. DOI: 10.1007/s00415-005-0971-0.

BOHNEN, Nicolaas I.; ALBIN, Roger L.; KOTAGAL, Vikas; KOEPPE, Robert A.; PETER, J. H.; FREY, Kirk A. Frequency of cholinergic and caudate nucleus dopaminergic deficits across pre-demented cognitive spectrum of Parkinson disease and evidence of interaction effects. **JAMA Neurol.**, [S. l.], v. 72, n. 2, p. 194–200, 2015. DOI: 10.1001/jamaneurol.2014.2757.

BOHNEN, Nicolaas I.; MÜLLER, Martijn L. T. M.; KOTAGAL, Vikas; KOEPPE, Robert A.; KILBOURN, Michael R.; GILMAN, Sid; ALBIN, Roger L.; FREY, Kirk A. Heterogeneity of cholinergic denervation in Parkinson's disease without dementia. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, [S. l.], v. 32, n. 8, p. 1609–1617, 2012. DOI: 10.1038/jcbfm.2012.60.

BONACCORSI, Joyce; CINTOLI, Simona; MASTROGIACOMO, Rosa; BALDANZI, Sigrid; BRASCHI, Chiara; PIZZORUSSO, Tommaso; CENNI, Maria Cristina; BERARDI, Nicoletta. System Consolidation of Spatial Memories in Mice: Effects of Enriched Environment. **Neural Plasticity**, [S. l.], v. 2013, p. 1–12, 2013. DOI: 10.1155/2013/956312.

BONITO-OLIVA, Alessandra; MASINI, Débora; FISONE, Gilberto. A mouse model of non-motor symptoms in Parkinson's disease: Focus on pharmacological interventions targeting affective dysfunctions. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [S. l.], v. 8, n. AUG, p. 1–12, 2014. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00290.

BOYES, Justin; BOLAM, J. Paul. Localization of GABA receptors in the basal ganglia. **Progress in Brain Research**, [S. l.], v. 160, p. 229–243, 2007. DOI: 10.1016/S0079-6123(06)60013-7.

BRAAK, Heiko; GHEBREMEDHIN, Estifanos; RÜB, Udo; BRATZKE, Hansjürgen; DEL TREDICI, Kelly. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. **Cell and Tissue Research**, [S. l.], v. 318, n. 1, p. 121–134, 2004. DOI: 10.1007/s00441-004-0956-9.

BRADLEY, Stefania Risso; STANDAERT, David G.; RHODES, Kenneth J.; REES, Howard D.; TESTA, Claudia M.; LEVEY, Allan I.; CONN, P. Jeffrey. Immunohistochemical localization of subtype 4a metabotropic glutamate receptors in the rat and mouse basal ganglia. **Journal of Comparative Neurology**, [S. l.], v. 407, n. 1, p. 33–46, 1999. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9861(19990428)407:1<33::AID-CNE3>3.0.CO;2-G.

BRAYNE, Carol; INCE, Paul G.; KEAGE, Hannah A. D.; MCKEITH, Ian G.; MATTHEWS, Fiona E.; POLVIKOSKI, Tuomo; SULKAVA, Raimo. Education, the brain and dementia: Neuroprotection or compensation? **Brain**, [S. l.], v. 133, n. 8, p. 2210–2216, 2010. DOI: 10.1093/brain/awq185.

BRENES, Juan C.; LACKINGER, Martin; HÖGLINGER, Günter U.; SCHRATT,

Gerhard; SCHWARTING, Rainer K. W.; WÖHR, Markus. Differential effects of social and physical environmental enrichment on brain plasticity, cognition, and ultrasonic communication in rats. **Journal of Comparative Neurology**, [S. l.], v. 524, n. 8, p. 1586–1607, 2016. DOI: 10.1002/cne.23842.

BRENES, Juan C.; PADILLA, Michael; FORNAGUERA, Jaime. A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 197, n. 1, p. 125–137, 2009. DOI: 10.1016/j.bbr.2008.08.014.

BREYSSE, Nathalie; BAUNEZ, Christelle; SPOOREN, Will; GASPARINI, Fabrizio; AMALRIC, Marianne. Chronic but not acute treatment with a metabotropic glutamate 5 receptor antagonist reverses the akinetic deficits in a rat model of Parkinsonism. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 22, n. 13, p. 5669–5678, 2002. DOI: 10.1523/jneurosci.22-13-05669.2002.

BROEDERS, M.; DE BIE, R. M. A.; VELSEBOER, D. C.; SPEELMAN, J. D.; MUSLIMOVIC, D.; SCHMAND, B. Evolution of mild cognitive impairment in Parkinson disease. **Neurology**, [S. l.], v. 81, n. 4, p. 346–352, 2013. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31829c5c86.

BROOKS, D. J.; TORJANSKI, N.; BURN, D. J. Ropinirole in the symptomatic treatment of Parkinson's disease. **Journal of neural transmission. Supplementum**, [S. l.], v. 45, p. 231, 1995.

BROOKS, Simon P.; DUNNETT, Stephen B. Tests to assess motor phenotype in mice: A user's guide. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 519–529, 2009. DOI: 10.1038/nrn2652.

BRÜCK, A.; KURKI, T.; KAASINEN, V.; VAHLBERG, T.; RINNE, J. O. Hippocampal and prefrontal atrophy in patients with early non-demented Parkinson's disease is related to cognitive impairment. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, [S. l.], v. 75, n. 10, p. 1467–1469, 2004. DOI: 10.1136/jnnp.2003.031237.

BURGHHAUS, Lothar; SCHÜTZ, Ulrich; KREMPEL, Udo; LINDSTROM, Jon; SCHRÖDER, Hannsjörg. Loss of nicotinic acetylcholine receptor subunits $\alpha 4$ and $\alpha 7$ in the cerebral cortex of Parkinson patients. **Parkinsonism & Related Disorders**, [S. l.], v. 9, n. 5, p. 243–246, 2003. DOI: 10.1016/S1353-8020(03)00028-2.

CALABRESI, Paolo; CASTRIOTO, Anna; DI FILIPPO, Massimiliano; PICCONI, Barbara. New experimental and clinical links between the hippocampus and the dopaminergic system in Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, [S. l.], v. 12, n. 8, p. 811–821, 2013. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70118-2.

CALIGIORE, Daniele; MANNELLA, Francesco; ARBIB, Michael A.; BALDASSARRE, Gianluca. **Dysfunctions of the basal ganglia-cerebellar-thalamo-cortical system produce motor tics in Tourette syndrome.** [s.l.: s.n.]. v. 13 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005395.

CAMICIOLI, Richard; MOORE, M. Milar; KINNEY, Anthony; CORBRIDGE, Elizabeth; GLASSBERG, Kathryn; KAYE, Jeffrey A. Parkinson's disease is associated with hippocampal atrophy. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 18, n. 7, p. 784–790, 2003. DOI: 10.1002/mds.10444.

CAMPOS, Filipa L.; CARVALHO, Miguel M.; CRISTOVÃO, Ana C.; JE, Goun; BALTAZAR, Graça; SALGADO, António J.; KIM, Yoon-Seong; SOUSA, Nuno. Rodent models of Parkinson's disease: beyond the motor symptomatology. **Frontiers in**

behavioral neuroscience, [S. I.], v. 7, n. November, p. 175, 2013. DOI: 10.3389/fnbeh.2013.00175.

CARBONE, Federico; DJAMSHIDIAN, Atbin; SEPPI, Klaus; POEWE, Werner. Apomorphine for Parkinson's Disease: Efficacy and Safety of Current and New Formulations. **CNS Drugs**, [S. I.], v. 33, n. 9, p. 905–918, 2019. DOI: 10.1007/s40263-019-00661-z.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M.; MAGNUSSON, T.; WALDECK, B. On the Presence of 3-hydroxytyramine in Brain. **Science**, [S. I.], v. 2, p. 127, 1958.

CARLSSON, Arvid.; LINDQVIST, Margit.; MAGNUSSON, Tor. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists [16]. **Nature**, [S. I.], v. 180, n. 4596, p. 1200, 1957. DOI: 10.1038/1801200a0.

CARMO, Marta R. S.; SIMÕES, Ana Patrícia; FONTELES, Analu A.; SOUZA, Carolina M.; CUNHA, Rodrigo A.; ANDRADE, Geanne M. ATP P2Y1 receptors control cognitive deficits and neurotoxicity but not glial modifications induced by brain ischemia in mice. **European Journal of Neuroscience**, [S. I.], v. 39, n. 4, p. 614–622, 2014. DOI: 10.1111/ejn.12435.

CASTRO-HERNÁNDEZ, Javier; ADLARD, Paul A.; FINKELSTEIN, David I. Pramipexole restores depressed transmission in the ventral hippocampus following MPTP-lesion. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 7, n. October 2016, p. 1–16, 2017. DOI: 10.1038/srep44426.

CENTONZE, D.; GUBELLINI, P.; ROSSI, S.; PICCONI, B.; PISANI, A.; BERNARDI, G.; CALABRESI, P.; BAUNEZ, C. Subthalamic nucleus lesion reverses motor abnormalities and striatal glutamatergic overactivity in experimental parkinsonism. **Neuroscience**, [S. I.], v. 133, n. 3, p. 831–840, 2005. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2005.03.006.

CHANDLER, Kathleen; DOSSO, Hosnia; SIMARD, Stephanie; SIDDIQI, Sara; RUDYK, Chris; SALMASO, Natalina. Differential Effects of Short-term Environmental Enrichment in Juvenile and Adult Mice. **Neuroscience**, [S. I.], v. 429, p. 23–32, 2020. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2019.12.028.

CHEN, Li; LIU, Jian; ALI, Umar; GUI, Zhen Hua; HOU, Chen; FAN, Ling Ling; WANG, Yong; WANG, Tao. Chronic, systemic treatment with a metabotropic glutamate receptor 5 antagonist produces anxiolytic-like effects and reverses abnormal firing activity of projection neurons in the basolateral nucleus of the amygdala in rats with bilateral 6-OHDA lesions. **Brain Research Bulletin**, [S. I.], v. 84, n. 3, p. 215–223, 2011. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2011.01.005.

CHEN, Shu Ping; KAN, Yu; ZHANG, Jian Liang; WANG, Jun Ying; GAO, Yong Hui; QIAO, Li Na; FENG, Xiu Mei. Involvement of hippocampal acetylcholinergic receptors in electroacupuncture analgesia in neuropathic pain rats. **Behavioral and Brain Functions**, [S. I.], p. 1–10, 2016. DOI: 10.1186/s12993-016-0096-x.

CHENG, Hsiao-Chun; ULANE, Christina M.; BURKE, Robert E. Clinical Progression in Parkinson's Disease and the Neurobiology of Axons Hsiao-Chun. **Ann Neurol**, [S. I.], v. 67, n. 6, p. 715–725, 2010. DOI: 10.1002/ana.21995.Clinical.

CHIA, Lie Gan; NI, Dah Ren; CHENG, Lee Ju; KUO, Jon Son; CHENG, Fu Chou; DRYHURST, Glenn. Effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and 5,7-dihydroxytryptamine on the locomotor activity and striatal amines in C57BL/6 mice. **Neuroscience Letters**, [S. I.], v. 218, n. 1, p. 67–71, 1996. DOI: 10.1016/0304-

3940(96)13091-3.

CHO, Hyeyoung; KANG, Kyoungah. Effects of Environmental Enrichment on Neurotrophins in an MPTP-Induced Parkinson's Disease Animal Model: A Randomized Trial. **Biological Research for Nursing**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 506–513, 2020. DOI: 10.1177/1099800420931183.

CHONDROGIORGI, M.; TATSIONI, A.; REICHMANN, H.; KONITSIOTIS, S. Dopamine agonist monotherapy in Parkinson's disease and potential risk factors for dyskinesia: A meta-analysis of levodopa-controlled trials. **European Journal of Neurology**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 433–440, 2014. DOI: 10.1111/ene.12318.

CICCHETTI, Francesca; DROUIN-OUELLET, Janelle; GROSS, Robert E. Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 30, n. 9, p. 475–483, 2009. DOI: 10.1016/j.tips.2009.06.005.

CLAASSEN, D. O.; JOSEPHS, K. A.; AHLKOG, J. E.; SILBER, M. H.; M.TIPPMANN-PEIKERT; BOEVE, B. F. REM sleep behavior disorder preceding other aspects of synucleinopathies by up to half a century. **Neurology**, [S. l.], v. 75, n. 6, p. 494–499, 2010. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181ec7fac.

CLARKE, C. E.; GUTTMAN, M. Dopamine agonist monotherapy in Parkinson's disease. **Lancet**, [S. l.], v. 360, n. 9347, p. 1767–1769, 2002. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)11668-0.

COLLOBY, Sean J. et al. In vivo SPECT imaging of muscarinic acetylcholine receptors using (R,R) 123I-QNB in dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. **NeuroImage**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 423–429, 2006. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.07.026.

CONN, P. J.; PIN, J. P. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, [S. l.], v. 37, p. 205–237, 1997. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.205.

CONN, P. Jeffrey; BATTAGLIA, Giuseppe; MARINO, Michael J.; NICOLETTI, Ferdinando. Metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 6, n. 10, p. 787–798, 2005. DOI: 10.1038/nrn1763.

CORTESE, Guiseppe P.; OLIN, Andrew; O'RIORDAN, Kenneth; HULLINGER, Rikki; BURGER, Corinna. Environmental enrichment improves hippocampal function in aged rats by enhancing learning and memory, LTP, and mGluR5-Homer1c activity. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 63, p. 1–11, 2018. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.11.004.

COSFORD, Nicholas D. P.; ROPPE, Jeffrey; TEHRANI, Lida; SCHWEIGER, Edwin J.; SEIDERS, T. Jon; CHAUDARY, Ashok; RAO, Sara; VARNEY, Mark A. [3H]-methoxymethyl-MTEP and [3H]-methoxy-PEPy: Potent and selective radioligands for the metabotropic glutamate subtype 5 (mGlu5) receptor. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 351–354, 2003. DOI: 10.1016/S0960-894X(02)00997-6.

COSTA, Giulia; SIMOLA, Nicola; MORELLI, Micaela. MDMA administration during adolescence exacerbates MPTP-induced cognitive impairment and neuroinflammation in the hippocampus and prefrontal cortex. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 231, n. 20, p. 4007–4018, 2014. DOI: 10.1007/s00213-014-3536-z.

COTEL, Marie Caroline; JAWHAR, Sadim; CHRISTENSEN, Ditte Z.; BAYER, Thomas A.; WIRTHS, Oliver. Environmental enrichment fails to rescue working memory deficits, neuron loss, and neurogenesis in APP/PS1KI mice. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 96–107, 2012. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.012..

COURT, J. A.; PIGGOTT, M. A.; LLOYD, S.; COOKSON, N.; BALLARD, C. G.; MCKEITH, I. G.; PERRY, R. H.; PERRY, E. K. Nicotine binding in human striatum: Elevation in schizophrenia and reductions in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease and in relation to neuroleptic medication. **Neuroscience**, [S. l.], v. 98, n. 1, p. 79–87, 2000. DOI: 10.1016/S0306-4522(00)00071-3.

CRACCHIOLO, Jennifer R.; MORI, Takashi; NAZIAN, Stanley J.; TAN, Jun; POTTER, Huntington; ARENDASH, Gary W. Enhanced cognitive activity – over and above social or physical activity – is required to protect Alzheimer's mice against cognitive impairment, reduce A β deposition, and increase synaptic immunoreactivity. **Neurobiol Learn Mem**, [S. l.], v. 88, n. 3, p. 277–294, 2007. DOI: 10.1038/jid.2014.371.

CREGAN, Sean P. et al. Apoptosis-inducing factor is involved in the regulation of caspase-independent neuronal cell death. **Journal of Cell Biology**, [S. l.], v. 158, n. 3, p. 507–517, 2002. DOI: 10.1083/jcb.200202130.

CROWLEY, Lisa C.; MARFELL, Brooke J.; WATERHOUSE, Nigel J. Analyzing cell death by nuclear staining with Hoechst 33342. **Cold Spring Harbor Protocols**, [S. l.], v. 2016, n. 9, p. 778–781, 2016. DOI: 10.1101/pdb.prot087205.

DALLEY, Jeffrey W.; THEOBALD, David E.; BOUGER, Pascale; CHUDASAMA, Yogita; CARDINAL, Rudolf N.; ROBBINS, Trevor W. Cortical cholinergic function and deficits in visual attentional performance in rats following 192 IgG-saporin-induced lesions of the medial prefrontal cortex. **Cerebral Cortex**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 922–932, 2004. DOI: 10.1093/cercor/bhh052.

DAMIER, P.; HIRSCH, E. C.; AGID, Y.; GRAYBIEL, A. M. The substantia nigra of the human brain: II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. **Brain**, [S. l.], v. 122, n. 8, p. 1437–1448, 1999. DOI: 10.1093/brain/122.8.1437.

DAUER, William; PRZEDBORSKI, Serge. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. **Neuron**, [S. l.], v. 39, p. 889–909, 2003. DOI: 10.1016/S0896-6273(03)00568-3.

DEACON, Robert M. J. Measuring motor coordination in mice. **Journal of visualized experiments : JoVE**, [S. l.], n. 75, p. 1–8, 2013. DOI: 10.3791/2609.

DEACON, Robert M. J.; RAWLINS, J. Nicholas P. T-maze alternation in the rodent. **Nature Protocols**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 7–12, 2006. DOI: 10.1038/nprot.2006.2.

DEGUIL, Julie; CHAVANT, François; LAFAY-CHEBASSIER, Claire; PÉRAULT-POCHAT, Marie Christine; FAUCONNEAU, Bernard; PAIN, Stéphanie. Neuroprotective effect of PACAP on translational control alteration and cognitive decline in MPTP Parkinsonian mice. **Neurotoxicity Research**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. 142–155, 2010. DOI: 10.1007/s12640-009-9091-4.

DEHMER, Thomas; HENEKA, Michael T.; SASTRE, Magdalena; DICHGANS, Johannes; SCHULZ, Jörg B. Protection by pioglitazone in the MPTP model of Parkinson's disease correlates with I κ B α induction and block of NF κ B and iNOS activation. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 88, n. 2, p. 494–501, 2004. DOI:

10.1046/j.1471-4159.2003.02210.x.

DEKUNDY, Andrzej et al. Pharmacological characterization of MRZ-8676, a novel negative allosteric modulator of subtype 5 metabotropic glutamate receptors (mGluR5): Focus on L-DOPA-induced dyskinesia. **Journal of Neural Transmission**, [S. l.], v. 118, n. 12, p. 1703–1716, 2011. DOI: 10.1007/s00702-010-0526-0.

DEL REY, Natalia López González; QUIROGA-VARELA, Ana; GARBAYO, Elisa; CARBALLO-CARBAJAL, Iria; FERNÁNDEZ-SANTIAGO, Rubén; MONJE, Mariana H. G.; TRIGO-DAMAS, Inés; BLANCO-PRIETO, María J.; BLESA, Javier. Advances in parkinson's disease: 200 years later. **Frontiers in Neuroanatomy**, [S. l.], v. 12, n. December, p. 1–14, 2018. DOI: 10.3389/fnana.2018.00113.

DELONG, Mahlon R.; WICHMANN, Thomas. Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. **Archives of Neurology**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 20–24, 2007. DOI: 10.1001/archneur.64.1.20.

DELONG, Michael R.; HUANG, Kevin T.; GALLIS, John; LOKHNYGINA, Yuliya; PARENTE, Beth; HICKEY, Patrick; TURNER, Dennis A.; LAD, Shivanand P. Effect of advancing age on outcomes of deep brain stimulation for parkinson disease. **JAMA Neurology**, [S. l.], v. 71, n. 10, p. 1290–1295, 2014. DOI: 10.1001/jamaneurol.2014.1272.

DESPLATS, Paula; PATEL, Pruthul; KOSBERG, Kori; MANTE, Michael; PATRICK, Christina; ROCKENSTEIN, Edward; FUJITA, Masayo; HASHIMOTO, Makoto; MASLIAH, Eliezer. Combined exposure to Maneb and Paraquat alters transcriptional regulation of neurogenesis-related genes in mice models of Parkinsons disease. **Molecular Neurodegeneration**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–10, 2012. DOI: 10.1186/1750-1326-7-49.

DIAMOND, Marian C.; INGHAM, Carol A.; JOHNSON, Ruth E.; BENNETT, Edward L.; ROSENZWEIG, Mark R. Effects of environment on morphology of rat cerebral cortex and hippocampus. **Journal of Neurobiology**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 75–85, 1976. DOI: 10.1002/neu.480070108.

DIAMOND, Marian C.; KRECH, David; ROSENZWEIG, Mark R. The effects of an enriched environment on the histology of the rat cerebral cortex. **Journal of Comparative Neurology**, [S. l.], v. 123, n. 1, p. 111–119, 1964. DOI: 10.1002/cne.901230110.

DICKSON, Dennis W. et al. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. **The Lancet Neurology**, [S. l.], v. 8, n. 12, p. 1150–1157, 2009. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70238-8.

DIJKSTRA, Anke A.; VOORN, Pieter; BERENDSE, Henk W.; GROENEWEGEN, Henk J.; ROZEMULLER, Annemieke J. M.; VAN DE BERG, Wilma D. J. Stage-dependent nigral neuronal loss in incidental Lewy body and parkinson's disease. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 29, n. 10, p. 1244–1251, 2014. DOI: 10.1002/mds.25952.

DING, Shengyuan; LI, Li; ZHOU, Fu Ming. Nigral dopamine loss induces a global upregulation of presynaptic dopamine D1 receptor facilitation of the striatonigral GABAergic output. **Journal of Neurophysiology**, [S. l.], v. 113, n. 6, p. 1697–1711, 2015. DOI: 10.1152/jn.00752.2014.

DINIZ, Daniel Guerreiro; OLIVEIRA, Marcus Augusto; LIMA, Camila Mendes; FÔRO, César Augusto Raiol; SOSTHENES, Marcia Consentino Kronka; BENTO-TORRES, João; COSTA VASCONCELOS, Pedro Fernando; ANTHONY, Daniel Clive; DINIZ,

Cristovam Wanderley Picanço. Age, environment, object recognition and morphological diversity of GFAP-immunolabeled astrocytes. **Behavioral and Brain Functions**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 1–19, 2016. DOI: 10.1186/s12993-016-0111-2.

DORSEY, E. Ray; SHERER, Todd; OKUN, Michael S.; BLOEMD, Bastiaan R. The emerging evidence of the Parkinson pandemic. **Journal of Parkinson's Disease**, [S. l.], v. 8, n. s1, p. S3–S8, 2018. DOI: 10.3233/JPD-181474.

DUFF, Kevin; BEGLINGER, Leigh J.; VAN DER HEIDEN, Sara; MOSER, David J.; ARNDT, Stephan; SCHULTZ, Susan K.; PAULSEN, Jane S. Short-term practice effects in amnesic mild cognitive impairment: implications for diagnosis and treatment. **International Psychogeriatrics**, [S. l.], v. 20, n. 5, p. 986–999, 2008. DOI: 10.1017/S1041610208007254.Short-term.

ELLIOTT, Brenda M.; GRUNBERG, Neil E. Effects of social and physical enrichment on open field activity differ in male and female Sprague-Dawley rats. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 165, n. 2, p. 187–196, 2005. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.06.025.

ELLMAN, George L.; COURTNEY, K. Dian.; ANDRES, Valentino; FEATHERSTONE, Robert M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9.

ENGELHARDT, Elias; GOMES, Marleide da Mota. Lewy and his inclusion bodies: Discovery and rejection. **Dementia & Neuropsychologia**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 198–201, 2017. DOI: 10.1590/1980-57642016dn11-020012.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 47–59, 1988. DOI: 10.1016/0166-4328(88)90157-X.

ERSKINE, Daniel; TAYLOR, John Paul; BAKKER, Geor; BROWN, Alastair J. H.; TASKER, Tim; NATHAN, Pradeep J. Cholinergic muscarinic M1 and M4 receptors as therapeutic targets for cognitive, behavioural, and psychological symptoms in psychiatric and neurological disorders. **Drug Discovery Today**, [S. l.], v. 24, n. 12, p. 2307–2314, 2019. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.08.009.

ESCAMILLA-RAMÍREZ, Angel; GARCÍA, Esperanza; PALENCIA-HERNÁNDEZ, Guadalupe; COLÍN-GONZÁLEZ, Ana Laura; GALVÁN-ARZATE, Sonia; TÚNEZ, Isaac; SOTELO, Julio; SANTAMARÍA, Abel. URB597 and the Cannabinoid WIN55,212-2 Reduce Behavioral and Neurochemical Deficits Induced by MPTP in Mice: Possible Role of Redox Modulation and NMDA Receptors. **Neurotoxicity Research**, [S. l.], v. 31, n. 4, p. 532–544, 2017. DOI: 10.1007/s12640-016-9698-1.

FAHERTY, Ciaran J.; SHEPHERD, Kennie Raviie; HERASIMTSCHUK, Anna; SMEYNE, Richard J. Environmental enrichment in adulthood eliminates neuronal death in experimental Parkinsonism. **Molecular Brain Research**, [S. l.], v. 134, n. 1, p. 170–179, 2005. DOI: 10.1016/j.molbrainres.2004.08.008.

FARMER, Kyle et al. mGluR5 Allosteric Modulation Promotes Neurorecovery in a 6-OHDA-Toxicant Model of Parkinson's Disease. **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 57, n. 3, p. 1418–1431, 2020. DOI: 10.1007/s12035-019-01818-z.

FAROMBI, Ebenezer O.; AWOGBINDIN, Ifeoluwa O.; OWOEYE, Olatunde; ABAH, Victoria O.; IZOMOH, Edirin R.; EZEKIEL, Ibukunoluwa O. Kolaviron ameliorates behavioural deficit and injury to striatal dopaminergic terminals via modulation of

oxidative burden, DJ-1 depletion and CD45R+ cells infiltration in MPTP-model of Parkinson's disease. **Metabolic Brain Disease**, [S. l.], v. 35, n. 6, p. 933–946, 2020. DOI: 10.1007/s11011-020-00578-3.

FEARNLEY, Julian M.; LEES, Andrew J. Ageing and parkinson's disease: Substantia nigra regional selectivity. **Brain**, [S. l.], v. 114, n. 5, p. 2283–2301, 1991. DOI: 10.1093/brain/114.5.2283.

FERGUSON, Sherry A.; LAW, C. Delbert; SARKAR, Sumit. Chronic MPTP treatment produces hyperactivity in male mice which is not alleviated by concurrent trehalose treatment. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 292, p. 68–78, 2015. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.05.057.

FERNAGUT, P. O. Etiology and Progression of Parkinson's Disease: Cross-Talk Between Environmental Factors and Genetic Vulnerability. **Handbook of Behavioral Neuroscience**, [S. l.], v. 24, p. 803–819, 2016. DOI: 10.1016/B978-0-12-802206-1.00040-4.

FERRE, Sergi et al. Synergistic interaction between adenosine A2A and glutamate mGlu5 receptors: Implications for striatal neuronal function. **PNAS**, [S. l.], v. 99, n. 18, p. 11940–11945, 2002. DOI: 10.1007/BF02994911.

FERRO, M. M.; ANGELUCCI, M. E. M.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; CANTERAS, N. S.; DA CUNHA, C. Neuroprotective effect of ketamine/xylazine on two rat models of Parkinson's disease. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 89–96, 2007. DOI: 10.1590/S0100-879X2007000100012.

FORNAL, Francesco et al. Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: Convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and α -synuclein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 102, n. 9, p. 3413–3418, 2005. DOI: 10.1073/pnas.0409713102.

FORNO, Lysia S. Neuropathology of Parkinson's Disease. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, [S. l.], v. 55, n. 3, p. 259–272, 1996. DOI: 10.1097/00005072-199603000-00001.

FORTIN, Andre et al. APAF1 is a key transcriptional target for p53 in the regulation of neuronal cell death. **Journal of Cell Biology**, [S. l.], v. 155, n. 2, p. 207–216, 2001. DOI: 10.1083/jcb.200105137.

FREDRIKSSON, A.; ARCHER, T. MPTP-induced behavioural and biochemical deficits: a parametric analysis. **J Neural Transm.**, [S. l.], v. 7, p. 123–132, 1994.

FRERET, T.; BILLARD, J. M.; SCHUMANN-BARD, P.; DUTAR, P.; DAUPHIN, F.; BOULOUARD, M.; BOUET, V. Rescue of cognitive aging by long-lasting environmental enrichment exposure initiated before median lifespan. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 33, n. 5, p. 1005.e1, 2012. a. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.09.028.

FRERET, Thomas; BOUET, Valentine; QUIEDEVILLE, Anne; NEE, Gérald; DALLEMAGNE, Patrick; ROCHAIS, Christophe; BOULOUARD, Michel. Synergistic effect of acetylcholinesterase inhibition (donepezil) and 5-HT(4) receptor activation (RS67333) on object recognition in mice. **Behavioural brain research**, Netherlands, v. 230, n. 1, p. 304–308, 2012. b. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.02.012.

FRICK, Karyn M.; FERNANDEZ, Stephanie M. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 24, n. 4, p. 615–626, 2003. DOI: 10.1016/S0197-4580(02)00138-0.

FRIELINGS DORF, Helena; THAL, Leon J.; PIZZO, Donald P. The septohippocampal cholinergic system and spatial working memory in the Morris water maze. **Behavioural brain research**, [S. l.], v. 168, n. 1, p. 37–46, 2006. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.10.008.

GALVAN, Adriana; KUWAJIMA, Masaaki; SMITH, Yoland. Glutamate and GABA receptors and transporters in the basal ganglia: What does their subsynaptic localization reveal about their function? **Neuroscience**, [S. l.], v. 143, n. 2, p. 351–375, 2006. DOI: 10.1038/mp.2011.182.doi.

GALVAN AND WICHMANN. Pathophysiology of Parkinsonism. **Clin Neurophysiol.**, [S. l.], v. 119, n. 7, p. 1459–1474, 2008. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted.

GARTHE, Alexander; ROEDER, Ingo; KEMPERMANN, Gerd. Mice in an enriched environment learn more flexibly because of adult hippocampal neurogenesis. **Hippocampus**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 261–271, 2016. DOI: 10.1002/hipo.22520.

GASIC, G. P.; HOLLMANN, M. Molecular Neurobiology of Glutamate Receptors. **Annual Review of Physiology**, [S. l.], v. 54, p. 507–536, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.54.030192.002451>.

GASPARINI, Fabrizio et al. 2-Methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP), a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 38, n. 10, p. 1493–1503, 1999. DOI: 10.1016/S0028-3908(99)00082-9.

GERFEN, Charles R.; MIYACHI, Shigehiro; PALETZKI, Ronald; BROWN, Pierre. D1 Dopamine Receptor Supersensitivity in the Dopamine-Depleted Striatum Results from a Switch in the Regulation of ERK1/2/MAP Kinase. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 22, n. 12, p. 5042–5054, 2002. DOI: 10.1523/jneurosci.22-12-05042.2002.

GERSHANIK, Oscar S. Clinical problems in late-stage Parkinson's disease. **Journal of Neurology**, [S. l.], v. 257, n. SUPPL. 2, p. 288–291, 2010. DOI: 10.1007/s00415-010-5717-y.

GIBB, W. R. G.; TERRULI, M.; LEES, A. J.; JENNER, P.; MARSDEN, C. D. The evolution and distribution of morphological changes in the nervous system of the common marmoset following the acute administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 53–74, 1989. DOI: 10.1002/mds.870040109.

GLATT, S. L.; HUBBLE, J. P.; LYONS, K.; PAOLO, A.; TRÖSTER, A. I.; HASSANEIN, R. E.; KOLLER, W. C. Risk factors for dementia in Parkinson's disease: effect of education. **Neuroepidemiology**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 20–25, 1996. DOI: 10.1159/000109885.

GLUCK, Martin R.; YOUNGSTER, Stephen K.; RAMSAY, Rona R.; SINGER, Thomas P.; NICKLAS, William J. Studies on the Characterization of the Inhibitory Mechanism of 4'-Alkylated 1-Methyl-4-Phenylpyridinium and Phenylpyridine Analogues in Mitochondria and Electron Transport Particles. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 63, n. 2, p. 655–661, 1994. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1994.63020655.x.

GOES, Tiago Costa; ANTUNES, Fabrício Dias; TEIXEIRA-SILVA, Flavia. Environmental enrichment for adult rats: Effects on trait and state anxiety. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 584, p. 93–96, 2015. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.10.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.004>.

GOLDBERG, N. R. S.; HAACK, A. K.; MESHUL, C. K. Enriched environment promotes

similar neuronal and behavioral recovery in a young and aged mouse model of Parkinson's disease. **Neuroscience**, [S. l.], v. 172, p. 443–452, 2011. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.09.062.

GÓMEZ-BENITO, Mónica; GRANADO, Noelia; GARCÍA-SANZ, Patricia; MICHEL, Anne; DUMOULIN, Mireille; MORATALLA, Rosario. Modeling Parkinson's Disease With the Alpha-Synuclein Protein. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 11, n. April, p. 1–15, 2020. DOI: 10.3389/fphar.2020.00356.

GONÇALVES, Lara Vezula; HERLINGER, Alice Laschuk; FERREIRA, Tamara Andrea Alarcon; COITINHO, Juliana Barbosa; PIRES, Rita Gomes Wanderley; MARTINS-SILVA, Cristina. Environmental enrichment cognitive neuroprotection in an experimental model of cerebral ischemia: biochemical and molecular aspects. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 348, n. 2010, p. 171–183, 2018. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.04.023.

GUALTIERI, Fabio; BRÉGÈRE, Catherine; LAWS, Grace C.; ARMSTRONG, Elena A.; WYLIE, Nicholas J.; MOXHAM, Theo T.; GUZMAN, Raphael; BOSWELL, Timothy; SMULDERS, Tom V. Effects of environmental enrichment on doublecortin and BDNF expression along the dorso-ventral axis of the dentate gyrus. **Frontiers in Neuroscience**, [S. l.], v. 11, n. SEP, p. 1–15, 2017. DOI: 10.3389/fnins.2017.00488.

HAGA, Hidaka; MATSUO, Kazuya; YABUKI, Yasushi; ZHANG, Chen; HAN, Feng; FUKUNAGA, Kohji. Enhancement of ATP production ameliorates motor and cognitive impairments in a mouse model of MPTP-induced Parkinson's disease. **Neurochemistry International**, [S. l.], v. 129, n. May, p. 104492, 2019. DOI: 10.1016/j.neuint.2019.104492.

HALL, Hélène; REYES, Stefanie; LANDECK, Natalie; BYE, Chris; LEANZA, Giampiero; DOUBLE, Kay; THOMPSON, Lachlan; HALLIDAY, Glenda; KIRIK, Deniz. Hippocampal Lewy pathology and cholinergic dysfunction are associated with dementia in Parkinson's disease. **Brain**, [S. l.], v. 137, n. 9, p. 2493–2508, 2014. DOI: 10.1093/brain/awu193.

HALLIDAY, Glenda; HERRERO, Maria Trinidad; MURPHY, Karen; MCCANN, Heather; ROS-BERNAL, Francisco; BARCIA, Carlos; MORI, Hideo; BLESA, Francisco J.; OBESO, José A. No Lewy pathology in monkeys with over 10 years of severe MPTP parkinsonism. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 24, n. 10, p. 1519–1523, 2009. DOI: 10.1002/mds.22481.

HALLIDAY, Glenda M.; LEVERENZ, James B.; SCHNEIDER, Jay S.; ADLER, Charles H. The neurobiological basis of cognitive impairment in Parkinson's disease. PubMed Commons. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 29, n. 5, p. 634–650, 2014. DOI: 10.1002/mds.25857.The.

HAMILTON, Alison; VASEFI, Maryam; VANDER TUIN, Cheryl; MCQUAID, Robyn J.; ANISMAN, Hymie; FERGUSON, Stephen S. G. Chronic Pharmacological mGluR5 Inhibition Prevents Cognitive Impairment and Reduces Pathogenesis in an Alzheimer Disease Mouse Model. **Cell Reports**, [S. l.], v. 15, n. 9, p. 1859–1865, 2016. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.04.077.

HARATI, Hayat; MAJCHRZAK, Monique; COSQUER, Brigitte; GALANI, Rodrigue; KELCHE, Christian; CASSEL, Jean Christophe; BARBELIVIEN, Alexandra. Attention and memory in aged rats: Impact of lifelong environmental enrichment. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 718–736, 2011. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2009.03.012.

HE, Chuan; TSIPIS, Constantinos P.; LAMANNA, Joseph C.; XU, Kui. Environmental enrichment induces increased cerebral capillary density and improved cognitive function in mice. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [S. l.], v. 977, p. 175–181, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-55231-6_24.

HELY, Mariese A.; MORRIS, John G. L.; TRAFICANTE, Robert; REID, Wayne G. J.; O'SULLIVAN, Dudley J.; WILLIAMSON, Peter M. The Sydney multicentre study of Parkinson's disease: Progression and mortality at 10 years. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, [S. l.], v. 67, n. 3, p. 300–307, 1999. DOI: 10.1136/jnnp.67.3.300.

HELY, Mariese A.; REID, Wayne G. J.; ADENA, Michael A.; HALLIDAY, Glenda M.; MORRIS, John G. L. The Sydney Multicenter Study of Parkinson's disease: The inevitability of dementia at 20 years. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 23, n. 6, p. 837–844, 2008. DOI: 10.1002/mds.21956.

HERLINGER, Alice Laschuk; ALMEIDA, Agihane Rodrigues; PRESTI-SILVA, Sarah Martins; PEREIRA, Evaldo Vitor; ANDRICH, Filipe; PIRES, Rita Gomes Wanderley; MARTINS-SILVA, Cristina. Behavioral, Biochemical and Molecular Characterization of a Parkinson's Disease Mouse Model Using the Neurotoxin 2'-CH₃-MPTP: A Novel Approach. **NeuroMolecular Medicine**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 73–82, 2018. DOI: 10.1007/s12017-018-8476-z.

HILARIO, Willyan Franco; HERLINGER, Alice Laschuk; AREAL, Lorena Bianchine; DE MORAES, Livia Silveira; FERREIRA, Tamara Andrea Alarcon; ANDRADE, Tassiane Emanuelle Servane; MARTINS-SILVA, Cristina; PIRES, Rita Gomes Wanderley. Cholinergic and Dopaminergic Alterations in Nigrostriatal Neurons Are Involved in Environmental Enrichment Motor Protection in a Mouse Model of Parkinson's Disease. **Journal of Molecular Neuroscience**, [S. l.], v. 60, n. 4, p. 453–464, 2016. a. DOI: 10.1007/s12031-016-0831-7.

HILL, Nicole T. M.; MOWSZOWSKI, Loren; NAISMITH, Sharon L.; CHADWICK, Verity L.; VALENZUELA, Michael; LAMPIT, Amit. Computerized cognitive training in older adults with mild cognitive impairment or dementia: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Psychiatry**, [S. l.], v. 174, n. 4, p. 329–340, 2017. DOI: 10.1176/appi.ajp.2016.16030360.

HIRSCH, Etienne C. et al. Metabolic effects of nigrostriatal denervation in basal ganglia. **Trends in Neurosciences**, [S. l.], v. 23, n. 10 SUPPL., p. 78–85, 2000. DOI: 10.1016/S1471-1931(00)00021-5.

HIRSCH, Lauren; JETTE, Nathalie; FROLKIS, Alexandra; STEEVES, Thomas; PRINGSHEIM, Tamara. The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Neuroepidemiology**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 292–300, 2016. DOI: 10.1159/000445751.

HO, Shih Chun; HSU, Chih Chuan; PAWLAK, Cornelius Rainer; TIKHONOVA, Maria A.; LAI, Te Jen; AMSTISLAVSKAYA, Tamara G.; HO, Ying Jui. Effects of ceftriaxone on the behavioral and neuronal changes in an MPTP-induced Parkinson's disease rat model. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 268, p. 177–184, 2014. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.04.022.

HOCKLY, Emma; CORDERY, Patricia M.; WOODMAN, Benjamin; MAHAL, Amarbirpal; VAN DELLEN, Anton; BLAKEMORE, Colin; LEWIS, Cathryn M.; HANNAN, Anthony J.; BATES, Gillian P. Environmental enrichment slows disease progression in R6/2 Huntington's disease mice. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 51, n.

2, p. 235–242, 2002. DOI: 10.1002/ana.10094.

HOFMANN, C.; PENNER, U.; DOROW, R.; PERTZ, H. H.; JÄHNICHEN, S.; HOROWSKI, R.; LATTÉ, K. P.; PALLA, D.; SCHURAD, B. Lisuride, a dopamine receptor agonist with 5-HT_{2B} receptor antagonist properties: Absence of cardiac valvulopathy adverse drug reaction reports supports the concept of a crucial role for 5-HT_{2B} receptor agonism in cardiac valvular fibrosis. **Clinical Neuropharmacology**, [S. l.], v. 29, n. 2, p. 80–86, 2006. DOI: 10.1097/00002826-200603000-00005.

HOLLOWAY, Robert G. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson Disease: A 4-year randomized controlled trial. **Archives of Neurology**, [S. l.], v. 61, n. 7, p. 1044–1053, 2004. DOI: 10.1001/archneur.61.7.1044.

HORNYKIEWICZ, O. the Action of Dopamine on the Arterial Blood. **Br J Pharmacol Chemother**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 91–94, 1958.

HORNYKIEWICZ, O. The discovery of dopamine deficiency in the parkinsonian brain. **Journal of Neural Transmission, Supplement**, [S. l.], n. 70, p. 9–15, 2006. DOI: 10.1007/978-3-211-45295-0_3.

HOYLE, E.; GENN, R. F.; FERNANDES, C.; STOLERMAN, I. P. Impaired performance of alpha7 nicotinic receptor knockout mice in the five-choice serial reaction time task. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 189, n. 2, p. 211–223, 2006. DOI: 10.1007/s00213-006-0549-2.

HSIEH, Ming Hong; HO, Shih Chun; YEH, Kuei Ying; PAWLAK, Cornelius Rainer; CHANG, Hung Ming; HO, Ying Jui; LAI, Te Jen; WU, Fu Ying. Blockade of metabotropic glutamate receptors inhibits cognition and neurodegeneration in an MPTP-induced Parkinson's disease rat model. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [S. l.], v. 102, n. 1, p. 64–71, 2012. DOI: 10.1016/j.pbb.2012.03.022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2012.03.022>.

HSIEH, Ming Hong; MENG, Wan Yun; LIAO, Wen Chieh; WENG, Jun Cheng; LI, Hsin Hua; SU, Hong Lin; LIN, Chih Li; HUNG, Ching Sui; HO, Ying Jui. Ceftriaxone reverses deficits of behavior and neurogenesis in an MPTP-induced rat model of Parkinson's disease dementia. **Brain Research Bulletin**, [S. l.], v. 132, n. April, p. 129–138, 2017. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2017.05.015.

HUANG, Dongping et al. Dynamic changes in the nigrostriatal pathway in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Parkinson's Disease**, [S. l.], v. 2017, 2017. DOI: 10.1155/2017/9349487.

HUANG, Dongping et al. Long-term Changes in the Nigrostriatal Pathway in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. **Neuroscience**, [S. l.], v. 369, p. 303–313, 2018. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.041.

HÜTTENRAUCH, Melanie; SALINAS, Gabriela; WIRTHS, Oliver. Effects of Long-Term Environmental Enrichment on Anxiety, Memory, Hippocampal Plasticity and Overall Brain Gene Expression in C57BL6 Mice. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [S. l.], v. 9, n. August, p. 1–11, 2016. DOI: 10.3389/fnmol.2016.00062.

HUTTER-SAUNDERS, Jessica A. L.; GENDELMAN, Howard E.; MOSLEY, R. Lee. Murine motor and behavior functional evaluations for acute 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) intoxication. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 279–288, 2012. DOI: 10.1007/s11481-011-9269-4.

IBÁÑEZ, Pablo. α -Synuclein Gene Rearrangements in Dominantly Inherited Parkinsonism. **Archives of Neurology**, [S. l.], v. 66, n. 1, p. 102, 2009. DOI:

10.1001/archneurol.2008.555.

IGGENA, D.; KLEIN, C.; RASIŃSKA, J.; SPARENBERG, M.; WINTER, Y.; STEINER, B. Physical activity sustains memory retrieval in dopamine-depleted mice previously treated with L-Dopa. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 369, n. April, p. 111915, 2019. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.111915.

ISHIHARA, L.; BRAYNE, C. A systematic review of depression and mental illness preceding Parkinson's disease. **Acta Neurologica Scandinavica**, [S. l.], v. 113, n. 4, p. 211–220, 2006. DOI: 10.1111/j.1600-0404.2006.00579.x.

JACKSON-LEWIS, Vernice; JAKOWEC, Michael; BURKE, Robert E.; PRZEDBORSKI, Serge. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. **Neurodegeneration**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 257–269, 1995. DOI: 10.1016/1055-8330(95)90015-2.

JANKOVIC, JOSEPH; TOLOSA, EDUARDO. **PARKINSONS DISEASE AND MOVEMENT DISORDERS**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1016/j.matbio.2009.12.006.

Ji, Meng; NIU, Shiqin; GUO, Jiexiang; MI, Heyin; JIANG, Peng. Silencing RNF13 Alleviates Parkinson's Disease – Like Problems in Mouse Models by Regulating the Endoplasmic Reticulum Stress–Mediated IRE1 α -TRAF2-ASK1-JNK Pathway. **Journal of Molecular Neuroscience**, [S. l.], v. 70, n. 12, p. 1977–1986, 2020. DOI: 10.1007/s12031-020-01599-4.

JOHANSSON, B. B.; BELICHENKO, P. V. Neuronal plasticity and dendritic spines: Effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 89–96, 2002. DOI: 10.1097/00004647-200201000-00011.

JUNGLING, A.; REGLODI, D.; TAMAS, A. Review on the neuroprotective effects of environmental enrichment in models of Parkinson's disease. [S. l.], v. 2, n. 2, p. 101–107, 2018.

JUNGLING, Adel; REGLODI, Dora; KARADI, Zsofia Nozomi; HORVATH, Gabor; FARKAS, Jozsef; GASZNER, Balazs; TAMAS, Andrea. Effects of postnatal enriched environment in a model of parkinson's disease in adult rats. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 18, n. 2, 2017. DOI: 10.3390/ijms18020406.

KAJI, Ryujji; BHATIA, Kailash; GRAYBIEL, Ann M. Pathogenesis of dystonia: is it of cerebellar or basal ganglia origin? **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, [S. l.], v. 89, n. 5, p. 488–492, 2018. DOI: 10.1136/jnnp-2017-316250.

KANG, Yeona; HENCHCLIFFE, Claire; VERMA, Ajay; VALLABHAJOSULA, Shankar; HE, Bin; KOTHARI, Paresh J.; PRYOR, Kane O.; MOZLEY, P. David. 18F-FPEB PET/CT Shows mGluR5 Upregulation in Parkinson's Disease. **Journal of Neuroimaging**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 97–103, 2019. DOI: 10.1111/jon.12563.

KASTEN, Meike; CHADE, Annabel; TANNER, Caroline M. Epidemiology of Parkinson's disease. **Handbook of Clinical Neurology**, [S. l.], v. 83, n. 6, p. 129–150, 2007.

KATUNINA, Elena; TITOVA, Nataliya. **The Epidemiology of Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease (Cohort and Other Studies)**. 1. ed. [s.l.]: Elsevier Inc., 2017. v. 133 DOI: 10.1016/bs.irn.2017.05.012.

KATZUNG, Bertram G.; MASTERS, Susan B.; TREVOR, Anthony J. **Farmacologia Básica Clínica**. [s.l.: s.n.].

KIM, Byung Wook et al. α -Asarone attenuates microglia-mediated neuroinflammation by inhibiting NF kappa B activation and mitigates MPTP-induced behavioral deficits in a mouse model of Parkinson's disease. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 97, p. 46–57, 2015. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.04.037.

KIM, Hye Suk; CHEON, Sang Myung; SEO, Jung Wook; RYU, Hyun Ju; PARK, Kyung Won; KIM, Jae Woo. Nonmotor symptoms more closely related to Parkinson's disease: Comparison with normal elderly. **Journal of the Neurological Sciences**, [S. l.], v. 324, n. 1–2, p. 70–73, 2013. DOI: 10.1016/j.jns.2012.10.004.

KLEIN, C. et al. Physical exercise counteracts MPTP-induced changes in neural precursor cell proliferation in the hippocampus and restores spatial learning but not memory performance in the water maze. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 307, p. 227–238, 2016. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.02.040.

KLEIN, J. C. et al. Neurotransmitter changes in dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia in vivo. **Neurology**, [S. l.], v. 74, n. 11, p. 885–892, 2010. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181d55f61.

KLEINER-FISMAN, Galit; FISMAN, David N.; SIME, Elspeth; SAINT-CYR, Jean A.; LOZANO, Andres M.; LANG, Anthony E. Long-term follow up of bilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in patients with advanced Parkinson disease. **Journal of Neurosurgery**, [S. l.], v. 99, n. 3, p. 489–495, 2003. DOI: 10.3171/jns.2003.99.3.0489.

KOWALL, Neil W.; HANTRAYE, Philippe; BROUILLET, Emmanuel; BEAL, M. Flint; MCKEE, Ann C.; FERRANTE, Robert J. MPTP induces alpha-synuclein aggregation in the substantia nigra of baboons. **NeuroReport**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 211–213, 2000. DOI: 10.1097/00001756-200001170-00041.

KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltan. The Y-Maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. *In: Pre-Clinical Models*. [s.l.] : Springer, 2019. p. 105–111.

KRAMER, Arthur F.; BHERER, Louis; COLCOMBE, Stanley J.; DONG, Willie; GREENOUGH, William T. Environmental influences on cognitive and brain plasticity during aging. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, [S. l.], v. 59, n. 9, p. 940–957, 2004. DOI: 10.1093/gerona/59.9.m940.

KRECH, David; ROSENZWEIG, Mark R.; BENNETT, Edward L. Relations between brain chemistry and problem-solving among rats raised in enriched and impoverished environments. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, [S. l.], v. 55, n. 5, p. 801–807, 1962. DOI: 10.1037/h0044220.

KULAK, Jennifer M.; SCHNEIDER, Jay S. Differences in $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor binding in motor symptomatic and asymptomatic MPTP-treated monkeys. **Brain Research**, [S. l.], v. 999, n. 2, p. 193–202, 2004. DOI: 10.1016/j.brainres.2003.10.062.

KUWAJIMA, Masaaki; HALL, Randy A.; AIBA, Atsu; SMITH, Yoland. Subcellular and subsynaptic localization of group I metabotropic glutamate receptors in the monkey subthalamic nucleus. **Journal of Comparative Neurology**, [S. l.], v. 474, n. 4, p. 589–602, 2004. DOI: 10.1002/cne.20158.

LA, Christian et al. Hippocampal CA1 subfield predicts episodic memory impairment in Parkinson's disease. **NeuroImage: Clinical**, [S. l.], v. 23, n. April, 2019. DOI: 10.1016/j.nicl.2019.101824.

- LANGHE, K. W.; WELLS, F. R.; JENNER, P.; MARSDEN, C. D. Altered Muscarinic and Nicotinic Receptor Densities in Cortical and Subcortical Brain Regions in Parkinson's Disease. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 60, n. 1, p. 197–203, 1993. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1993.tb05838.x.
- LANGSTON, J.; BALLARD, P.; TETRUD, J.; IRWIN, I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. **Science**, [S. l.], v. 219, n. 4587, p. 979–980, 1983. DOI: 10.1126/science.6823561.
- LANGSTON, J. W. The MPTP story. **Journal of Parkinson's Disease**, [S. l.], v. 7, p. S11–S19, 2017. DOI: 10.3233/JPD-179006.
- LANGSTON, William; L., Forno S.; REBERT, C. S.; IRWIN, I. Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. **Brain Research**, [S. l.], v. 292, n. 2, p. 390–394, 1984. DOI: 10.1016/0006-8993(84)90777-7.
- LAU, Lonneke M. L. De; BRETELER, Monique M. B. The epidemiology of Parkinson's disease. **the lancet neurology**, [S. l.], v. 5, p. 525–535, 2006. DOI: 10.1016/S1016-3190(10)60044-4.
- LAURETTI, E.; DI MECO, A.; MERALI, S.; PRATICÒ, D. Chronic behavioral stress exaggerates motor deficit and neuroinflammation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Translational psychiatry**, [S. l.], v. 6, n. June 2015, p. e733, 2016. DOI: 10.1038/tp.2016.1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2016.1>.
- LAWRENCE, Blake J.; GASSON, Natalie; LOFTUS, Andrea M. Prevalence and subtypes of mild cognitive impairment in Parkinson's disease. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 6, p. 1–9, 2016. DOI: 10.1038/srep33929.
- LEAL-GALICIA, Perla; CASTAÑEDA-BUENO, María; QUIROZ-BAEZ, Ricardo; ARIAS, Clorinda. Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging. **Neurobiology of Learning and Memory**, [S. l.], v. 90, n. 3, p. 511–518, 2008. DOI: 10.1016/j.nlm.2008.07.005.
- LEES, A. J.; SHAW, K. M.; STERN, G. M. "OFF PERIOD" DYSTONIA AND "ON PERIOD" CHOREOATHETOSIS IN LEVODOPA-TREATED PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE. **Lancet**, [S. l.], v. 2, p. 1034, 1977. DOI: 10.1016/s0140-6736(77)92939-7.
- LEGER, Marianne; PAIZANIS, Eleni; DZAHINI, Kwamivi; QUIEDEVILLE, Anne; BOUET, Valentine; CASSEL, Jean Christophe; FRERET, Thomas; SCHUMANN-BARD, Pascale; BOULOULARD, Michel. Environmental enrichment duration differentially affects behavior and neuroplasticity in adult mice. **Cerebral Cortex**, [S. l.], v. 25, n. 11, p. 4048–4061, 2015. DOI: 10.1093/cercor/bhu119.
- LEGER, Marianne; QUIEDEVILLE, Anne; BOUET, Valentine; HAELEWYN, Benoît; BOULOULARD, Michel; SCHUMANN-BARD, Pascale; FRERET, Thomas. Object recognition test in mice. **Nature Protocols**, [S. l.], v. 8, n. 12, p. 2531–2537, 2013. DOI: 10.1038/nprot.2013.155.
- LEGER, Marianne; QUIEDEVILLE, Anne; PAIZANIS, Eleni; NATKUNARAJAH, Sharuja; FRERET, Thomas; BOULOULARD, Michel; SCHUMANN-BARD, Pascale. Environmental Enrichment Enhances Episodic-Like Memory in Association with a Modified Neuronal Activation Profile in Adult Mice. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 7, n. 10, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0048043.

LEON, Michael; WOO, Cynthia. Environmental enrichment and successful aging. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [S. l.], v. 12, n. July, p. 1–13, 2018. DOI: 10.3389/fnbeh.2018.00155.

LESAGE, Suzanne; BRICE, Alexis. Parkinson's disease: From monogenic forms to genetic susceptibility factors. **Human Molecular Genetics**, [S. l.], v. 18, n. R1, p. 48–59, 2009. DOI: 10.1093/hmg/ddp012.

LI, Chunjie; CHAI, Shaomeng; JU, Yongzhi; HOU, Lu; ZHAO, Hang; MA, Wei; LI, Tian; SHENG, Jun; SHI, Wei. Pu-erh Tea Protects the Nervous System by Inhibiting the Expression of Metabotropic Glutamate Receptor 5. **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 54, n. 7, p. 5286–5299, 2017. DOI: 10.1007/s12035-016-0064-3.

LI, Xiu Min; XU, Chang Liang; DENG, Ji Min; LI, Lu Fan; MA, Shi Ping; QU, Rong. Protective effect of Zhen-Wu-Tang (ZWT) through keeping da stable and VMAT 2/DAT mRNA in balance in rats with striatal lesions induced by MPTP. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 134, n. 3, p. 768–774, 2011. DOI: 10.1016/j.jep.2011.01.040.

LIEDHEGNER, E. S.; AMY SASMAN, AND HILLARD, C. J. Brain Region-Specific Changes in N-Acylethanolamine Contents with Time of Day. **J Neurochem**, [S. l.], v. 128, n. 4, p. 491–506, 2014. DOI: 10.1038/jid.2014.371.

LIMOUSIN, Patricia; FOLTYNIE, Tom. Long-term outcomes of deep brain stimulation in Parkinson disease. **Nature Reviews Neurology**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 234–242, 2019. DOI: 10.1038/s41582-019-0145-9.

LINDEMANN, L. et al. CTEP: A Novel, Potent, Long-Acting, and Orally Bioavailable Metabotropic Glutamate Receptor 5 Inhibitor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [S. l.], v. 339, n. 2, p. 474–486, 2011. DOI: 10.1124/jpet.111.185660.

LITVAN, Irene et al. Diagnostic Criteria for Mild Cognitive Impairment in Parkinson's Disease: Movement Disorder Society Task Force Guidelines. **Mov Disord**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 349–356, 2012. DOI: 10.1002/mds.24893.

LIU, Alan King Lun; CHANG, Raymond Chuen Chung; PEARCE, Ronald K. B.; GENTLEMAN, Steve M. Nucleus basalis of Meynert revisited: anatomy, history and differential involvement in Alzheimer's and Parkinson's disease. **Acta Neuropathologica**, [S. l.], v. 129, n. 4, p. 527–540, 2015. DOI: 10.1007/s00401-015-1392-5.

LIX, Lisa M.; HOBSON, Douglas E.; AZIMAE, Mahmoud; LESLIE, William D.; BURCHILL, Charles; HOBSON, Shaun. Socioeconomic variations in the prevalence and incidence of Parkinson's disease: A population-based analysis. **Journal of Epidemiology and Community Health**, [S. l.], v. 64, n. 4, p. 335–340, 2010. DOI: 10.1136/jech.2008.084954.

LUCHTMAN, D. W.; MENG, Q.; SONG, C. Ethyl-eicosapentaenoate (E-EPA) attenuates motor impairments and inflammation in the MPTP-probenecid mouse model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 226, n. 2, p. 386–396, 2012. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.09.033.

LUCHTMAN, Dirk W.; SHAO, Di; SONG, Cai. Behavior, neurotransmitters and inflammation in three regimens of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Physiology and Behavior**, [S. l.], v. 98, n. 1–2, p. 130–138, 2009. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009.04.021.

- LV, Chuanfeng; HONG, Tie; YANG, Zhen; ZHANG, Yu; WANG, Lu; DONG, Man; ZHAO, Jing; MU, Jiaye; MENG, Yixiao. Effect of quercetin in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine- induced mouse model of Parkinson's disease. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2012, 2012. DOI: 10.1155/2012/928643.
- MA, Kai Ge; QIAN, Yi Hua. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease. **Neuropeptides**, [S. l.], v. 73, n. October, p. 96–106, 2019. DOI: 10.1016/j.npep.2018.12.003.
- MACINNES, Nicholas; DUTY, Susan. Group III metabotropic glutamate receptors act as hetero-receptors modulating evoked GABA release in the globus pallidus in vivo. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 580, n. 1–2, p. 95–99, 2008. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.10.030.
- MAEGELE, M. et al. Long-term effects of enriched environment on neurofunctional outcome and CNS lesion volume after traumatic brain injury in rats. **Physiological Research**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 129–145, 2015. DOI: 10.33549/physiolres.932664.
- MAITI, Panchanan; GREGG, Laura C.; MCDONALD, Michael P. MPTP-induced executive dysfunction is associated with altered prefrontal serotonergic function Panchanan. [S. l.], v. 298, p. 192–201, 2016. DOI: 10.1002/cncr.27633.Percutaneous.
- MAK, Elijah et al. Baseline and longitudinal grey matter changes in newly diagnosed Parkinson's disease: ICICLE-PD study. **Brain**, [S. l.], v. 138, n. 10, p. 2974–2986, 2015. DOI: 10.1093/brain/awv211.
- MALENKA, RC; NESTLER, EJ; HYMAN, SE. **Widely Projecting Systems: Monoamines, Acetylcholine, and Orexin**. [s.l: s.n.].
- MANSON, Alice; STIRPE, Paola; SCHRAG, Anette. Levodopa-induced-dyskinesias clinical features, incidence, risk factors, management and impact on quality of life. **Journal of Parkinson's Disease**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 189–198, 2012. DOI: 10.3233/JPD-2012-120103.
- MARDER, Stephen R. Alpha-7 nicotinic agonist improves cognition in schizophrenia. **Evidence-Based Mental Health**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 60, 2016. DOI: 10.1136/eb-2015-102214.
- MARIES, Eleonora; DASS, Biplob; COLLIER, Timothy J.; KORDOWER, Jeffrey H.; STEECE-COLLIER, Kathy. The role of α -synuclein in Parkinson's disease: Insights from animal models. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 4, n. 9, p. 727–738, 2003. DOI: 10.1038/nrn1199.
- MARQUES, Marília Rossato; STIGGER, Felipe; SEGABINAZI, Ethiane; AUGUSTIN, Otávio Américo; BARBOSA, Sílvia; PIAZZA, Francele Valente; ACHAVAL, Matilde; MARCUZZO, Simone. Beneficial effects of early environmental enrichment on motor development and spinal cord plasticity in a rat model of cerebral palsy. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 263, p. 149–157, 2014. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.01.007.
- MATSUI, T.; KITA, H. Activation of group III metabotropic glutamate receptors presynaptically reduces both GABAergic and glutamatergic transmission in the rat globus pallidus. **Neuroscience**, [S. l.], v. 122, n. 3, p. 727–737, 2003. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2003.08.032.
- MATTILA, P. M.; RÖYTTÄ, M.; LÖNNBERG, P.; MARJAMÄKI, P.; HELENIUS, H.; RINNE, J. O. Choline acetyltransferase activity and striatal dopamine receptors in Parkinson's disease in relation to cognitive impairment. **Acta Neuropathologica**, [S.

l., v. 102, n. 2, p. 160–166, 2001. DOI: 10.1007/s004010100372.

MCGREGOR, Matthew M.; NELSON, Alexandra B. Circuit Mechanisms of Parkinson's Disease. **Neuron**, [*S. l.*], v. 101, n. 6, p. 1042–1056, 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.03.004.

MCOMISH, Caitlin; PAVEY, Geoff; MCLEAN, Catriona; HORNE, Malcolm; DEAN, Brian; SCARR, Elizabeth. Muscarinic receptor binding changes in postmortem Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, [*S. l.*], v. 124, n. 2, p. 227–236, 2017. DOI: 10.1007/s00702-016-1629-z.

MEDEIROS, Rodrigo et al. $\alpha 7$ nicotinic receptor agonist enhances cognition in aged 3xTg-AD mice with robust plaques and tangles. **American Journal of Pathology**, [*S. l.*], v. 184, n. 2, p. 520–529, 2014. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.10.010.

MELLONE, Manuela; GARDONI, Fabrizio. Glutamatergic mechanisms in l-DOPA-induced dyskinesia and therapeutic implications. **Journal of Neural Transmission**, [*S. l.*], v. 125, n. 8, p. 1225–1236, 2018. DOI: 10.1007/s00702-018-1846-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1846-8>.

MEREDITH, G. E.; TOTTERDELL, S.; BEALES, M.; MESHUL, C. K. Impaired glutamate homeostasis and programmed cell death in a chronic MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, [*S. l.*], v. 219, n. 1, p. 334–340, 2009. DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.06.005.

MEREDITH, Gloria E.; RADEMACHER, David J. MPTP mouse models of Parkinson's disease: An update. **Journal of Parkinson's Disease**, [*S. l.*], v. 1, n. 1, p. 19–33, 2011. DOI: 10.3233/JPD-2011-11023.

MESA-GRESA, Patricia; RAMOS-CAMPOS, Marta; REDOLAT, Rosa. Behavioral impact of experience based on environmental enrichment: Influence of age and duration of exposure in male NMRI mice. **Developmental Psychobiology**, [*S. l.*], n. July 2019, p. 1–11, 2021. DOI: 10.1002/dev.22093.

MICHAEL. S. REMPLE; BRADENHAM, Courtney H.; KAO, C. Chris; CHARLES, P. David; NEIMAT, Joseph S.; KONRAD, Peter E. Subthalamic Nucleus Neuronal Firing Rate Increases with Parkinson's Disease Progression. **Mov Disord.**, [*S. l.*], v. 26, n. 9, p. 1657–1662, 2011. DOI: 10.1038/jid.2014.371.

MICHALON, Aubin; SIDOROV, Michael; BALLARD, Theresa M.; OZMEN, Laurence; SPOOREN, Will; WETTSTEIN, Joseph G.; JAESCHKE, Georg; BEAR, Mark F.; LINDEMANN, Lothar. Chronic Pharmacological mGlu5 Inhibition Corrects Fragile X in Adult Mice. **Neuron**, [*S. l.*], v. 74, n. 1, p. 49–56, 2012. DOI: 10.1016/j.neuron.2012.03.009.

MILOSEVIC, Luka et al. Modulation of inhibitory plasticity in basal ganglia output nuclei of patients with Parkinson's disease. **Neurobiology of Disease**, [*S. l.*], v. 124, n. November 2018, p. 46–56, 2019. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.10.020.

MITRA, N.; MOHANAKUMAR, K. P.; GANGULY, D. K. Dissociation of serotonergic and dopaminergic components in acute effects of 1-methy 1-4-pheny 1-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mice. **Brain Research Bulletin**, [*S. l.*], v. 28, n. 3, p. 355–364, 1992. DOI: 10.1016/0361-9230(92)90035-V.

MODLINSKA, Klaudia; CHRZANOWSKA, Anna; PISULA, Wojciech. The impact of changeability of enriched environment on exploration in rats. **Behavioural Processes**, [*S. l.*], v. 164, n. April, p. 78–85, 2019. DOI: 10.1016/j.beproc.2019.04.015.

MONASTERO, Roberto et al. Mild cognitive impairment in Parkinson's disease: the

Parkinson's disease cognitive study (PACOS). **Journal of Neurology**, [S. l.], v. 265, n. 5, p. 1050–1058, 2018. DOI: 10.1007/s00415-018-8800-4.

MONVILLE, Christelle; TORRES, Eduardo M.; DUNNETT, Stephen B. Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model. **Journal of Neuroscience Methods**, [S. l.], v. 158, n. 2, p. 219–223, 2006. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2006.06.001.

MOORE, Y. Central Catecholamine Neuron Systems: Anatomy. **Annual Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 1, p. 129–69, 1978.

MORA-GALLEGOS, Andrea; ROJAS-CARVAJAL, Mijail; SALAS, Sofia; SABORÍO-ARCE, Adriana; FORNAGUERA-TRÍAS, Jaime; BRENES, Juan C. Age-dependent effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry. **Neurobiology of Learning and Memory**, [S. l.], v. 118, p. 96–104, 2015. a. DOI: 10.1016/j.nlm.2014.11.012.

MORAES, Livia S.; ROHOR, Bruna Z.; AREAL, Lorena B.; PEREIRA, Evaldo V.; SANTOS, Alexandre M. C.; FACUNDO, Valdir A.; SANTOS, Adair R. S.; PIRES, Rita G. W.; MARTINS-SILVA, Cristina. Medicinal plant *Combretum leprosum* mart ameliorates motor, biochemical and molecular alterations in a Parkinson's disease model induced by MPTP. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 185, p. 68–76, 2016. DOI: 10.1016/j.jep.2016.03.041.

MORE, Sandeep Vasant; KUMAR, Hemant; CHO, Duk Yeon; YUN, Yo Sep; CHOI, Dong Kug. Toxin-induced experimental models of learning and memory impairment. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 17, n. 9, 2016. DOI: 10.3390/ijms17091447.

MOREAU, Caroline et al. Memantine for axial signs in Parkinson's disease: A randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, [S. l.], v. 84, n. 5, p. 552–555, 2013. DOI: 10.1136/jnnp-2012-303182.

MORIGUCHI, Shigeki; YABUKI, Yasushi; FUKUNAGA, Kohji. Reduced calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activity in the hippocampus is associated with impaired cognitive function in MPTP-treated mice. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 120, n. 4, p. 541–551, 2012. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07608.x.

MORIN, Nicolas; GRÉGOIRE, Laurent; MORISSETTE, Marc; DESRAYAUD, Sandrine; GOMEZ-MANCILLA, Baltazar; GASPARINI, Fabrizio; DI PAOLO, Thérèse. MPEP, an mGlu5 receptor antagonist, reduces the development of l-DOPA-induced motor complications in de novo parkinsonian monkeys: Biochemical correlates. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 66, p. 355–364, 2013. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2012.07.036.

MORISSETTE, Marc; MORIN, Nicolas; GRÉGOIRE, Laurent; RAJPUT, Alex; RAJPUT, Ali H.; DI PAOLO, Thérèse. Brain $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in MPTP-lesioned monkeys and parkinsonian patients. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 109, p. 62–69, 2016. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.03.023.

MORRIS, Richard. Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, [S. l.], v. 11, p. 47–60, 1984. DOI: 10.1016/0165-0270(84)90007-4.

MOSTOFI, Abteen; EVANS, Julian M.; PARTINGTON-SMITH, Lucy; YU, Kenny;

- CHEN, Cliff; SILVERDALE, Monty A. Outcomes from deep brain stimulation targeting subthalamic nucleus and caudal zona incerta for Parkinson's disease. **npj Parkinson's Disease**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–7, 2019. DOI: 10.1038/s41531-019-0089-1.
- MOUSAVI, M.; HELLSTRÖM-LINDAHL, E.; GUAN, Z. Z.; SHAN, K. R.; RAVID, R.; NORDBERG, A. Protein and mRNA levels of nicotinic receptors in brain of tobacco using controls and patients with Alzheimer's disease. **Neuroscience**, [S. l.], v. 122, n. 2, p. 515–520, 2003. DOI: 10.1016/S0306-4522(03)00460-3..
- MOUSTAFA, Ahmed A.; CHAKRAVARTHY, Srinivasa; PHILLIPS, Joseph R.; GUPTA, Ankur; KERI, Szabolcs; POLNER, Bertalan; FRANK, Michael J.; JAHANSHAHI, Marjan. Motor symptoms in Parkinson's disease: A unified framework. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 68, p. 727–740, 2016. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.07.010.
- MUÑOZ-MANCHADO, Ana B. et al. Chronic and progressive Parkinson's disease MPTP model in adult and aged mice. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 136, n. 2, p. 373–387, 2016. DOI: 10.1111/jnc.13409.
- MUSLIMOVIĆ, Dino; POST, Bart; SPEELMAN, Johannes D.; SCHMAND, Ben. Cognitive profile of patients with newly diagnosed Parkinson disease. **Neurology**, [S. l.], v. 65, n. 8, p. 1239–1245, 2005. DOI: 10.1212/01.wnl.0000180516.69442.95.
- NAIDU, Y.; CHAUDHURI, K. Ray. Transdermal rotigotine: A new non-ergot dopamine agonist for the treatment of Parkinson's disease. **Expert Opinion on Drug Delivery**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 111–118, 2007. DOI: 10.1517/17425247.4.2.111.
- NAKANISHI, Shigetada; MASU, Masayuki. Molecular diversity and functions of glutamate receptors. **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, [S. l.], v. 23, p. 319–348, 1994. DOI: 10.1146/annurev.bb.23.060194.001535.
- NASH, J. E. et al. Antiparkinsonian actions of ifenprodil in the MPTP-lesioned marmoset model of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 165, n. 1, p. 136–142, 2000. DOI: 10.1006/exnr.2000.7444.
- NAWAZ, Amber; BATOOL, Zehra; SHAZAD, Sidrah; RAFIQ, Sahar; AFZAL, Asia; HAIDER, Saida. Physical enrichment enhances memory function by regulating stress hormone and brain acetylcholinesterase activity in rats exposed to restraint stress. **Life Sciences**, [S. l.], v. 207, n. May, p. 42–49, 2018. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.05.049.
- NEWMAN, Lori A.; MCGAUGHY, Jill. Cholinergic deafferentation of prefrontal cortex increases sensitivity to cross-modal distractors during a sustained attention task. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 28, n. 10, p. 2642–2650, 2008. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5112-07.2008.
- NICKOLS, Hilary H.; CONN, P. Jeffrey. Development of allosteric modulators of GPCRs for treatment of CNS. **Neurobiology of Disease**, [S. l.], v. 61, p. 55–71, 2014. DOI: 10.1109/TMI.2012.2196707.
- NIKIFORUK, Agnieszka; KOS, Tomasz; POTASIEWICZ, Agnieszka; POPIK, Piotr. Positive allosteric modulation of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors enhances recognition memory and cognitive flexibility in rats. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, Netherlands, v. 25, n. 8, p. 1300–1313, 2015. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2015.04.018.
- NISHI, Akinori; LIU, Feng; MATSUYAMA, Seiichiro; HAMADA, Miho; HIGASHI,

Hideho; NAIRN, Angus C.; GREENGARD, Paul. Metabotropic mGlu5 receptors regulate adenosine A2A receptor signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 100, n. 3, p. 1322–1327, 2003. DOI: 10.1073/pnas.0237126100.

NITHIANANTHARAJAH, Jess; HANNAN, Anthony J. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 7, n. 9, p. 697–709, 2006. DOI: 10.1038/nrn1970.

NOVATI, Arianna; HENTRICH, Thomas; WASSOUF, Zinah; WEBER, Jonasz J.; YU-TAEGER, Libo; DÉGLON, Nicole; NGUYEN, Huu Phuc; SCHULZE-HENTRICH, Julia M. Environment-dependent striatal gene expression in the BACHD rat model for Huntington disease. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–15, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-24243-z.

NUTT, John G. On-off phenomenon: Relation to levodopa pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 535–540, 1987. DOI: 10.1002/ana.410220415.

OBESO, J. A.; GRANDAS, F.; HERRERO, M. T.; HOROWSKI, R. REVIEW: The Role of Pulsatile Versus Continuous Dopamine Receptor Stimulation for Functional Recovery in Parkinson's Disease. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 889–897, 1994. DOI: 10.1111/j.1460-9568.1994.tb00584.x.

OHLINE, S. M.; ABRAHAM, W. C. Environmental enrichment effects on synaptic and cellular physiology of hippocampal neurons. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 145, p. 3–12, 2019. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.04.007.

OKUDA, Shoki; ROOZENDAAL, Benno; MCGAUGH, James L. Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 101, n. 3, p. 853–858, 2004. DOI: 10.1073/pnas.0307803100.

OLANOW, C. Warren; OBESO, Jose A.; STOCCHI, Fabrizio. Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications. **Lancet Neurology**, [S. l.], v. 5, n. 8, p. 677–687, 2006. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70521-X.

OSSOWSKA, K.; KONIECZNY, J.; WOLFARTH, S.; PILC, A. MTEP, a new selective antagonist of the metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGluR5), produces antiparkinsonian-like effects in rats. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 49, n. 4, p. 447–455, 2005. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2005.04.002.

OUATTARA, Bazoumana et al. Metabotropic glutamate receptor type 5 in levodopa-induced motor complications. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 32, n. 7, p. 1286–1295, 2011. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2009.07.014.

OUATTARA, Bazoumana; GASPARINI, Fabrizio; MORISSETTE, Marc; GRÉGOIRE, Laurent; SAMADI, Pershia; GOMEZ-MANCILLA, Baltazar; DI PAOLO, Thérèse. Effect of l-Dopa on metabotropic glutamate receptor 5 in the brain of parkinsonian monkeys. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 113, n. 3, p. 715–724, 2010. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06635.x.

PAHWA, R. et al. Practice parameter: Treatment of Parkinson disease with motor fluctuations and dyskinesia (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. **Neurology**, [S. l.], v. 66, n. 7, p. 983–995, 2006. DOI: 10.1212/01.wnl.0000215250.82576.87.

PALMA, Eleonora; CONTI, Luca; ROSETI, Cristina; LIMATOLA, Cristina. Novel approaches to study the involvement of $\alpha 7$ -nAChR in human diseases. **Current drug targets**, [S. l.], v. 13, n. 5, p. 579–586, 2012. DOI: 10.2174/138945012800398838.

PAQUET, Maryse; RIBEIRO, Fabiola M.; GUADAGNO, Jennifer; ESSELTINE, Jessica L.; FERGUSON, Stephen S. G.; CREGAN, Sean P. Role of metabotropic glutamate receptor 5 signaling and homer in oxygen glucose deprivation-mediated astrocyte apoptosis. **Molecular Brain**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1–11, 2013. DOI: 10.1186/1756-6606-6-9.

PARAOANU, Laura E.; LAYER, Paul G. Acetylcholinesterase in cell adhesion, neurite growth and network formation. **FEBS Journal**, [S. l.], v. 275, n. 4, p. 618–624, 2008. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.06237.x.

PARK, Jong Min; SEONG, Ho Hyun; JIN, Han Byeol; KIM, Youn Jung. The Effect of Long-Term Environmental Enrichment in Chronic Cerebral Hypoperfusion-Induced Memory Impairment in Rats. **Biological Research for Nursing**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 278–286, 2017. DOI: 10.1177/1099800416686179.

PARK, Joo Hyun; KIM, Do Hoon; KWON, Do Young; CHOI, Moonyoung; KIM, Shinhye; JUNG, Jin Hyung; HAN, Kyungdo; PARK, Yong Gyu. Trends in the incidence and prevalence of Parkinson's disease in Korea: a nationwide, population-based study. **BMC Geriatrics**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 1–10, 2019. DOI: 10.1186/s12877-019-1332-7.

PARKINSON, James. An essay on the shaking palsy. 1817. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 223–236, 2002. DOI: 10.1176/jnp.14.2.223.

PARSONS, Stanley M. Transport mechanisms in acetylcholine and monoamine storage. **FASEB J**, [S. l.], v. 14, n. 15, p. 2423–34, 2000. DOI: 10.1096/fj.00-0203.

PASSINEAU, Michael J.; GREEN, Edward J.; DIETRICH, W. Dalton. Therapeutic effects of environmental enrichment on cognitive function and tissue integrity following severe traumatic brain injury in rats. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 168, n. 2, p. 373–384, 2001. DOI: 10.1006/exnr.2000.7623.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition**. [s.l.] : Elsevier, 2006.

PEREIRA, Joana B.; AARSLAND, Dag; GINESTET, Cedric E.; LEBEDEV, Alexander V.; WAHLUND, Lars Olof; SIMMONS, Andrew; VOLPE, Giovanni; WESTMAN, Eric. Aberrant cerebral network topology and mild cognitive impairment in early Parkinson's disease. **Human Brain Mapping**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 2980–2995, 2015. DOI: 10.1002/hbm.22822.

PÉREZ, José Antonio Labra; MENOR, Julio. Daily Stimulation and Cognitive Functioning: The Importance of the Participation of Healthy Older People in Cognitively Demanding Everyday Activities. **European Journal of Investigation in Health, Psychology and Education**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 309–319, 2014. DOI: 10.1989/ejihpe.v4i3.78.

PERRY, E. K. et al. Cholinergic transmitter and neurotrophic activities in Lewy body dementia: Similarity to Parkinson's and distinction from Alzheimer disease. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 69–79, 1993. DOI: 10.1097/00002093-199307020-00002.

PERRY, E. K.; MORRIS, C. M.; COURT, J. A.; CHENG, A.; FAIRBAIRN, A. F.; MCKEITH, I. G.; IRVING, D.; BROWN, A.; PERRY, R. H. Alteration in nicotine binding

sites in Parkinson's disease, Lewy body dementia and Alzheimer's disease: Possible index of early neuropathology. **Neuroscience**, [S. I.], v. 64, n. 2, p. 385–395, 1995. DOI: 10.1016/0306-4522(94)00410-7.

PERRY, E. K.; SMITH, C. J.; COURT, J. A.; PERRY, R. H. Cholinergic nicotinic and muscarinic receptors in dementia of Alzheimer, Parkinson and Lewy body types. **Journal of Neural Transmission - Parkinson's Disease and Dementia Section**, [S. I.], v. 2, n. 3, p. 149–158, 1990. DOI: 10.1007/BF02257646.

PETROSKE, E.; MEREDITH, G. E.; CALLEN, S.; TOTTERDELL, S.; LAU, Y. Mouse Model of Parkinsonism. [S. I.], v. 106, n. 3, p. 589–601, 2001.

PEZZOLI, Gianni; CEREDA, Emanuele. Exposure to pesticides or solvents and risk of Parkinson disease. **Neurology**, [S. I.], v. 80, n. 22, p. 2035–2041, 2013. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318294b3c8.

PIGGOTT, Margaret A. et al. Muscarinic receptors in basal ganglia in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, [S. I.], v. 25, n. 3, p. 161–173, 2003. DOI: 10.1016/S0891-0618(03)00002-4.

PIGOTT, Kara et al. Longitudinal study of normal cognition in Parkinson disease. **Neurology**, [S. I.], v. 85, n. 15, p. 1276–1282, 2015..

PIMLOTT, S. L.; PIGGOTT, M.; OWENS, J.; GREALLY, E.; COURT, J. A.; JAROS, E.; PERRY, R. H.; PERRY, E. K.; WYPER, D. Nicotinic Acetylcholine Receptor Distribution in Alzheimer's Disease, Dementia with Lewy Bodies, Parkinson's Disease, and Vascular Dementia: In Vitro Binding Study Using 5-[125I]-A-85380. **Neuropsychopharmacology**, [S. I.], v. 29, n. 1, p. 108–116, 2004. DOI: 10.1038/sj.npp.1300302.

PIN, J. P.; DUVOISIN, R. The metabotropic glutamate receptors: Structure and functions. **Neuropharmacology**, [S. I.], v. 34, n. 1, p. 1–26, 1995. DOI: 10.1016/0028-3908(94)00129-G.

PIRES, Rita G. W.; PEREIRA, Silvia R. C.; OLIVEIRA-SILVA, Ieda F.; FRANCO, Glaura C.; RIBEIRO, Angela M. Cholinergic parameters and the retrieval of learned and re-learned spatial information: a study using a model of Wernicke-Korsakoff Syndrome. **Behavioural brain research**, [S. I.], v. 162, n. 1, p. 11–21, 2005. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.02.032..

POEWE, Werner; ANTONINI, Angelo. Novel formulations and modes of delivery of levodopa. **Movement Disorders**, [S. I.], v. 30, n. 1, p. 114–120, 2015. DOI: 10.1002/mds.26078.

POEWE, Werner; SEPPI, Klaus; TANNER, Caroline M.; HALLIDAY, Glenda M.; BRUNDIN, Patrik; VOLKMANN, Jens; SCHRAG, Anette Eleonore; LANG, Anthony E. Parkinson disease. **Nature Reviews Disease Primers**, [S. I.], v. 3, p. 1–21, 2017. DOI: 10.1038/nrdp.2017.13.

POLETTI, Michele; BONUCCELLI, Ubaldo. Acute and chronic cognitive effects of levodopa and dopamine agonists on patients with Parkinson's disease: A review. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, [S. I.], v. 3, n. 2, p. 101–113, 2013. DOI: 10.1177/2045125312470130.

POLETTI, Michele; DE ROSA, Anna; BONUCCELLI, Ubaldo. Affective symptoms and cognitive functions in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, [S. I.], v. 317, n. 1–2, p. 97–102, 2012. DOI: 10.1016/j.jns.2012.02.022.

POLYMEROPOULOS, Mihael H. et al. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. **Science**, [S. l.], v. 276, n. 5321, p. 2045–2047, 1997. DOI: 10.1126/science.276.5321.2045.

POTHAKOS, Konstantinos; KURZ, Max J.; LAU, Yuen Sum. Restorative effect of endurance exercise on behavioral deficits in the chronic mouse model of Parkinson's disease with severe neurodegeneration. **BMC Neuroscience**, [S. l.], v. 10, p. 1–14, 2009. DOI: 10.1186/1471-2202-10-6.

PRADO LIMA, Mariza G.; SCHIMIDT, Helen L.; GARCIA, Alexandre; DARÉ, Letícia R.; CARPES, Felipe P.; IZQUIERDO, Ivan; MELLO-CARPES, Pâmela B. Environmental enrichment and exercise are better than social enrichment to reduce memory deficits in amyloid beta neurotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 115, n. 10, p. E2403–E2409, 2018. a. DOI: 10.1073/pnas.1718435115.

PRADO LIMA, Mariza G.; SCHIMIDT, Helen L.; GARCIA, Alexandre; DARÉ, Letícia R.; CARPES, Felipe P.; IZQUIERDO, Ivan; MELLO-CARPES, Pâmela B. Environmental enrichment and exercise are better than social enrichment to reduce memory deficits in amyloid beta neurotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 115, n. 10, p. E2403–E2409, 2018. b. DOI: 10.1073/pnas.1718435115.

PREDIGER, Rui D. S.; BATISTA, Luciano C.; MEDEIROS, Rodrigo; PANDOLFO, Pablo; FLORIO, Jorge C.; TAKAHASHI, Reinaldo N. The risk is in the air: Intranasal administration of MPTP to rats reproducing clinical features of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 202, n. 2, p. 391–403, 2006. DOI: 10.1016/j.expneurol.2006.07.001.

PRINGSHEIM, Tamara; JETTE, Nathalie; FROLKIS, Alexandra; STEEVES, Thomas D. L. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 29, n. 13, p. 1583–1590, 2014. DOI: 10.1002/mds.25945.

PRZEDBROSKI, S.; LEVIVER, M.; JIANG, H.; FERREIRA, M.; JACKSON-LEWIS, V.; DONALDSON, D.; TOGASAKI, D. M. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine. **Neuroscience**, [S. l.], v. 67, n. 3, p. 631–647, 1995. DOI: 10.1016/0306-4522(95)00066-R.

RADABAUGH, Hannah L.; CARLSON, Lauren J.; LAPORTE, Megan J.; CHENG, Jeffrey P.; BONDI, Corina O.; KLINE, Anthony E.; NEUROCIENCIAS, De; MEDICINE, Care. Abbreviated environmental enrichment confers neurobehavioral, cognitive, and histological benefits in brain-injured female rats. **Exp Neurol.**, [S. l.], v. 286, p. 61–68, 2016. DOI: 10.1016/j.expneurol.2016.09.015.Abbreviated.

RADAD, Khaled S.; AL-SHRAIM, Mubarak M.; MOUSTAFA, Mahmoud F.; RAUSCH, Wolf Dieter. Neuroprotective role of thymoquinone against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced dopaminergic cell death in primary mesencephalic cell culture. **Neurosciences**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 10–16, 2015. DOI: 10.4103/pm.pm.

RAMPON, Claire; JIANG, Cecilia H.; DONG, Helin; TANG, Ya Ping; LOCKHART, David J.; SCHULTZ, Peter G.; TSIEN, Joe Z.; HU, Yinghe. Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 97, n. 23, p. 12880–12884, 2000. DOI: 10.1073/pnas.97.23.12880.

RASCOL, A.; GUIRAUD, B.; MONTASTRUC, J. L.; DAVID, J.; CLANET, M. Long-term treatment of Parkinson's disease with bromocriptine. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 143–150, 1979. DOI: 10.1136/jnnp.42.2.143.

RAVENELLE, R.; SANTOLUCITO, H. B.; BYRNES, E. M.; BYRNES, J. J.; DONALDSON, S. T. Housing environment modulates physiological and behavioral responses to anxiogenic stimuli in trait anxiety male rats. **Neuroscience**, [S. l.], v. 270, p. 76–87, 2014. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.03.060.

RAY DORSEY, E. et al. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet Neurology**, [S. l.], v. 17, n. 11, p. 939–953, 2018. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30295-3.

REDOLAT, Rosa; MESA-GRESA, Patricia. Potential Benefits and Limitations of Enriched Environments and Cognitive Activity on Age-Related Behavioural Decline. **Curr Topics Behav Neurosci**, [S. l.], v. 10, p. 293–316, 2012. DOI: 10.1007/7854.

RENÉ MISSLIN; ROPARTZ1, PHILIPPE. RESPONSES IN MICE TO A NOVEL OBJECT. **behaviour**, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 169–177, 1981. Disponível em: <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>.

RIBEIRO, Fabiola M.; DEVRIES, Rebecca A.; HAMILTON, Alison; GUIMARAES, Isabella M.; CREGAN, Sean P.; PIRES, Rita G. W.; FERGUSON, Stephen S. G. Metabotropic glutamate receptor 5 knockout promotes motor and biochemical alterations in a mouse model of Huntington's disease. **Human Molecular Genetics**, [S. l.], v. 23, n. 8, p. 2030–2042, 2014. DOI: 10.1093/hmg/ddt598.

RIBEIRO, Fabiola M.; VIEIRA, Luciene B.; PIRES, Rita G. W.; OLMO, Roenick P.; FERGUSON, Stephen S. G. Metabotropic glutamate receptors and neurodegenerative diseases. **Pharmacological Research**, [S. l.], v. 115, p. 179–191, 2017. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.11.013.

RICHARDSON, Jason R. et al. Developmental exposure to the pesticide dieldrin alters the dopamine system and increases neurotoxicity in an animal model of Parkinson's disease. **The FASEB Journal**, [S. l.], v. 20, n. 10, p. 1695–1697, 2006. DOI: 10.1096/fj.06-5864fje.

RINNE, J. O.; MYLLYKYLÄ, Tuula; LÖNNBERG, Pirkko; MARJAMÄKI, Päivi. A postmortem study of brain nicotinic receptors in Parkinson's and Alzheimer's disease. **Brain Research**, [S. l.], v. 547, n. 1, p. 167–170, 1991. DOI: 10.1016/0006-8993(91)90588-M.

RINNE, Juha O.; MLIC, Jaana Rummukainen; PALJÄRVI, Leo; RINNE, Urpo K. Dementia in Parkinson's disease is related to neuronal loss in the medial substantia nigra. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 47–50, 1989. DOI: 10.1002/ana.410260107.

ROBBERT HAVEKESA; ABELA, Ted; ZEEB, Eddy A. Van der. The cholinergic system and neostriatal memory functions. **Behav Brain Res.**, [S. l.], v. 221, n. 1, p. 412–423, 2011. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.956839.

ROBELET, S.; MELON, C.; GUILLET, B.; SALIN, P.; KERKERIAN-LE GOFF, L. Chronic L-DOPA treatment increases extracellular glutamate levels and GLT1 expression in the basal ganglia in a rat model of Parkinson's disease. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 20, n. 5, p. 1255–1266, 2004. DOI:

10.1111/j.1460-9568.2004.03591.x.

ROBINSON, Lianne; GOONAWARDENA, Anushka V; PERTWEE, Roger; HAMPSON, Robert E.; PLATT, Bettina; RIEDEL, Gernot. WIN55 , 212-2 induced deficits in spatial learning are mediated by cholinergic hypofunction. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 208, n. 2, p. 584–592, 2010. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.01.004.

ROJAS-CARVAJAL, Mijail; FORNAGUERA, Jaime; MORA-GALLEGOS, Andrea; BRENES, Juan C. Testing experience and environmental enrichment potentiated open-field habituation and grooming behaviour in rats. **Animal Behaviour**, [S. l.], v. 137, p. 225–235, 2018. DOI: 10.1016/j.anbehav.2018.01.018.

ROMMELFANGER, K. S.; EDWARDS, G. L.; FREEMAN, K. G.; LILES, L. C.; MILLER, G. W.; WEINSHENKER, D. Norepinephrine loss produces more profound motor deficits than MPTP treatment in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 104, n. 34, p. 13804–13809, 2007. DOI: 10.1073/pnas.0702753104.

ROSENZWEIG, Mark R.; BENNETT, Edward L. Psychobiology of plasticity: Effects of training and experience on brain and behavior. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 78, n. 1, p. 57–65, 1996. DOI: 10.1016/0166-4328(95)00216-2.

ROSENZWEIG, Mark R.; BENNETT, Edward L.; HEBERT, Marie; MORIMOTO, Hiromi. Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments. **Brain Research**, [S. l.], v. 153, n. 3, p. 563–576, 1978. DOI: 10.1016/0006-8993(78)90340-2.

ROUSSELET, Estelle; JOUBERT, Chantal; CALLEBERT, Jacques; PARAIN, Karine; TREMBLAY, Léon; ORIEUX, Gaël; LAUNAY, Jean Marie; COHEN-SALMON, Charles; HIRSCH, Etienne C. Behavioral changes are not directly related to striatal monoamine levels, number of nigral neurons, or dose of parkinsonian toxin MPTP in mice. **Neurobiology of Disease**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 218–228, 2003. DOI: 10.1016/S0969-9961(03)00108-6.

RUBERG, Merle; PLOSKA, Alain; JAVOY-AGID, France; AGID, Yves. MUSCARINIC BINDING AND CHOLINE ACETYLTRANSFERASE ACTIVITY IN PARKINSONIAN SUBJECTS WITH REFERENCE TO DEMENTIA. **Brain Research**, [S. l.], v. 232, p. 129–139, 1982.

RUBERG, Merle; RIEGER, François; VILLAGEOIS, Albert; BONNET, Anne Marie; AGID, Yves. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in frontal cortex and cerebrospinal fluid of demented and non-demented patients with Parkinson's disease. **Brain Research**, [S. l.], v. 362, n. 1, p. 83–91, 1986. DOI: 10.1016/0006-8993(86)91401-0.

SADIGH-ETEGHAD, S.; TALEBI, M.; MAHMOUDI, J.; BABRI, S.; SHANEHBANDI, D. Selective activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor by PHA-543613 improves A β 25-35-mediated cognitive deficits in mice. **Neuroscience**, United States, v. 298, p. 81–93, 2015. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.04.017.

SAKALEM, Marna Eliana et al. Environmental enrichment and physical exercise revert behavioral and electrophysiological impairments caused by reduced adult neurogenesis. **Hippocampus**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 36–51, 2017. DOI: 10.1002/hipo.22669.

SALE, Alessandro. A Systematic Look at Environmental Modulation and Its Impact in

Brain Development. **Trends in Neurosciences**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 4–17, 2018. DOI: 10.1016/j.tins.2017.10.004.

SAMPEDRO-PIQUERO, P.; BEGEGA, A. Environmental Enrichment as a Positive Behavioral Intervention Across the Lifespan. **Current Neuropharmacology**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 459–470, 2016. DOI: 10.2174/1570159x14666160325115909.

SANTANGELO, Gabriella et al. Mild Cognitive Impairment in newly diagnosed Parkinson's disease: A longitudinal prospective study. **Parkinsonism and Related Disorders**, [S. l.], v. 21, n. 10, p. 1219–1226, 2015. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2015.08.024.

SAVICA, R.; CARLIN, J. M.; GROSSARDT, B. R.; BOWER, J. H.; AHLKOG, J. E.; MARAGANORE, D. M.; BHARUCHA, A. E.; ROCCA, W. A. Medical records documentation of constipation preceding Parkinson disease: A case-control study. **Neurology**, [S. l.], v. 73, n. 21, p. 1752–1758, 2009. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181c34af5.

SAVICA, R.; GROSSARDT, B. R.; H.BOWER, J.; AHLKOG, J. E.; ROCCA, W. A. Incidence and pathology of synucleinopathies and tauopathies related to parkinsonism. **JAMA Neurol.**, [S. l.], v. 70, n. 7, p. 859–866, 2013. DOI: 10.1038/jid.2014.371..

SCARR, Elizabeth; SEO, Myoung Suk; AUMANN, Timothy Douglas; CHANA, Gursharan; EVERALL, Ian Paul; DEAN, Brian. The distribution of muscarinic M1 receptors in the human hippocampus. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, [S. l.], v. 77, p. 187–192, 2016. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2016.07.006.

SCHAPIRA, Anthony H. V.; CHAUDHURI, K. Ray; JENNER, Peter. Non-motor features of Parkinson disease. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 18, n. 7, p. 435–450, 2017. DOI: 10.1038/nrn.2017.62.

SCHILDKNECHT, Stefan; DI MONTE, Donato A.; PAPE, Regina; TIEU, Kim; LEIST, Marcel. Tipping Points and Endogenous Determinants of Nigrostriatal Degeneration by MPTP. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 38, n. 6, p. 541–555, 2017. DOI: 10.1016/j.tips.2017.03.010.

SCHOBBER, A.; MINICHELLO, L.; KELLER, M.; HUBER, K.; LAYER, P. G.; ROIG-LOPEZ, J. L.; GARCIA-ARRARAS, J. E.; KLEIN, R.; UNSICKER, K. Reduced acetylcholinesterase (AChE) activity in adrenal medulla and loss of sympathetic preganglionic neurons in TrkA-deficient, but not TrkB-deficient, mice. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 17, n. 3, p. 891–903, 1997. DOI: 10.1055/s-0033-1360028.

SCHRAG, Anette; SAUERBIER, Anna; CHAUDHURI, Kallol Ray. New clinical trials for nonmotor manifestations of Parkinson's disease. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 30, n. 11, p. 1490–1504, 2015. DOI: 10.1002/mds.26415.

SCHULZ, Jonathan; PAGANO, Gennaro; FERNÁNDEZ BONFANTE, Juan Alberto; WILSON, Heather; POLITIS, Marios. Nucleus basalis of Meynert degeneration precedes and predicts cognitive impairment in Parkinson's disease. **Brain**, [S. l.], v. 141, n. 5, p. 1501–1516, 2018. DOI: 10.1093/brain/awy072.

SCHWAB, Robert S.; ENGLAND, Albert C.; POSKANZER, David C.; YOUNG, Robert R. Amantadine in the Treatment of Parkinson ' s Disease Amantadme. [S. l.], v. 208, n. 7, p. 1168–1170, 1969.

SCHWARTING, Rainer K. W.; SEDELIS, Marco; HOFELE, Katja; AUBURGER, Georg W.; HUSTON, Joseph P. Strain-dependent recovery of open-field behavior and striatal

dopamine deficiency in the mouse MPTP model of Parkinson's disease. **Neurotoxicity Research**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 41–56, 1999. DOI: 10.1007/BF03033338.

SCONCE, M. D.; CHURCHILL, M. J.; GREENE, R. E.; MESHUL, C. K. Intervention with exercise restores motor deficits but not nigrostriatal loss in a progressive MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Neuroscience**, [S. l.], v. 299, n. May, p. 156–174, 2015. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.04.069.

SEDELIS, Marco; HOFELE, Katja; AUBURGER, Georg W.; MORGAN, Sarah; HUSTON, Joseph P.; SCHWARTING, Rainer K. W. MPTP susceptibility in the mouse: Behavioral, neurochemical, and histological analysis of gender and strain differences. **Behavior Genetics**, [S. l.], v. 30, n. 3, p. 171–182, 2000. DOI: 10.1023/A:1001958023096.

SEIBENHENER, Michael L.; WOOTEN, Michael C. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], n. 96, p. 1–6, 2015. DOI: 10.3791/52434.

SHARMA, Vibhash D.; LYONS, Kelly E.; PAHWA, Rajesh. Amantadine extended-release capsules for levodopa-induced dyskinesia in patients with Parkinson ' s disease. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, [S. l.], v. 14, p. 665–673, 2018. DOI: 10.2147/TCRM.S144481.

SHAW, Robert. Cabergoline assessed in Parkinson's disease. **The Lancet**, [S. l.], v. 346, n. 8985, p. 1290, 1995. DOI: 10.1016/s0140-6736(95)91885-x.

SHIGEMOTO, Ryuichi; NOMURA, Sakashi; OHISHI, Hitoshi; SUGIHARA, Hidemitsu; NAKANISHI, Shigetada; MIZUNO, Noboru. Immunohistochemical localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR5, in the rat brain. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 163, n. 1, p. 53–57, 1993. DOI: 10.1016/0304-3940(93)90227-C.

SHIMIZU, K. et al. Carrier-mediated processes in blood-brain barrier penetration and neural uptake of paraquat. **Brain Research**, [S. l.], v. 906, n. 1–2, p. 135–142, 2001. DOI: 10.1016/S0006-8993(01)02577-X.

SHIOTSUKI, Hiromi; YOSHIMI, Kenji; SHIMO, Yasushi; FUNAYAMA, Manabu; TAKAMATSU, Yukio; IKEDA, Kazutaka; TAKAHASHI, Ryosuke; KITAZAWA, Shigeru; HATTORI, Nobutaka. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. **Journal of Neuroscience Methods**, [S. l.], v. 189, n. 2, p. 180–185, 2010. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.03.026.

SHIOZAKI, Kazumasa; ISEKI, Eizo; HINO, Hiroaki; KOSAKA, Kenji. Distribution of m1 muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus of patients with Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies - An immunohistochemical study. **Journal of the Neurological Sciences**, [S. l.], v. 193, n. 1, p. 23–28, 2001. DOI: 10.1016/S0022-510X(01)00638-4.

SILVA, Berenice Anabel; LEAL, María Celeste; FARÍAS, María Isabel; ERHARDT, Brenda; GALEANO, Pablo; PITOSI, Fernando Juan; FERRARI, Carina Cintia. Environmental enrichment improves cognitive symptoms and pathological features in a focal model of cortical damage of multiple sclerosis. **Brain Research**, [S. l.], v. 1727, n. August 2019, p. 146520, 2020. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.146520.

SILVA, Cristina Martins E.; SILVA, Cristina Martins E. AVALIAÇÃO NEUROQUÍMICA DO SISTEMA CAMUNDONGOS COM O GENE DO TRANSPORTADOR VESICULAR DE ACETILCOLINA (VACHT) MODIFICADO [S. l.], 2008.

SIMPSON, Joy; KELLY, John P. The impact of environmental enrichment in laboratory

rats-Behavioural and neurochemical aspects. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 222, n. 1, p. 246–264, 2011. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.04.002.

SIMUNI, Tanya et al. Bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in patients with Parkinson disease: A study of efficacy and safety. **Journal of Neurosurgery**, [S. l.], v. 96, n. 4, p. 666–672, 2002. DOI: 10.3171/jns.2002.96.4.0666.

SINGH, Babita; PANDEY, Shivani; YADAV, Satyendra Kumar; VERMA, Rajesh; SINGH, Surya Pratap; MAHDI, Abbas Ali. Role of ethanolic extract of *Bacopa monnieri* against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) induced mice model via inhibition of apoptotic pathways of dopaminergic neurons. **Brain Research Bulletin**, [S. l.], v. 135, p. 120–128, 2017. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2017.10.007.

SINGHAL, Gaurav; JAEHNE, Emily J.; CORRIGAN, Frances; BAUNE, Bernhard T. Cellular and molecular mechanisms of immunomodulation in the brain through environmental enrichment. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [S. l.], v. 8, n. 1 APR, p. 1–29, 2014. DOI: 10.3389/fncel.2014.00097.

SKILLINGS, Elizabeth A.; WOOD, Nigel I.; MORTON, A. Jennifer. Beneficial effects of environmental enrichment and food entrainment in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. **Brain and Behavior**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 675–686, 2014. DOI: 10.1002/brb3.235.

SMITH, Yolanda; WICHMANN, Thomas; FACTOR, Stewart A.; DELONG, Mahlon R. Parkinson's disease therapeutics: New developments and challenges since the introduction of levodopa. **Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 213–246, 2012. DOI: 10.1038/npp.2011.212.

SONG, Jongbeom; LEE, Sang Suk; LIM, Sabina; YEO, Sujung. Mechanism of the neuroprotective effect of injecting brain cells on ST36 in an animal model of Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 717, p. 134698, 2020. a. DOI: 10.1016/j.neulet.2019.134698.

SONG, Min Kyung; KIM, Yoon Ju; LEE, Jae min; KIM, Youn Jung. Neurovascular integrative effects of long-term environmental enrichment on chronic cerebral hypoperfusion rat model. **Brain Research Bulletin**, [S. l.], v. 163, n. July, p. 160–169, 2020. b. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.07.020.

SPEISMAN, Rachel B.; KUMAR, Ashok; RANI, Asha; PASTORIZA, Jessica M.; SEVERANCE, Jamie E.; FOSTER, Thomas C.; ORMEROD, Brandi K. Environmental enrichment restores neurogenesis and rapid acquisition in aged rats. **Neurobiology of Aging**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 263–274, 2013. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.023.

SPILLANTINI, M. G.; CROWTHER, R. A.; JAKES, R.; HASEGAWA, M.; GOEDERT, M. α -Synuclein in Lewy bodies. **Nature**, [S. l.], v. 388, p. 839–840, 1997. DOI: 10.1038/42166.

STANDAERT, David. G.; GALANTER, Joshua. M. **Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica**. [s.l: s.n.].

STEINER, Barbara; WINTER, Christine; HOSMAN, Kai; SIEBERT, Eberhard; KEMPERMANN, Gerd; PETRUS, Dominique S.; KUPSCH, Andreas. Enriched environment induces cellular plasticity in the adult substantia nigra and improves motor behavior function in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 199, n. 2, p. 291–300, 2006. DOI: 10.1016/j.expneurol.2005.11.004.

STOKER, Thomas. B.; BCHIR, MB; GREENLAND, Julia. C. **Parkinson ' s Disease (book) Pathogenesis and Clinical Aspects.** [s.l: s.n.]. DOI: <http://dx.doi.org/10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.pr>.

SURMEIER, D. James; OBESO, José A.; HALLIDAY, Glenda M. Selective neuronal vulnerability in Parkinson's disease. **Nat Rev Neurosci.**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 101–113, 2017. DOI: 10.1016/bs.pbr.2020.02.005.

SWANSON, Christine R.; DU, Eric; JOHNSON, Delinda A.; JOHNSON, Jeffrey A.; EMBORG, Marina E. Neuroprotective properties of a novel non-thiazolinedione partial PPAR- γ agonist against MPTP. **PPAR Research**, [S. l.], v. 2013, 2013. DOI: 10.1155/2013/582809.

TANG, Hongmei et al. Chronic cerebral hypoperfusion independently exacerbates cognitive impairment within the pathopoiesis of Parkinson's disease via microvascular pathologys. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 333, p. 286–294, 2017. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.05.061.

TANG, Hongmei et al. Nogo-A/S1PR2 Signaling Pathway Inactivation Decreases Microvascular Damage and Enhances Microvascular Regeneration in PDMCI Mice. **Neuroscience**, [S. l.], v. 449, n. October, p. 21–34, 2020. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.09.057.

TANG, Y. P.; WANG, H.; FENG, R.; KYIN, M.; TSIEN, J. Z. Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 779–790, 2001. DOI: 10.1016/S0028-3908(01)00122-8.

TANNER, Caroline M.; GOLDMAN, Samuel M. EPIDEMIOLOGY OF PARKINSON'S DISEASE Carolinet. **NEUROEPIDEMIOLOGY**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 317–335, 1996.

TESTA, Claudia M.; STANDAERT, David G.; YOUNG, Anne B.; PENNEY, John B. Metabotropic glutamate receptor mRNA expression in the basal ganglia of the rat. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 14, n. 5 II, p. 3005–3018, 1994. DOI: 10.1523/jneurosci.14-05-03005.1994.

TILLERSON, Jennifer L.; CAUDLE, W. Michael; REVERÓN, Maria E.; MILLER, Gary W. Detection of behavioral impairments correlated to neurochemical deficits in mice treated with moderate doses of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 178, n. 1, p. 80–90, 2002. DOI: 10.1006/exnr.2002.8021.

TISON, François et al. A Phase 2A Trial of the Novel mGluR5-Negative Allosteric Modulator Dipraglurant for Levodopa-Induced Dyskinesia in Parkinson's Disease. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 31, n. 9, p. 1373–1380, 2016. DOI: 10.1002/mds.26659.

TITOVA, Nataliya; CHAUDHURI, K. Ray. Non-motor parkinson disease: New concepts and personalised management. **Medical Journal of Australia**, [S. l.], v. 208, n. 9, p. 404–409, 2018. DOI: 10.5694/mja17.00993.

TIZABI, Yousef; GETACHEW, Bruk. Nicotinic Receptor Intervention in Parkinson's Disease: Future Directions. **Clinical Pharmacology Transl Med**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 14–19, 2017.

TOWBIN, H.; STAEHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 76, n. 9, p. 4350–4354,

1979. DOI: 10.1073/pnas.76.9.4350.

TRANG, Amy; KHANDHAR, Paras B. Physiology, Acetylcholinesterase. *In: Treasure Island (FL).*

TREGELLAS, Jason R.; WYLIE, Korey P. Alpha7 nicotinic receptors as therapeutic targets in schizophrenia. **Nicotine and Tobacco Research**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 349–356, 2019. DOI: 10.1093/ntr/nty034.

TRINH, Joanne; FARRER, Matt. Advances in the genetics of Parkinson disease. **Nature Reviews Neurology**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. 445–454, 2013. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.132.

TSYBKO, A. S.; IL'CHIBAEVA, T. V.; KHOTSKIN, N. V.; KOVETSKAYA, A. I.; NAUMENKO, V. S.; POPOVA, N. K. The Effect of Atypical Antipsychotic Drugs on the Neurotrophic Factors Gene Expression in the MPTP Model of Parkinson's Disease. **Neurochemical Journal**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 169–175, 2019. DOI: 10.1134/s1819712419020120.

TWELVES, Dominique; PERKINS, Kate S. M.; COUNSELL, Carl. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 19–31, 2003. DOI: 10.1002/mds.10305.

UNGERSTEDT, Urban. 6-Hydroxy-Dopamine Induced Degeneration of Central Monoamine Neurons. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 107–110, 1968. DOI: 10.1016/0014-2999(68)90164-7.

VAILLANCOURT, David E.; SCHONFELD, Daniel; KWAK, Youngbin; BOHNEN, Nicolaas I.; SEIDLER, Rachael. Dopamine overdose hypothesis: Evidence and clinical implications. **Mov Disord**, [S. l.], v. 28, n. 14, p. 1–18, 2013. DOI: 10.1002/mds.25687.Dopamine.

VAN DER MARK, Marianne; BROUWER, Maartje; KROMHOUT, Hans; NIJSSEN, Peter; HUSS, Anke; VERMEULEN, Roel. Is pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results. **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 120, n. 3, p. 340–347, 2012. DOI: 10.1289/ehp.1103881.

VAN GOETHEM, Nick P.; RUTTEN, Kris; VAN DER STAAY, Franz Josef; JANS, Linda a. W.; AKKERMAN, Sven; STEINBUSCH, Harry W. M.; BLOKLAND, Arjan; VAN'T KLOOSTER, José; PRICKAERTS, Jos. Object recognition testing: Rodent species, strains, housing conditions, and estrous cycle. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 232, n. 2, p. 323–334, 2012. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.03.023.

VAN PRAAG, Henriette; KEMPERMANN, Gerd; GAGE, Fred H. Neural consequences of environmental enrichment. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 191–198, 2000. DOI: 10.1038/35044558.

VARMAN, Durairaj Ragu; RAJAN, Koilmani Emmanuvel. Environmental enrichment reduces anxiety by differentially activating serotonergic and neuropeptide y (NPY)-ergic system in Indian field mouse (*Mus booduga*): An animal model of post-traumatic stress disorder. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 1–23, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0127945.

VARTY, Geoffrey B.; PAULUS, Martin P.; BRAFF, David L.; GEYER, Mark A. Environmental enrichment and isolation rearing in the rat: Effects on locomotor behavior and startle response plasticity. **Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 47, n. 10, p. 864–873, 2000. DOI: 10.1016/S0006-3223(99)00269-3.

VARVEL, S. A.; HAMM, R.J.; LICHTMAN, A. H. Differential effects of Δ 9-THC on spatial

reference and working memory in mice. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 157, n. 2, p. 142–150, 2001. DOI: 10.1007/s002130100780.

VILA, Miquel; PRZEDBORSKI, Serge. Targeting programmed cell death in neurodegenerative diseases. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 365–375, 2003. DOI: 10.1038/nrn1100.

VILLALBA, Rosa M.; MATHAI, Abraham; SMITH, Yolanda. Morphological changes of glutamatergic synapses in animal models of Parkinson's disease. **Frontiers in Neuroanatomy**, [S. l.], v. 9, n. September, p. 1–16, 2015. DOI: 10.3389/fnana.2015.00117.

VIOLA, Giordano Gubert; BOTTON, Paulo Henrique; MOREIRA, Júlia Dubois; ARDAIS, Ana Paula; OSES, Jean Pierre; SOUZA, Diogo Onofre. Influence of environmental enrichment on an object recognition task in CF1 mice. **Physiology and Behavior**, [S. l.], v. 99, n. 1, p. 17–21, 2010. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009.10.003.

VITEK, Jerrold L.; JOHNSON, Luke A. Understanding Parkinson's disease and deep brain stimulation: Role of monkey models. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 116, n. 52, p. 26259–26265, 2019. DOI: 10.1073/pnas.1902300116.

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. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2005.04.007.

VORHEES, Charles V; WILLIAMS, Michael T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. **Nat Protoc**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 848–858, 2006. DOI: 10.1038/nprot.2006.116.Morris.

WALLACE, Tanya L.; PORTER, Richard H. P. Targeting the nicotinic alpha7 acetylcholine receptor to enhance cognition in disease. **Biochemical pharmacology**, England, v. 82, n. 8, p. 891–903, 2011. DOI: 10.1016/j.bcp.2011.06.034.

WANG, An Li; LIOU, Ying Ming; PAWLAK, Cornelius Rainer; HO, Ying Jui. Involvement of NMDA receptors in both MPTP-induced neuroinflammation and deficits in episodic-like memory in Wistar rats. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 208, n. 1, p. 38–46, 2010. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.11.006.

WANG, Li Yuan; YU, Xin; LI, Xiao Xi; ZHAO, Yi Nan; WANG, Chun Yan; WANG, Zhan You; HE, Zhi Yi. Catalpol Exerts a Neuroprotective Effect in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [S. l.], v. 11, n. November, p. 1–13, 2019. a. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00316.

WANG, Xiaohong et al. Lycium barbarum Polysaccharide Promotes Nigrostriatal Dopamine Function by Modulating PTEN/AKT/mTOR Pathway in a Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) Murine Model of Parkinson's Disease. **Neurochemical Research**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 938–947, 2018. DOI: 10.1007/s11064-018-2499-6.

WANG, Yuexiang; FENG, Lina; LIU, Shikun; ZHOU, Xiaoqing; YIN, Tao; LIU, Zhipeng; YANG, Zhuo. Transcranial Magneto-Acoustic Stimulation Improves Neuroplasticity in Hippocampus of Parkinson's Disease Model Mice. **Neurotherapeutics**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 1210–1224, 2019. b. DOI: 10.1007/s13311-019-00732-5.

WEI, Zhiyun et al. Environmental enrichment prevents A β oligomer-induced synaptic dysfunction through mirna-132 and hdac3 signaling pathways. **Neurobiology of Disease**, [S. l.], v. 134, n. May 2019, p. 104617, 2020. DOI:

10.1016/j.nbd.2019.104617..

WEINER, D. M.; LEVEY, A. I.; BRANN, M. R. Expression of muscarinic acetylcholine and dopamine receptor mRNAs in rat basal ganglia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 87, n. 18, p. 7050–7054, 1990. DOI: 10.1073/pnas.87.18.7050.

WEITZNER, Daniel S.; ENGLER-CHIURAZZI, Elizabeth B.; KOTILINEK, Linda A.; ASHE, Karen Hsiao; REED, Miranda Nicole. Morris water maze test: Optimization for mouse strain and testing environment. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], v. 2015, n. 100, p. 1–11, 2015. DOI: 10.3791/52706.

WEVERS, Andrea. Localisation of pre- and postsynaptic cholinergic markers in the human brain. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 221, n. 2, p. 341–355, 2011. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.02.025.

WHITEHOUSE, Peter J.; HEDREEN, John C.; WHITE, Charles L.; PRICE, Donald L. Basal forebrain neurons in the dementia of Parkinson disease. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 243–248, 1983. DOI: 10.1002/ana.410130304.

WILLIAM LANGSTON, J.; FORNO, Lysia S.; REBERT, Charles S.; IRWIN, Ian. Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. **Brain Research**, [S. l.], v. 292, n. 2, p. 390–394, 1984. DOI: 10.1016/0006-8993(84)90777-7.

WILLIS, Allison W.; SCHOOTMAN, Mario; KUNG, Nathan; EVANOFF, Bradley A.; PERLMUTTER, Joel. S.; BRAD A. RACETTE. Predictors of Survival in Parkinson Disease Allison. **Arch Neurol.**, [S. l.], v. 69, n. 5, p. 601–607, 2012. DOI: 10.1001/archneurol.2011.2370.Predictors.

WITJAS, T.; KAPHAN, E.; AZULAY, J. P.; BLIN, O.; CECCALDI, M.; POUGET, J.; PONCET, M.; ALI CHÉRIF, A. Nonmotor fluctuations in Parkinson's disease: Frequent and disabling. **Neurology**, [S. l.], v. 59, n. 3, p. 408–413, 2002. DOI: 10.1212/WNL.59.3.408.

WOLF, Elisabeth et al. Long-term antidyskinetic efficacy of amantadine in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, [S. l.], v. 25, n. 10, p. 1357–1363, 2010. DOI: 10.1002/mds.23034.

WU, Ying; RICHARD, Sandra; PARENT, André. The organization of the striatal output system: A single-cell juxtacellular labeling study in the rat. **Neuroscience Research**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. 49–62, 2000. DOI: 10.1016/S0168-0102(00)00140-1.

XIA, Ning; ZHANG, Qian; WANG, Shu Ting; GU, Li; YANG, Hui Min; LIU, Li; BAKSHI, Rachit; YANG, Hui; ZHANG, Hong. Blockade of metabotropic glutamate receptor 5 protects against DNA damage in a rotenone-induced Parkinson's disease model. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 89, p. 567–580, 2015. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.09.017.

XIAO-FENG, Liang; WEN-TING, Zhu; YUAN-YUAN, Xu; CHONG-FA, Lai; LU, Zheng; JIN-JUN, Rao; WEN-YA, Wang. Protective role of 6-Hydroxy-1-H-Indazole in an MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 791, p. 348–354, 2016. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.08.011.

XIE, Wenjun; GAO, Jieying; JIANG, Rong; LIU, Xinrong; LAI, Feng; TANG, Yong; XIAO, Hong; JIA, Yan; BAI, Qunhua. Twice subacute MPTP administrations induced time-dependent dopaminergic neurodegeneration and inflammation in midbrain and ileum, as well as gut microbiota disorders in PD mice. **Neurotoxicology**, [S. l.], v. 76,

- n. November 2019, p. 200–212, 2020. DOI: 10.1016/j.neuro.2019.11.009.
- YADAV, Satyendra Kumar; PANDEY, Shivani; SINGH, Babita. Role of estrogen and levodopa in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (mptp)-induced cognitive deficit in Parkinsonian ovariectomized mice model: A comparative study. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, [S. l.], v. 85, p. 50–59, 2017. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2017.07.002..
- YANG, Jing et al. Nicotine improved the olfactory impairment in MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. **NeuroToxicology**, [S. l.], v. 73, n. April, p. 175–182, 2019. DOI: 10.1016/j.neuro.2019.02.008.
- YANG, Wenya et al. Current and projected future economic burden of Parkinson's disease in the U.S. **npj Parkinson's Disease**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1–9, 2020. DOI: 10.1038/s41531-020-0117-1.
- YILDIZ, Demet; ERER, Sevda; ZARIFOĞLU, Mehmet; HAKYEMEZ, Bahattin; BAKAR, Mustafa; KARLI, Necdet; VARLIBAŞ, Zeynep Nigar; TUFAN, Fatih. Impaired cognitive performance and hippocampal atrophy in parkinson disease. **Turkish Journal of Medical Sciences**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 1173–1177, 2015. DOI: 10.3906/sag-1408-68.
- YOUNG, ANNE B.; PAN, HELEN S.; CILIAK, BRIAN J.; PENNEY, JOHN B. GABA AND BENZODIAZEPINE RECEPTORS IN BASAL GANGLIA FUNCTION. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 47, p. 361–367, 1984. DOI: 10.1016/0304-3940(84)90540-8.
- YOUNG, Jared W.; CRAWFORD, Nicola; KELLY, John S.; KERR, Lorraine E.; MARSTON, Hugh M.; SPRATT, Christopher; FINLAYSON, Keith; SHARKEY, John. Impaired attention is central to the cognitive deficits observed in alpha 7 deficient mice. **European Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. 145–155, 2007. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2006.03.008.
- YU, Liqun et al. Adenosine A2A receptor antagonists exert motor and neuroprotective effects by distinct cellular mechanisms. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 63, n. 3, p. 338–346, 2008. DOI: 10.1002/ana.21313.
- YUAN, Mei; ZHANG, Xin Xin; FU, Xiao Cui; BI, Xia. Enriched environment alleviates post-stroke cognitive impairment through enhancing $\alpha 7$ -nAChR expression in rats. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S. l.], v. 78, n. 10, p. 603–610, 2020. DOI: 10.1590/0004-282X20200081.
- YUAN, Zhen Yun; YANG, Jie; MA, Xiao Wei; WANG, Yan Yong; WANG, Ming Wei. Enriched environment elevates expression of growth associated protein-43 in the substantia nigra of SAMP8 mice. **Neural Regeneration Research**, [S. l.], v. 13, n. 11, p. 1988–1994, 2018. DOI: 10.4103/1673-5374.239447.
- ZANG, Lun Yi; MISRA, Hara P. Inactivation of acetylcholinesterase by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [S. l.], v. 254, n. 1–2, p. 131–136, 2003. DOI: 10.1023/A:1027376303043.
- ZHANG, Guoxin et al. New Perspectives on Roles of Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [S. l.], v. 10, n. November, p. 1–20, 2018. a. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00370.
- ZHANG, Jian Nan; HUANG, Yan Lin; YANG, Hui Min; WANG, Yuan; GU, Li; ZHANG, Hong. Blockade of metabotropic glutamate receptor 5 attenuates axonal degeneration in 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease. **Molecular and Cellular**

Neuroscience, [S. l.], v. 110, n. August 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.mcn.2020.103572.

ZHANG, Ke-Zhong; WU, Jing; WANG, Ye; RONG, Zhe; SUN, Li; CHENG, Yue. Autophagy Inhibition and Inflammation Activation Induced by Phosphorylated Alpha-synuclein Through Toll-like Receptor 2 Pathway in the Hippocampus of MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease Contribute to Its Cognitive Function Decline in the Early Stage. **Research Square**, [S. l.], p. 1–26, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-126752/v1>.

ZHANG, Qiu Shuang; HENG, Yang; MOU, Zheng; HUANG, Ju Yang; YUAN, Yu He; CHEN, Nai Hong. Reassessment of subacute MPTP-treated mice as animal model of Parkinson's disease. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S. l.], v. 38, n. 10, p. 1317–1328, 2017. DOI: 10.1038/aps.2017.49.

ZHANG, Xianwen; BAI, Liping; ZHANG, Se; ZHOU, Xiaoshuang; LI, Ye; BAI, Jie. Trx-1 ameliorates learning and memory deficits in MPTP-induced Parkinson's disease model in mice. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 124, p. 380–387, 2018. b. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.029.

ZHANG, YAFANG; FAN, ELIZABETH J. CROFTON XIUZHEN; LI, DINGGE; KONG, FANPING; SINHA, MALA; LUXON, BRUCE A.; SPRATT, HEIDI M.; LICHTI, CHERYL F.; GREEN, THOMAS A. CONVERGENT TRANSCRIPTOMICS AND PROTEOMICS OF ENVIRONMENTAL ENRICHMENT AND COCAINE IDENTIFIES NOVEL THERAPEUTIC STRATEGIES FOR ADDICTION. **Neuroscience**, [S. l.], v. 339, p. 254–266, 2016. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.09.051.

ZHANG, Zhu; ZHANG, Shiqing; FU, Pengfei; ZHANG, Zhang; LIN, Kaili; KO, Joshua Ka Shun; YUNG, Ken Kin Lam. Roles of glutamate receptors in Parkinson's disease. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 18, p. 1–17, 2019. DOI: 10.3390/ijms20184391.

ZHAO, Hongxin; NING, Yi; COOPER, James; REFOIOS CAMEJO, Rodrigo; NI, Xiajun; YI, Bingming; PARKS, Daniel. Indirect Comparison of Ropinirole and Pramipexole as Levodopa Adjunctive Therapy in Advanced Parkinson's Disease: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. **Advances in Therapy**, [S. l.], v. 36, n. 6, p. 1252–1265, 2019. a. DOI: 10.1007/s12325-019-00938-1.

ZHAO, Qing; LIU, Hui; CHENG, Jiwei; ZHU, Yudan; XIAO, Qian; BAI, Yu; TAO, Jie. Neuroprotective effects of lithium on a chronic MPTP mouse model of Parkinson's disease via regulation of α -synuclein methylation. **Molecular medicine reports**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 4989–4997, 2019. b. DOI: 10.3892/mmr.2019.10152.

ZHIVOTOSKY, B.; ORRENIUS, S. Assessment of Apoptosis and Necrosis by DNA. **Curr Protoc Cell Biol.**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 1–23, 2001. DOI: 10.1002/0471143030.cb1803s12.

ZHUO, Chuanjun; ZHU, Xiaodong; JIANG, Ronghuan; JI, Feng; SU, Zhonghua; XUE, Rong; ZHOU, Yuying. Comparison for Efficacy and Tolerability among Ten Drugs for Treatment of Parkinson's Disease: A Network Meta-Analysis. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, p. 1–14, 2017. DOI: 10.1038/srep45865.