Gabriela Pena Chaves Kirsten

O receptor canabinóide CB_1 nos núcleos da base e a sua participação no processo degenerativo em modelos da Doença de Parkinson

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Profa. Dra. Andréa da Silva Torrão

Versão original.

São Paulo
2013

RESUMO

CHAVES-KIRSTEN, G. P. **O receptor canabinóide CB_1 nos núcleos da base e a sua participação no processo degenerativo em modelos da Doença de Parkinson.** 2013. 162 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

O sistema canabinóide parece exercer um papel modulador em vários processos neurobiológicos, incluindo processos de neuroproteção, neurodegeneração e plasticidade neuronal. Os receptores canabinóides to tipo 1 (CB_1) são abundantemente expressos nos núcleos da base, porém existem poucos estudos morfológicos detalhados a respeito da localização exata do CB_1 nessa circuitaria. Além disso, este sistema tem sido explorado no contexto da Doença de Parkinson (DP), a segunda doença neurodegenerativa mais comum, e que tem como principal circuitaria afetada os núcleos da base. Dados atuais sobre a modulação do CB_1 em diferentes fases da DP, a relação do sistema canabinóide com outros neurotransmissores, bem como a participação de agentes canabinóides no processo de degeneração ou neuroproteção da DP são bastante controversos. Assim este trabalho teve como objetivos (1) investigar a localização dos receptores CB_1 nos núcleos da base de ratos, (2) avaliar o decurso temporal da expressão dos receptores CB_1 e de marcadores dos sistemas dopaminérgico e GABAérgico em um modelo experimental da DP *in vivo* e, (3) avaliar os efeitos do tratamento com compostos canabinóides em modelos experimentais da DP *in vivo* e *in vitro*. Assim em uma primeira etapa investigamos nos núcleos da base (estriado, substância negra – SN, globo pálido externo – GPe e globo pálido interno - GPi) de ratos intactos, o padrão de distribuição do receptor CB_1 com marcadores de células da glia (astrócitos, microglia e oligodendrócito), de elementos estruturais neurônios (axônios e dendritos), de neurônios dopaminérgicos (TH- tirosina hidroxilase) e de neurônios GABAérgicos (proteínas ligantes de cálcio parvalbumina e calbindina), através de estudos de dupla-marcação com imunofluorescência. Avaliamos o decurso temporal da expressão de $CB_{1,}$ TH, GABA, GAD (descarboxilase do ácido glutâmico), calbindina e parvalbumina nos núcleos da base, por imunohistoquímica e/ou *immunoblotting*, em ratos submetidos à injeção unilateral intraestriatal de 6-OHDA (modelo de DP *in vivo*). Neste mesmo modelo investigamos as alterações comportamentais motoras e histológicas após o tratamento com ACEA (agonista do receptor CB_1) e com AM 251 (antagonista do receptor CB_1). E por fim, avaliamos a viabilidade celular após o tratamento com ACEA, AM 251, AM 404 (inibidor da recaptação de anandamida – canabinóide endógeno) e canabidiol em uma linhagem de neuroblastoma (neuro-2a) diferenciada em neurônios dopaminérgicos e exposta á 6-OHDA (modelo de DP *in vitro*). O estudo de dupla-marcação mostrou que o receptor CB_1 é predominantemente expresso em neurônios nos núcleos da base principalmente em neurônios GABAérgicos. Além disso, no GPe e GPi, encontramos evidências da presença de CB_1 em dendritos. Nos nossos estudos de decurso temporal, observamos um aumento da expressão de CB_1 no GPe em períodos pós-lesão mais curtos, e uma diminuição progressiva na SN e GPi. Nenhuma alteração da expressão do CB_1 ao longo do tempo foi observada no estriado. Não houve variação da expressão de GABA, GAD e parvalbumina em nenhuma dos períodos pós-lesão estudados. Houve aumento de calbindina no estriado nos períodos mais curtos pós-lesão, e diminuição na SN nos períodos mais longos pós-lesão. Os níveis de TH diminuíram no estriado e SN. O tratamento com ACEA nesse modelo de DP parece ter sido prejudicial à lesão, observado

tanto nas análises neuroquímicas (discreta diminuição de TH na SN), como nas análises comportamentais. Por outro lado, o tratamento com AM 251, embora não tenha gerado diferenças neuroquímicas, gerou melhoras nos testes comportamentais. Por fim, dentre os tratamentos com agentes canabinóide em nosso modelo *in vitro*, o AM 404 mostrou uma discreta redução dos níveis de morte celular. Nossos resultados tomados em conjunto mostram a importância do sistema canabinóide na circuitaria dos núcleos da base. O receptor CB_1 é abundantemente expresso nessa circuitaria e parece estar localizado principalmente em neurônios GABAérgicos. No modelo de DP *in vivo* a variação complexa e diferenciada da expressão de CB_1 e calbindina nas diferentes estruturas dos núcleos da base ao longo do tempo, sugerem uma resposta dos neurônios GABAérgicos frente a falta de dopamina, que acreditamos estar relacionada a eventos de neuroplasticidade. Este dado é reforçado ainda, pelo fato de que a ativação aguda do CB_1 parece ter sido prejudicial à lesão, enquanto o bloqueio desse receptor mostrou melhoras comportamentais.

Palavras-chave: Sistema canabinóide. Receptor $CB_{1.}$ Núcleos da base. Doença de Parkinson. 6-OHDA. Neuroplasticidade.

ABSTRACT

CHAVES-KIRSTEN, G. P. **Cannabinoid receptor CB_1 in the basal ganglia and its participation in the degenerative process in Parkinson's Disease models.** 2013. 162 p. Ph. D. thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

The cannabinoid system seems to play a modulatory role in several neurobiological processes, including processes of neuroprotection, neurodegeneration and neuronal plasticity. Cannabinoid receptors type 1 (CB_1) are abundantly expressed in the basal ganglia, but there are few detailed morphological studies regarding the exact location of CB_1 in this circuitry. Moreover, this system has been explored in the context of Parkinson's Disease (PD), the second most common neurodegenerative disease, which has the basal ganglia as main circuitry affected. Current data on the modulation of CB_1 in different stages of PD, the relationship between the cannabinoid system with other neurotransmitters, as well as the involvement of cannabinoid agents in the process of degeneration or neuroprotection in the PD are quite controversial. Thus this study aimed to (1) investigate the localization of CB_1 receptors in the basal ganglia of rats, (2) evaluate the time course expression of CB_1 receptors and markers of dopaminergic and GABAergic systems in an *in vivo* experimental model of PD and, (3) evaluate the effects of treatment with cannabinoid compounds in *in vivo* and *in vitro* experimental models of PD. Thus in a first stage we investigated in the basal ganglia (striatum, substantia nigra - SN, external globus pallidus - EGP and internal globus pallidus - IGP) of intact rats, the distribution pattern of CB_1 receptor with markers for glial cells (astrocytes, oligodendrocyte and microglia), for structural neurons elements (axons and dendrites), for dopaminergic neurons (tyrosine hydroxylase, TH) and GABAergic neurons (calcium binding proteins parvalbumin and calbindin) by double-labeling studies with immunofluorescence. We evaluated the time course expression of CB_1, TH, GABA, GAD (glutamic acid decarboxylase), calbindin and parvalbumin in the basal ganglia, by immunohistochemistry and/or immunoblotting in rats subjected to unilateral intrastriatal injection of 6-OHDA (*in vivo* model of PD). In this same model we investigate the behavioral motor and histological changes following treatment with ACEA (CB_1 receptor agonist) and AM 251 (CB_1 receptor antagonist). Finally, we evaluated the cell viability after treatment with ACEA, AM 251, AM 404 (endogenous cannabinoid anandamide transport inhibitor) and cannabidiol in neuroblastoma (neuro-2A) cells differentiated into dopaminergic neurons and exposed to 6-OHDA (*in vitro* model of DP). Study of double-labeling showed that the CB_1 receptor is predominantly expressed in neurons in the basal ganglia, mainly in GABAergic neurons. Furthermore, IGP and EGP, we found evidence for the presence of CB_1 in dendrites. In our time course studies, we observed an increased expression of CB_1 in EGP in shorter periods post-lesion, and a progressive decrease in the SN and IGP. No change in the expression of CB1 over time was observed in the striatum. There was no variation in the expression of GABA, GAD and parvalbumin in any post-lesion periods studied. There was an increase in calbindin in the striatum in shorter periods post-lesion and a reduction in the SN in longer periods post-lesion. The TH levels decreased in the striatum and SN. Treatment with ACEA in this PD model seems to be harmful to the lesion, observed in both, neurochemical analysis (discrete TH decrease in SN), and in behavioral analysis. Moreover, treatment with AM 251, although no neurochemical differences were observed, it generated improvement in behavioral tests. Lastly, among the

treatments with cannabinoid agents in our *in vitro* model, the AM 404 showed a slight reduction in the cell death levels. Our results taken together show the importance of cannabinoid system in the basal ganglia circuitry. The CB_1 receptor is abundantly expressed in this circuitry and seems to be located mainly in GABAergic neurons. In the *in vivo* PD model the complex and differentiated variation of CB_1 and calbindina expression in the different structures of the basal ganglia over time, suggests a response of GABAergic neurons to the lack of dopamine, which we believe to be related to neuroplasticity events. This finding is reinforced further by the fact that acute activation of CB_1 seems to have been detrimental to the lesion, while the receptor blockade showed behavioral improvements.

Keywords: Cannabinoid system. CB_1 receptor. Basal ganglia. Parkinson's Disease, 6-OHDA. Neuroplasticity.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais

A planta *Cannabis sativa*, popularmente conhecida como maconha, tem sido amplamente utilizada ao longo da história da humanidade com fins recreativos, devido a seus efeitos psicoativos, e também terapêuticos, antiemético, anticonvulsivante, analgésico e estimulante do apetite. No entanto, a legalização para o uso terapêutico tem sido alvo de grandes discussões, dado seu potencial abuso e desenvolvimento de tolerância. O princípio psicoativo da maconha, o Δ^9-tetrahidrocanabinol (Δ^9-THC), e os outros componentes canabinóides são moléculas lipofílicas que exercem seus efeitos centrais por se ligarem a receptores de membrana específicos (MECHOULAM; PARKER, 2013). O sistema canabinóide endógeno parece desempenhar uma função modulatória em vários processos neurobiológicos, tais como funções motoras e cognitivas, antinocicepção, sono e comportamento alimentar, como sugerido pela distribuição anatômica de seus receptores e pelos efeitos farmacológicos bem conhecidos dos compostos relacionados aos canabinóides (AMERI, 1999; FERNANDÉZ-RUIZ et al., 2000; FRIDE; SHOHAMI, 2002; HOWLETT et al., 2002, 2004; PERTWEE, 1997, 2001). Vários estudos também apontam os canabinóides endógenos como moduladores dos processos ontogenéticos do encéfalo (BEGBIE; DOHERTY; GRAHAM, 2004; FERNANDÉZ-RUIZ et al., 2000; LEONELLI et al., 2005; RAMOS et al., 2002), propriedades neuroprotetoras em diversos modelos de neurotoxicidade (GRUNDY; RABUFFETTI; BELTRAMO, 2001; MATO; DEL OLMO; PAZOS, 2003; PARMENTIER-BATTEUR et al., 2002; VAN DER STELT et al., 2002, 2005) e como mediador de processos de plasticidade em diversas estruturas do sistema nervoso central (ALVARES et al., 2006; CHAVES et al., 2008; HASHIMOTODAN; OHNO-SHOSAKU; KANO, 2007; TAGLIAFERRO et al., 2006).

1.2 Sistema canabinóide

1.2.1 Canabinóides endógenos

Três compostos canabinóides endógenos já foram bem caracterizados até o momento, a “anandamida”, o éster 2-araquidonoil-glicerol (2–AG), e o 2-araquidonoil-

glicerol-éter. Esses três canabinóides endógenos são derivados do ácido graxo ω6-polinsaturado proveniente da dieta, o qual deriva de outros ácidos graxos essenciais. O precursor da anandamida é a N-araquidonilfosfatidiletanolamina (N-ArPE) que é formada através da ação da NAT (N-aciltransferase), uma enzima cálcio-dependente. A N-ArPE é clivada pela N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE)-fosfolipase D específica (NAPE-PLD), originando a anandamida e ácido fosfatídico. A biossíntese do 2-AG é iniciada pelo Ca^{2+} intracelular que induz a formação de diacilglicerol (DAG) na membrana através da estimulação da via da fosfatidil-inositol-fosfolipase C (PI-PLC). O 2-AG é o produto da DAG-liapase (DAGL) agindo na DAG (BASAVARAJAPPA, 2007; DI MARZO; MATIAS, 2005).

A anandamida e o 2-AG são os endocanabinóides mais estudados e existem diferenças entre suas concentrações no tecido nervoso, sendo a concentração de 2-AG aproximadamente 200 vezes maior que a de anandamida, por exemplo. Entretanto, a distribuição deles no encéfalo é bastante similar, pois ambos existem em maiores concentrações no tronco encefálico, estriado e hipocampo e em menores concentrações no córtex, diencéfalo e cerebelo. Curiosamente, parece não haver correlação entre as concentrações dos canabinóides endógenos e a distribuição de receptores canabinóides (FRIDE; SHOHAMI, 2002).

1.2.2 Receptores canabinóides

Os efeitos dos compostos canabinóides dependem então em grande parte dos receptores canabinóides (CB). Os receptores CB pertencem à família de receptores acoplados à proteína G e a análise da sequência primária de aminoácidos revela a presença de sete domínios transmembrânicos, uma porção N-terminal extracelular e uma porção C-terminal intracelular. O mecanismo de transdução dos sinais dos receptores CB envolve vias com a participação da proteína $G_{i/0}$, inibindo a adenilil ciclase e ativando quinases, e no caso dos receptores CB_1, ainda modulando canais iônicos (AMERI, 1999; DI MARZO et al., 1998; LUTZ, 2002).

Dois receptores CB foram identificados, um nomeado de CB_1 (MATSUDA et al., 1990), também conhecido anteriormente como o subtipo do sistema nervoso central, mas que também é encontrado em outras estruturas, tais como baço e tonsila, e em menor quantidade na glândula adrenal, coração, útero, ovário, testículo e em nervos simpáticos. O

outro receptor nomeado de CB_2 (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993), era previamente conhecido como o subtipo periférico, pois foi encontrado inicialmente em regiões marginais do baço, nas tonsilas e em células do sistema imune (AMERI, 1999), mas posteriormente encontrado no sistema nervoso central (FOWLER et al., 2001).

Os receptores do tipo CB_1 estão entre os receptores acoplados à proteína G mais abundantes no sistema nervoso central (SNC) e a sua distribuição foi bem caracterizada no encéfalo de ratos e de humanos. Em estudos com ligantes, as maiores densidades foram encontradas nos núcleos da base (substância negra (SN), globo pálido (GP), núcleo entopeduncular e estriado lateral) e no cerebelo. Altas densidades também foram encontradas nas células piramidais do hipocampo, no giro denteado e nas camadas I e IV do córtex. Densidades intermediárias de sítios de ligação foram encontradas no núcleo acumbens, e sítios esparsos ou ausentes no tronco encefálico, no bulbo e no hipotálamo (AMERI, 1999). Vários estudos que empregaram métodos de autorradiografia, hibridização *in situ* e imunohistoquímica também têm demonstrado a presença de receptores CB_1 em áreas do encéfalo de animais adultos, como no córtex cerebral, hipocampo, cerebelo e núcleos da base (GLASS; FAULL; DRAGUNOW, 1997; HERKENHAM et al., 1990; HERKENHAM et al., 1991a, b; MAILLEUX; VANDERHAEGHEN, 1992; TSOU et al., 1998).

Como citado anteriormente, acreditava-se que os receptores CB_2 eram encontrados apenas em tecidos e células do sistema imune. Entretanto, estudos mais recentes mostram que apesar de não estar presente no SNC em condições normais, este receptor pode aparecer em células gliais, nomeadas de microglia reativa, em resposta a diferentes condições prejudiciais associadas a eventos inflamatórios locais (FERNÁNDEZ-RUIZ et al., 2007). Apesar de controversos, outros estudos propõem que os receptores CB_2 podem estar presentes no cérebro, mesmo em condições normais (ONAIVI et al., 2006). Os receptores CB_2 foram mapeados em células gliais, incluindo microglia e astrócitos, progenitores neurais e oligodendrogliais, algumas subpopulações de neurônios, e em diferentes estruturas cerebrais de várias espécies, incluindo seres humanos, utilizando abordagens *in vivo* ou *in vitro* (para revisão ver FERNÁNDEZ-RUIZ et al., 2008).

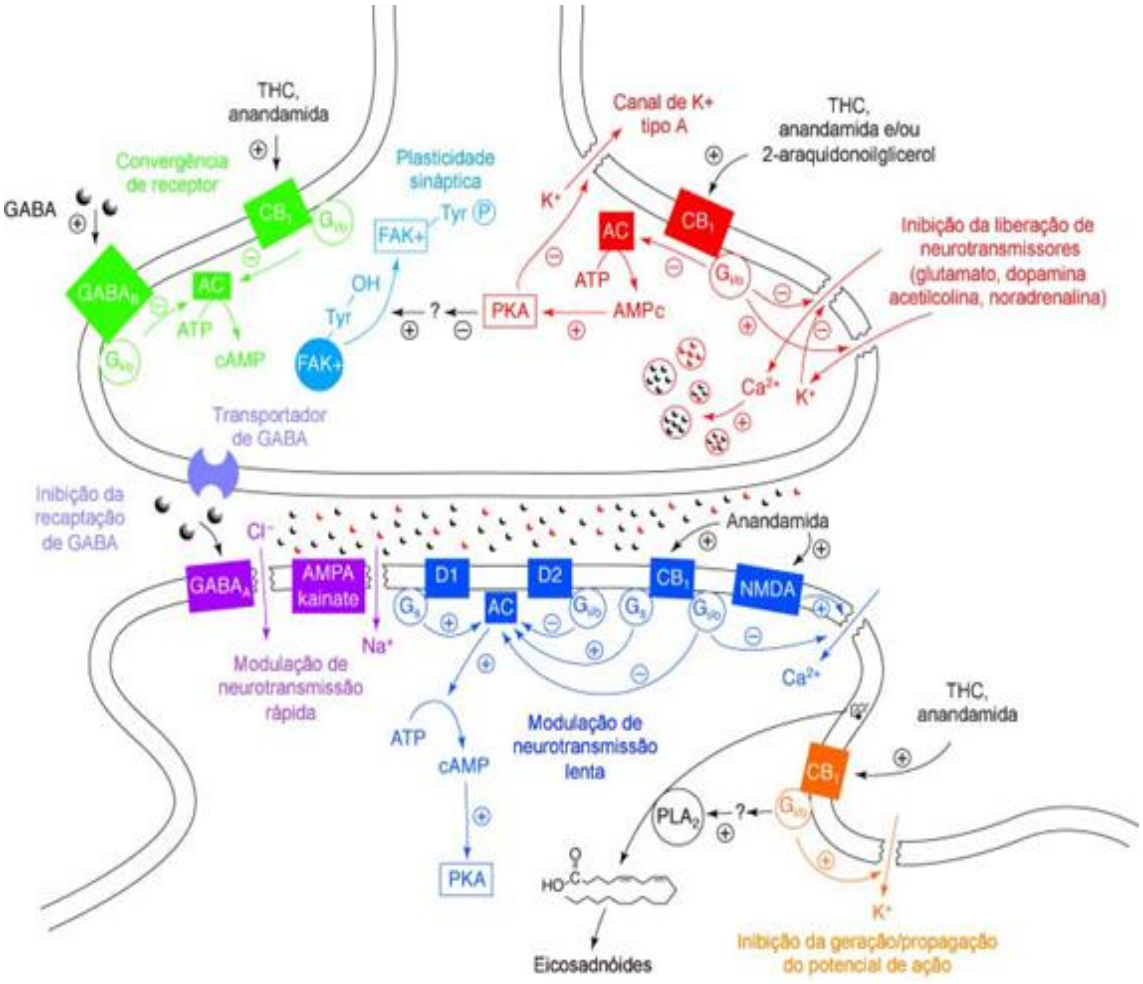
Investigações recentes mostram que o endocanabinóide anandamida, além de ser ligante dos receptores canabinóides CB_1 e CB_2, também é ligante de outros receptores, tais como o TRPV1 (*transient receptor potential cation channel* - receptor vanilóide do tipo 1), o TASK-1 (canal de potássio), o PPAR gama (*peroxisome proliferator-activated receptor*)

(O'SULLIVAN; KENDALL, 2010), e outros receptores não canabinóides acoplados à proteína G ainda não identificados (LUTZ, 2002; ROSS, 2003; SZALLASI; DI MARZO, 2000; VAN DER STELT; DI MARZO, 2005a).

1.2.3 Mecanismo de ação do sistema canabinóide

Quando os canabinóides endógenos se ligam aos receptores $CB_{1,}$ desencadeiam uma série de mecanismos intracelulares característicos dos receptores acoplados à proteína $G_{i/0}$. A maioria dos autores descreve três eventos importantes (1) inibição da adenilil ciclase, levando a uma diminuição dos níveis de AMP cíclico (AMPc) intracelular e de proteína quinase A; (2) estimulação de sinalização de proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAP quinase); (3) inibição de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem do tipo N e P/Q, e estimulação de canais de K^{+} tipo A, resultando numa diminuição do influxo de cálcio e em um aumento do efluxo de potássio (DE PETROCELLIS; CASCIO; DI MARZO, 2004; DI MARZO, et al., 1998; LUTZ, 2002). Os receptores CB_1 são abundantemente expressos em terminais axônicos, o que sugere a sua ação pré-sináptica na maioria das vezes. Os canabinóides endógenos são liberados por neurônios pós-sinápticos e agem no receptor CB_1 de neurônios pré-sinápticos. O resultado dessa ligação é uma redução da liberação de outros neurotransmissores, como o ácido gama-aminobutírico (GABA) e o glutamato, por exemplo. Logo após, os canabinóides endógenos são levados para o interior das células para serem degradados (FREUND et al., 2003; HASHIMOTODAN; OHNO-SHOSAKU; KANO; 2007). (Figura 1).

Figura 1- Mecanismos de ação dos canabinóides.



No terminal pré-sináptico a anandamida e 2-AG ativam os receptores CB_1 acoplados a proteína G, modulando a permeabilidade da membrana neuronal aos íons Ca^{2+} e K^+ e a atividade da adenilil ciclase (AC) afetando assim a liberação ou a ação dos neurotransmissores ou ambas, e a neurotransmissão lenta e rápida. Uma vez liberados pela despolarização dos neurônios, os dois compostos, devido à sua lipofilia, podem se comportar como outros derivados do ácido araquidônico (AA), como sinais autócrinos e parácrinos agindo no próprio neurônio de origem, em neurônios vizinhos, ou em astrócitos. No hipocampo a inibição da AC e posteriormente da proteína quinase A (PKA) dependente de AMPc, também pode levar à modulação da plasticidade sináptica, por exemplo, através do aumento da fosforilação da tirosina e subsequente ativação da quinase de adesão focal (FAK).
Fonte: Adaptado de Di Marzo et al., 1998.

Para que os canabinóides endógenos possam ser inativados, existe uma molécula transportadora de membrana, o transportador de anandamida da membrana celular (AMT), que a leva para dentro das células para que ocorra a degradação enzimática intracelular

feita pela enzima hidrolase de amida de ácido graxo (FAAH). O 2-AG também é captado pelo AMT e em sequência sofre degradação enzimática intracelular pela monoacilglicerol lipase (MAGL) ou pela FAAH. De acordo com este mecanismo, altas concentrações de FAAH e AMT são encontradas nas áreas do encéfalo que possuem uma grande densidade de CB_1, tais como o hipocampo, o cerebelo e o córtex cerebral (BASAVARAJAPPA, 2007; FRIDE; SHOHAMI, 2002).

1.2.4 Canabinóides exógenos

Dentre os canabinóides exógenos, o mais conhecido e estudado é o princípio psicoativo da planta *Cannabis sativa* (maconha), o Δ^9-THC, que foi isolado em 1965 (MECHOULAM; GAONI, 1965). Outro composto derivado da maconha é o canabidiol, que apresenta um perfil de baixa toxicidade e é indicado como um potente anti-inflamatório (MECHOULAM; PARKER, 2013). No entanto, existem diferenças farmacológicas entre os exocanabinóides e os canabinóides endógenos no sistema nervoso central. Por exemplo, os efeitos farmacológicos da anandamida e do Δ^9-THC são bastante similares, mas a anandamida possui uma ação *in vivo* menos duradoura quando comparada com o canabinóide derivado da planta, e isso ocorre devido à degradação enzimática rápida da anandamida (FRIDE; SHOHAMI, 2002).

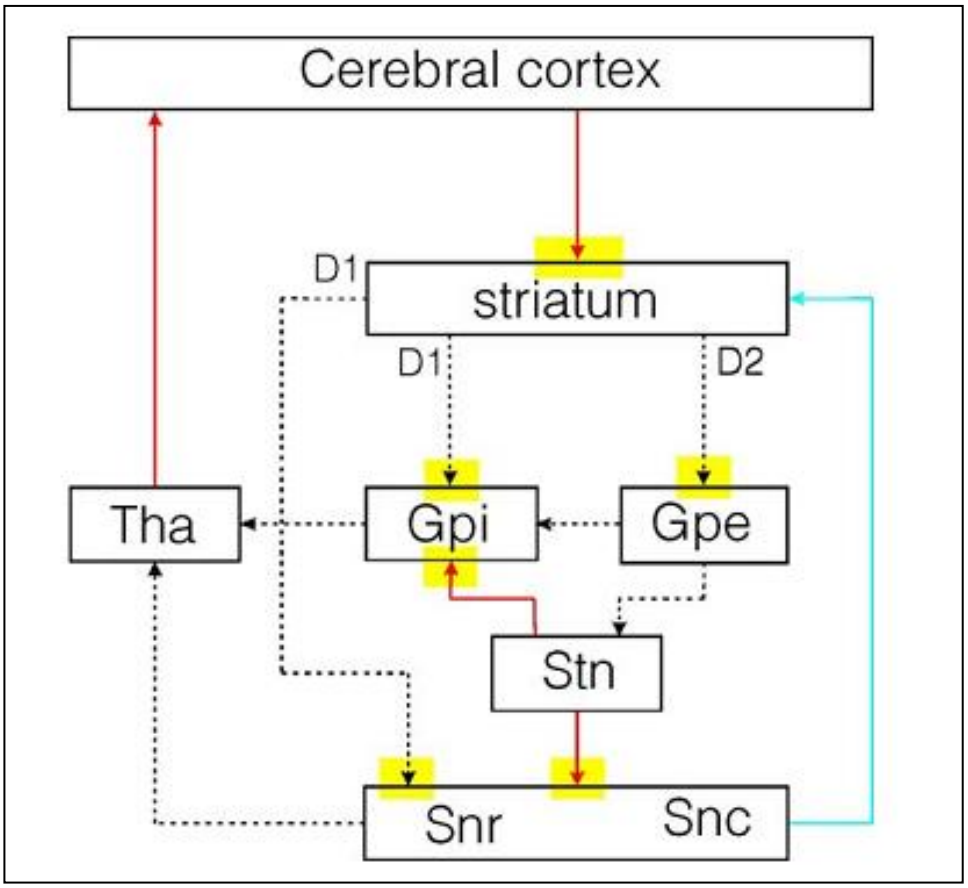
Atualmente, o Δ^9-THC, o canabidiol e outros canabinóides exógenos sintéticos agonistas e antagonistas de CB_1 e/ou CB_2 são utilizados na pesquisa. Para o presente estudo foram escolhidos alguns compostos canabinóides, que serão detalhados a seguir. O araquidonil-2-cloroetilamida (ACEA) foi desenvolvido inicialmente como um agonista seletivo do receptor CB_1, apresentando alta afinidade pelo receptor CB_1 e baixa afinidade pelo receptor CB_2 (HILLARD et al., 1999). Porém, atualmente sabe-se que este composto também pode agir em receptores TRPV-1 (FARSANDAJ; GHAHREMANI; OSTAD, 2012; RUPAREL et al., 2011). O AM 251 é um antagonista e/ou um agonista inverso seletivo do receptor CB_1 análogo ao antagonista CB_1 SR141716A (rimonabanto) (GATLEY et al., 1996; PERTWEE, 2005). O AM 404 é um inibidor do transportador de anandamida, o qual diminui recaptação deste composto, aumentando seus níveis endógenos (BELTRAMO et al., 1997). Por fim, o canabidiol, como já citado anteriormente, é um composto da *C. sativa* que não apresenta efeitos psicotrópicos, que

atua como um agonista fraco do receptor CB_1 e como agonista inverso do CB_2, e que inibe a recaptação de anandamida (PETITET et al., 1998; THOMAS et al., 2007).

1.3 O Sistema canabinóide e os núcleos da base

Conforme escrito anteriormente os receptores canabinóides CB_1 são expressos em grandes quantidades nos núcleos da base de roedores e primatas (AMERI, 1999; HERKENHAM et al., 1991a, b). No estriado, esses receptores possuem localização pré e pós-sináptica e atuam particularmente na transdução de dopamina. Nessa região os neurônios de projeção e os interneurônios GABAérgicos são os que mais expressam CB_1. Esses receptores são sintetizados em neurônios espinhosos médios GABAérgicos no estriado e transportados para seus terminais no globo pálido externo (GPe), globo pálido interno (GPi) e na substância negra porção reticulada (SNpr). Além disso, projeções glutamatérgicas do núcleo subtalâmico para a SN e GPi, também expressam CB_1. Existe também uma co-expressão dos receptores canabinóides CB_1 e os receptores dopaminérgicos D1 e D2 e o receptor 5HT1B de serotonina. Os receptores D2 e CB_1 compartilham um grupo de proteínas G, indicando uma convergência dos seus mecanismos de transdução, enquanto que a estimulação dos receptores CB_1 pode bloquear a ativação dos receptores D1 mediada pela adenilil ciclase. (BROTCHIE, 2003; FERRÉ et al., 2009; PAPA, 2008; VAN DER STELT; DI MARZO, 2003). No GPi e SNpr foi demonstrado que a ativação do CB_1 reduz tanto a liberação de GABA como a de glutamato dos terminais axônicos do estriado e do núcleo subtalâmico, respectivamente (BROTCHIE, 2003; PAPA, 2008) (Figura 2).

Figura 2 - Esquema simplificado da organização funcional dos núcleos da base.



Os núcleos da base consistem em quatro núcleos: estriado dorsal (caudado-putâmen), globo pálido (que é separado em camada interna (GPi) e camada externa (GPe)), núcleo subtalâmico (Stn) e substância negra (que é separada em porção reticulada (SNpr) e porção compacta (SNpc)). O estriado é o primeiro núcleo de entrada e contêm neurônios GABAérgicos espinhosos médios que recebem inervação glutamatérgica (setas vermelhas) do córtex cerebral e projeções dopaminérgicas da SNpc (seta azul). Na via direta, os neurônios espinhosos médios do estriado enviam suas projeções GABAérgicas (setas pretas) para a SNpc e GPi que são os dois principais núcleos de saída. O tálamo (Tha) está sob o controle inibitório destes núcleos de saída. Na via indireta, os neurônios espinhosos médios enviam suas projeções GABAérgicas primeiro para o GPe, o qual, por sua vez, inibe o Stn com eferências GABAérgicas. O Stn ativa os núcleos de saída com projeções glutamatérgicas. Deve-se notar que os neurônios da SNpc estendem seus dendritos para a SNpr, e são capazes de fazer sinapses com eferências do estriado e do núcleo subtalâmico. O receptor CB_1 (quadrados amarelos) são expressos nas diferentes regiões dos núcleos da base, modulando assim a via direta (receptor D1) e a via indireta (receptor D2).
Fonte: van der Stelt e Di Marzo, 2003.

Portanto, existe um consenso na literatura de que os receptores CB_1 estriatais estão localizados principalmente em neurônios GABAérgicos, mas também em neurônios glutamatérgicos. Dessa forma a ativação do receptor CB_1 pode modular a liberação de neurotransmissores e influenciar a atividade dos neurônios dopaminérgicos na SN. No caso específico da SN os receptores CB_1 estão localizados da porção reticulada nos terminais de

neurônios espinhosos estriatais. Fibras aferentes dopaminérgicas da SN inervam os neurônios estriatais que expressam CB_1 e também, receptores de dopamina (JULIAN et al., 2002; KÖFALVI et al., 2005; MÁTYÁS et al., 2006). Os neurônios dopaminérgicos dos núcleos da base não expressam o receptor CB_1 (JULIAN et al., 2002).

1.4 Doença de Parkinson: modelo de doença neurodegenerativa dos núcleos da base

Inúmeros dados da literatura sugerem, portanto, que o sistema canabinóide parece exercer um papel importante na circuitaria dos núcleos da base (para revisão ver em VAN DER STELT; DI MARZO, 2003). Entretanto, são necessárias ainda muitas informações para o entendimento completo dessa circuitaria. Para acrescentar informações a essa questão, escolhemos estudar um modelo experimental da Doença de Parkinson (DP).

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais comum que costuma afetar as pessoas a partir dos 55 anos, embora existam casos raros de jovens e crianças afetados (SCHOBER, 2004). Esta doença é relacionada à perda de 50-70% dos neurônios dopaminérgicos da SN em sua porção compacta (SNpc), e consequentemente diminuição da concentração de dopamina na área de projeção destes neurônios. Essa depleção de dopamina desencadeia uma modificação funcional complexa na circuitaria dos núcleos da base, o que leva aos sintomas motores típicos da doença: tremores, rigidez muscular e bradicinesia (BLANDINI et al., 2008). Além destes sintomas também pode ocorrer a acinesia, alterações da marcha e instabilidade postural com quedas frequentes e falta de expressão facial (AGID, 1991), sintomas cognitivos como lentidão dos pensamentos, demora em responder perguntas, desconexão com o ambiente, falta de iniciativa, demência, e quadro depressivo em cerca de 40% dos pacientes (CUMMINGS, 1992).

A característica neuropatológica da DP é a formação de corpos eosinófilos que são chamados de corpúsculos de Lewy (SCHOBER, 2004). A morte dos neurônios dopaminérgicos da SN e a consequente ativação reduzida dos receptores dopaminérgicos geram alterações na atividade das vias direta e indireta dos núcleos da base. Ocorre um aumento da atividade neuronal do GPi e SNpr, culminando com uma inibição excessiva do sistema tálamo-cortical. Além disso, a redução na atividade dopaminérgica leva a uma diminuição da atividade neuronal do GPe e desinibição do núcleo subtalâmico (NST), que também resulta em inibição tálamo-cortical. Resumindo, a degeneração dopaminérgica resulta em uma diminuição da atividade da via direta e aumento da atividade da via

indireta, gerando excessiva inibição dos sistemas motores (ALEXANDER; CRUTCHER, 1990).

Modelos experimentais da DP com o emprego de substâncias capazes de produzir a mesma lesão seletiva de neurônios dopaminérgicos da SNpc, acompanhada de sintomas semelhantes ao parkinsonismo, têm sido utilizados na tentativa de compreender os mecanismos subjacentes à doença. Entre estas substâncias estão: 1) as análogas da dopamina, como por exemplo, a 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA); 2) contaminantes da heroína sintética 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP); 3) herbicidas e pesticidas; e 4) metais como manganês. Todos os modelos animais demonstram ativação de microglia na SN após a injeção local e um paralelismo entre a progressão da lesão e a ativação da microglia (BLANDINI et al., 2008; PURISAI et al., 2007; SCHMIDT; FERGER, 2001; SCHOBER, 2004; SMEYNE; JACKSON-LEWIS, 2005).

A 6-OHDA é uma das neurotoxinas mais utilizadas em modelos de degeneração de projeções catecolaminérgicas centrais, incluindo o sistema nigroestriatal *in vivo* e *in vitro* (SCHOBER, 2004). A injeção de 6-OHDA na porção centro-lateral do caudado-putâmen (estriado) é o modelo que mais se aproxima do quadro encontrado em humanos (TILLERSON et al., 2002), principalmente se a lesão for bilateral (revisado por DEUMENS; BLOKLAND; PRICKAERTS, 2002). Porém, os cuidados pós-operatórios necessários neste modelo são muito grandes (BLANDINI et al., 2008; SCHOBER, 2004). Assim, tem-se utilizado extensamente a lesão unilateral do sistema nigroestriatal, de forma a aproveitar o lado não lesado do mesmo animal como controle dos efeitos da lesão (GRIGOR'IAN; BAZIAN, 2007; SCHWARTING; HUSTON, 1996).

As injeções intraestriatais de 6-OHDA causam uma morte neuronal retrógrada e progressiva (SCHOBER, 2004). A perda dos neurônios na SN começa nas primeiras 12 horas da injeção intraestriatal da toxina e a lesão nos terminais dopaminérgicos estriatais, em paralelo com o esgotamento de dopamina, é estabelecida em 2-3 dias (BLANDINI et al., 2008), ficando estável após 2 semanas (LABANDEIRA-GARCIA et al., 1996). A lesão pode ser induzida em ratos ou camundongos (DAUER; PRZEDBORSKI, 2003; BEAL, 2001). Após injeção local, esta neurotoxina é captada pelas moléculas transportadoras de dopamina e noradrenalina. A 6-OHDA é acumulada então no citosol e promove a produção de radicais livres e disfunções mitocondriais. Ocorre assim, inibição dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial, e a produção de radicais livres superóxido (revisado por BLUM et al., 2001; e por SCHOBER, 2004). Como resultado final ocorre morte

neuronal devido a ativação de mecanismos apoptóticos dependentes de capase 3 (TANAKA; OGAWA; ASANUMA, 2006). A liberação de radicais reativos de oxigênio leva à formação de quinonas que reagem com grupamentos nucleofílicos. A lesão assim produzida não gera corpúsculos de Lewy, típicos do tecido nervoso de pacientes parkinsonianos. Em resumo, a neurotoxicidade da 6-OHDA é causada então pela inibição da cadeia respiratória e estresse oxidativo induzido pela formação de radicais livres. Estes dois mecanismos de toxicidade não estão necessariamente ligados, mas parecem agir sinergicamente durante a degeneração neuronal (SCHOBER, 2004; TORRÃO et al., 2012).

Hoje a literatura apresenta uma série de resultados a respeito da DP induzida por 6-OHDA e estes resultados são muitas vezes diferentes e controversos. Os resultados obtidos com a lesão dependem da quantidade de 6-OHDA aplicada, do local exato da injeção, se a injeção é uni ou bilateral; que fase da lesão está sendo investigada, qual região dos núcleos da base foi analisada e que espécie animal foi utilizada (BLANDINI et al., 2008; SCHOBER, 2004). Sabe-se que para estudos de neuroproteção a injeção intraestriatal da toxina é a mais utilizada (SCHOBER, 2004).

Para examinar os déficits funcionais causados pela doença realizam-se testes comportamentais com os animais, para verificar assimetria rotacional, e disfunções motoras e sensoriais (HENDERSON et al., 2003; HENDERSON; WATSON, 2003).

1.5 Sistema canabinóide e a Doença de Parkinson

Ao longo da última década vários estudos têm descrito a participação do sistema canabinóide em diversos modelos experimentais de morte neuronal, apresentando papel neuroprotetor. A maioria deles demonstra a participação dos compostos canabinóides endógenos e/ou exógenos, como também dos receptores CB_1 e CB_2 nesses modelos (GRUNDY; RABUFFETTI; BELTRAMO, 2001; GILBERT et al., 2007; MATO; DEL OLMO; PAZOS, 2003; PANIKASHVILI et al., 2001;PARMENTIER- BATTEUR et al., 2002;VAN DER STELT et al., 2002, 2005). De maneira geral, sabe-se que o sistema canabinóide é ativado em resposta a diferentes estímulos que danificam as células nervosas. Este fato vem sendo documentado em diferentes paradigmas de neurodegeneração. Entretanto, os resultados são extremamente variados, dependendo de fatores como a espécie animal estudada, a idade, tipo e gravidade do dano, e dos mecanismos de morte celular ativados (SAGREDO et al., 2007a).

Apesar de muitos trabalhos apoiarem os efeitos neuroprotetores para muitos canabinóides em diversos modelos de neurotoxicidade, os mecanismos exatos pelos quais esse processo ocorre ainda não são muito conhecidos (MARSICANO et al., 2002). Alguns trabalhos sugerem a ativação de vias de neuroproteção pelos canabinóides como, por exemplo, os mecanismos dependentes dos receptores CB_1 e proteína quinase A (KIM et al., 2005; ZHUANG et al., 2005); o envolvimento dos receptores CB_1 com sistemas compensatórios endógenos das vias FAK/MEK/ERK e/ou FAK/PI3K/ERK e outras possíveis vias de sinalização ainda não identificadas (KARANIAN et al., 2006); a participação de fatores neurotróficos como mediadores na neuroproteção por ativação dos receptores CB_1 em modelos de excitotoxicidade (KHASPECOV et al., 2004); eventos mediados preferencialmente pelos receptores CB_2 e suas relações com as células gliais, como a redução do local inflamatório que frequentemente acompanha as neurodegenerações crônicas e agudas (FERNANDÉZ-RUIZ et al., 2008); relações do sistema canabinóide com o sistema imune (PANIKASHVILI et al., 2006; SAGREDO et al., 2007a; ULLRICH et al., 2006); eventos mediados por mecanismos independentes de receptores, como por exemplo, propriedades antioxidantes de certos canabinóides (GARCÍA-ARENCIBIA et al., 2007); mecanismos dependentes dos receptores TRPV1 (PEGORINI et al., 2006); entre outros (revisado por MECHOULAM; SPATZ; SHOHAMI, 2002; revisado por MECHOULAN, 2002; SAGREDO et al., 2007a).

Neste contexto, o processo neurodegenerativo observado na DP também se tornou alvo dos estudos de neuroproteção possivelmente desempenhada pelo sistema canabinóide. Por exemplo, Lastres-Becker e colaboradores (2005) mostraram que o THC pode reverter a diminuição da transmissão dopaminérgica nos núcleos da base de ratos com hemiparkinsonismo causado pela injeção unilateral de 6-OHDA, devido a uma redução da morte dos neurônios dopaminérgicos no lado lesado. Este estudo ainda mostra que outro o canabidiol, também é responsável pela neuroproteção neste mesmo modelo através de um mecanismo independente de receptor e relacionado às suas propriedades antioxidantes. Além disso, neste mesmo estudo os autores mostraram o efeito neuroprotetor de outro agonista canabinóide não seletivo, o HU-210, em cultivos primários de células granulares de cerebelo de embriões de ratos expostas à 6-OHDA. Essas células foram expostas ao meio condicionado obtido de células gliais tratadas com HU-210, sugerindo que os canabinóides exercem seus principais efeitos protetores através da regulação da influência glial sobre os neurônios. Outro estudo verificou o efeito neuroprotetor de compostos

canabinóides capazes de ligar a diferentes elementos do sistema canabinóide, tais como os receptores CB_1 e CB_2 e os AMT. Os resultados deste estudo apoiam a ideia de que apenas os canabinóides com propriedades antioxidantes, como, por exemplo, o AM 404 e não aqueles com afinidades aos receptores canabinóides são capazes de reduzir a toxicidade causada pela 6-OHDA em neurônios nigrais (GARCIA-ARENCIBIA et al., 2007). Gubellini e colaboradores (2002) verificaram um aumento dos níveis de anandamida em ratos lesados por 6-OHDA, acompanhando a morte dos neurônios dopaminérgicos. Essa elevação do endocanabinóide foi acompanhada pela redução da enzima FAAH e do AMT.

Outros modelos experimentais da DP tais como, lesões por MPTP ou lesões por tratamento com reserpina, também sugerem a importância dos receptores CB_1 na sinalização da circuitaria dos núcleos da base (BROTCHIE, 2003). Saguis tratados com MPTP mostram um aumento da expressão de receptores CB_1 no estriado (LASTRES-BECKER et al., 2001). Ratos tratados com reserpina ou lesados por 6-OHDA mostram aumento nos níveis de RNAm para receptor CB_1 no estriado, mas este aumento não se mantém ao longo dos dias (ROMERO et al., 2000; SILVERDALE et al., 2001). Por outro lado, um estudo mais recente mostrou uma diminuição dos receptores CB_1 na SN. No entanto, essa diminuição ocorreu apenas em animais lesados unilateralmente com injeção de 6-OHDA no estriado e não nos que tiveram lesão no feixe prosencefálico medial (WALSH et al., 2010). Outro estudo com humanos mostrou, por tomografia de emissão de pósitrons, que pacientes com DP também apresentam redução de CB_1 na SN (VAN LAERE et al., 2012).

Apesar de muitos estudos apontarem para os efeitos neuroprotetores do sistema canabinóide em diversos modelos de neurodegeneração, alguns trabalhos mostram que este sistema pode promover a degeneração em alguns casos (SARNE et al., 2011). Em relação aos compostos canabinóides, diferenças como dose, tipo de agente, tempo de exposição, entre outras variáveis, podem gerar respostas opostas entre neuroprotecão e neurotoxicidade (DI MARZO, 2008; FOWLER; ROJO; RODRIGUEZ-GAZTELUMENDI, 2010; GUZMÁN, 2003; SARNE; MECHOULAM, 2005).

Contudo, medicamentos a base de canabinóides têm sido propostos como terapias promissoras na Doença de Parkinson (DP), com base nos altos níveis de receptores CB_1 encontrados nos núcleos da base, bem como na função modulatória atribuída a esse sistema de neuromediação. Um trabalho sugere que o sistema de sinalização desempenhado pelo receptor CB_1 na DP apresenta um padrão bifásico de mudanças durante a progressão da

doença, ou seja, em estágios iniciais e assintomáticos da doença ocorre uma dessensibilização/*downregulation* dos receptores CB_1 que podem estar associadas à morte neuronal. Em contrapartida, os estágios mais avançados da DP caracterizam-se por uma degeneração nigral profunda, associada ao aparecimento dos principais sintomas parkinsonianos que podem estar relacionados à *upregulation* de receptores CB_1 e, possivelmente, dos receptores CB_2, e dos endocanabinóides (GARCÍA-ARENCIBIA et al., 2009; revisado por GARCÍA-ARENCIBIA; GARCÍA; FERNÁNDEZ-RUIZ J, 2009).

1.6 Justificativa

O sistema canabinóide desempenha funções modulatórias em vários processos neurobiológicos (BEGBIE; DOHERTY; GRAHAM, 2004; FERNANDÉZ-RUIZ et al., 2000; RAMOS et al., 2002; GRUNDY; RABUFFETTI; BELTRAMO, 2001; MATO; DEL OLMO; PAZOS, 2003; PARMENTIER- BATTEUR et al., 2002 ;VAN DER STELT et al., 2002, 2005). Por exemplo, nosso grupo tem investigado o papel do sistema canabinóide em processos do desenvolvimento embrionário (LEONELLI et al., 2005) e em processos de plasticidade (CHAVES et al., 2008).

A importância do sistema canabinóide para a neurociência e de se ter melhor conhecimento sobre ele, é evidente quando analisamos a abundante expressão do receptor CB_1 no SNC. Segundo Matsuda e colaboradores (1990) os receptores CB_1 estão entre os receptores acoplados à proteína G mais abundantes no SNC, e dentre as estruturas que mais expressam esse receptor estão os núcleos da base (AMERI, 1999, HERKENHAM et al., 1991a, b). Portanto, a participação do sistema canabinóide na circuitaria dos núcleos da base representa um importante objeto de investigação.

Em uma primeira abordagem estudamos a expressão e distribuição dos receptores CB_1 nos núcleos da base, utilizando estudos de dupla-marcação com marcadores de célula da glia, de elementos estruturais de neurônios e de populações específicas de neurônios (dopaminérgicos e GABAérgicos). Apesar de existirem trabalhos relacionados ao assunto, grande parte deles é baseada em evidências farmacológicas e são raros os estudos com enfoques apenas morfológicos.

Uma abordagem comumente utilizada em pesquisa para o estudo de uma circuitaria específica é promover alterações da mesma. Assim, escolhemos para o presente estudo um modelo experimental da DP, produzido pela injeção unilateral intraestriatal de 6-OHDA,

que promove degeneração de neurônios dopaminérgicos na SN e diminuição dos níveis de dopamina em toda circuitaria dos núcleos da base, como uma segunda alternativa para o melhor entendimento da relação do sistema canabinóide e os núcleos da base. Neste modelo, escolhemos explorar alterações temporais da expressão do receptor CB_1, bem como de proteínas relacionadas aos sistemas dopaminérgico e GABAérgico. Essas informações são de extrema importância já que a literatura mostra dados controversos sobre essas questões. Morera-Herreras e colaboradores (2012) apontam que os resultados de estudos sobre a expressão dos receptores CB_1 em modelos animais de DP são heterogêneos e muitas vezes conflitantes, pois dependem do modelo animal utilizado e dos períodos pós-lesão analisados. Por este motivo, analisamos a expressão dos receptores CB_1 em diferentes períodos pós-lesão e escolhemos o modelo animal que mais se aproxima do quadro encontrado em humanos, por promover uma degeneração lenta e gradual do sistema dopaminérgico (SCHOBER, 2004; TILLERSON et al., 2002).

Por fim, como uma terceira abordagem, realizamos tratamentos com agonistas e antagonistas canabinóides neste modelo experimental da DP, analisando aspectos neuroquímicos e comportamentais. Apesar dos atuais esforços em estudar o sistema canabinóide na circuitaria dos núcleos da base e suas relações com a DP, e de seu papel neuroprotetor ter sido demonstrado em diferentes modelos de neurodegeneração (SANTOS, 2012; SÁNCHEZ; GARCÍA-MERINO, 2012), incluindo a DP (GARCIA-ARENCIBIA et al., 2009), os dados são ainda muito controversos. Especificamente no caso da DP não está clara qual a participação efetiva dos receptores canabinóides na neuroproteção; quais canabinóides exógenos desempenhariam este papel neuroprotetor para fins terapêuticos; se os benefícios ou malefícios dos canabinóides estão relacionados a questões de sobrevivência de neurônios ou de melhoria dos sintomas; e quais os mecanismos exatos envolvidos nestes processos. Dentro desse contexto de neuroproteção, optamos ainda por trabalhar com uma linhagem de células (neuro-2a) diferenciada em neurônios dopaminérgicos e exposta à toxicidade da 6-OHDA. Realizamos tratamentos com diversos compostos canabinóides e avaliamos a viabilidade celular. O trabalho com cultivo celular, além de viabilizar o estudo de mais compostos canabinóides e de diferentes concentrações, pela facilidade técnica dos estudos *in vitro*, e por ser um microambiante mais facilmente manipulável, permitiu a melhor avaliação da questão de sobrevivência de neurônios.

Assim, esclarecer a relação do sistema canabinóide com os núcleos da base, no que se refere à distribuição dos receptores CB_1 nos núcleos da base, as alterações temporais da expressão desses receptores frente ao processo lesivo causado pela 6-OHDA, e a relação desse sistema com processo de neuroproteção e/ou neurodegeneração em modelos experimentais da DP podem contribuir de maneira significativa para a compreensão dos mecanismos subjacentes as doenças neurodegenerativas em geral, e em especial a DP.

6 CONCLUSÕES

O objetivo geral do presente estudo era o de aprofundar o conhecimento sobre o sistema canabinóide na circuitaria dos núcleos da base de ratos. Para isso iniciamos nosso trabalho investigando a distribuição dos receptores CB_1 nos núcleos da base, bem como possíveis co-localizações destes com diferentes marcadores. O receptor CB_1 é abundantemente expresso na circuitaria dos núcleos da base predominantemente em neurônios GABAérgicos, principalmente no GPe, no GPi e na SNpr onde apresentam uma localização pré-sináptica. Além disso, o receptor CB_1 não apresenta co-localização com neurônios dopaminérgicos e aparece muito esparsamente em células da glia nessa circuitaria. Por fim, uma parcela desses receptores parece também apresentar uma localização pós-sináptica, principalmente no GPe e no GPi.

Outra abordagem consistiu em avaliar a variação temporal da expressão de CB_1 e de proteínas relacionadas aos sistemas dopaminérgicos e GABAérgicos no modelo experimental da DP produzido pela injeção unilateral intraestriatal de 6-OHDA em ratos. Os receptores CB_1 apresentaram uma variação de expressão estrutura-específica complexa e distinta nos núcleos da base ao longo do tempo. Além disso, como não observamos diminuição no número de neurônios GABAérgicos neste modelo, mas observamos modulação de proteínas expressas por esses neurônios, como o próprio receptor CB_1 e a calbindina, concluímos que os neurônios GABAérgicos apresentam respostas plásticas frente a diminuição de dopamina, as quais acreditamos estarem relacionadas a mecanismos de compensação, principalmente no que se refere ao sistema canabinóide.

Por fim, avaliamos os efeitos do tratamento com compostos canabinóides em parâmetros neuroquímicos e comportamentais no modelo experimental de DP *in vivo* e sobre a viabilidade celular em um modelo *in vitro*. A ativação do receptor CB_1 pelo agonista ACEA parece ter sido prejudicial à lesão, tanto nos estudos neuroquímicos (discretamente), como nos estudos comportamentais. Por outro lado, o bloqueio do receptor CB_1 pelo antagonista AM251 embora não tenha produzido alterações neuroquímicas, mostrou efeitos benéficos nos testes de comportamento motor, sendo este composto uma possível estratégia terapêutica para os sintomas da DP. Embora não tenhamos observado grandes diferenças na viabilidade celular com os tratamentos de forma geral, o AM 404 (inibidor da recaptação de canabinóides endógenos) diminui discretamente a morte celular produzida pela exposição à 6-OHDA em nosso modelo. Comparando nossos dados de tratamento com compostos

canabinóides nos ratos e na cultura de células concluímos ainda que os resultados podem ser diferenciados, ou até opostos, entre as abordagens *in vivo* e *in vitro*.

REFERÊNCIAS*

AGID, Y. Parkinson's disease: pathophysiology. **Lancet,** v. 337, p. 1321-1324, 1991.

AIRAKSINEN, M. S.; THOENEN, H.; MEYER, M. Vulnerability of midbrain dopaminergic neurons in calbindin-D28k-deficient mice: lack of evidence for a neuroprotective role of endogenous calbindin in MPTP-treated and weaver mice. **Eur. J. Neurosci.,** v. 9, p. 120-127, 1997.

ALEXANDER, G. E.; CRUTCHER, M.. .D. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. **Trends Neurosci**., v. 13, p. 266-271, 1990.

ALLEN, K. L.; WALDVOGEL, H. J.; GLASS, M.; FAULL, R. L. Cannabinoid (CB(1)), GABA(A) and GABA(B) receptor subunit changes in the globus pallidus in Huntington's disease. **J. Chem. Neuroanat**., v. 37, p. 266-281, 2009.

ALVARES, L. O.; GENRO, B. P.; VAZ BREDA, R.; PEDROSO, M. F.; DA COSTA, J. C.; QUILLFELD, T. J. A. AM251, a selective antagonist of the CB_1 receptor, inhibits the induction of long-term potentiation and induces retrograde amnesia in rats. **Brain Res.,** v. 1075, p. 60-67, 2006.

AMERI, A. The effects of cannabinoids on the brain**. Prog. Neurobiol.,** v. 58, p. 315-348, 1999.

BASAVARAJAPPA, B. S. Critical enzymes involved in endocannabinoid metabolism. **Protein. Pept. Lett.,** v. 14, p. 237-246, 2007.

BEAL, M.. F. Experimental models of Parkinson's disease. **Nat. Rev. Neurosci**., v. 2, p. 325-334, 2001

BEGBIE, J.; DOHERTY, P.; GRAHAM, A. Cannabinoid receptor CB_1 expression follows neuronal differentiation in the early chick embryo. **J. Anat.,** v. 205, p. 213-218, 2004.

BELTRAMO, M.; STELLA, N.; CALIGNANO, A.; LIN, S. Y.; MAKRIYANNIS, A.; PIOMELLI, D. Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. **Science**, v. 277, p. 1094-1097, 1997.

BENARROCH, E. Endocannabinoids in basal ganglia circuits: implications for Parkinson disease. **Neurology**, v. 69, p. 306-309, 2007.

BERNARDI, M. M.; PALERMO-NETO, J. Atividade geral: conceito e medidas. **Psicologia**, v. 6, p. 43-48,1989.

* De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BLANDINI, F.; LEVANDIS, G.; BAZZINI, E.; NAPPI, G.; ARMENTERO, M. T. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model. **Eur. J. Neurosci.,** v. 25, p. 397-405, 2007.

BLANDINI, F.; ARMENTERO, M. T.; MARTIGNONI, E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. **Parkinsonism Relat. Disord.,** v. 2, p. 124-129, 2008.

BLUM, D.; TORCH, S.; LAMBENG, N.; NISSOU, M.; BENABID, A. L.; SADOUL, R.; VERNA, J. M. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. **Prog. Neurobiol.,** v. 65, p. 135-172, 2001.

BRICKELL, K. L.; NICHOLSON, L. F.; WALDVOGEL, H. J.; FAULL, R. L. Chemical and anatomical changes in the striatum and substantia nigra following quinolinic acid lesions in the striatum of the rat: a detailed time course of the cellular and GABA(A) receptor changes. **J. Chem. Neuroanat**., v. 17, p. 75-97, 1999.

BROADHURST, P. L. The place of animal psychology in the development of psychosomatic research. **Fortschr. Psychosom.,** v. 1, p. 63–69, 1960.

BROTCHIE, J. M. CB_1 cannabinoid receptor signalling in Parkinson's disease. **Curr. Opin. Pharmacol**., v. 3, p. 54-61, 2003

CABRAL, G. A.; MARCIANO-CABRAL, F. Cannabinoid receptors in microglia of the central nervous system: immune functional relevance. **J. Leukoc. Biol**., v. 78, p. 1192-1197, 2005.

CABRANES, A.; VENDEROVA, K.; DE LAGO, E.; FEZZA, F.; SÁNCHEZ, A.; MESTRE, L.; VALENTI, M.; GARCÍA-MERINO, A.; RAMOS, J. A.; DI MARZO, V.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Decreased endocannabinoid levels in the brain and beneficial effects of agents activating cannabinoid and/or vanilloid receptors in a rat model of multiple sclerosis. **Neurobiol. Dis**., v. 20, p. 207-217, 2005.

CAO, X.; LIANG, L.; HADCOCK, J. R.; IREDALE, P. A.; GRIFFITH, D. A.; MENNITI, F. S.; FACTOR, S.; GREENAMYRE, J. T.; PAPA, S. M. Blockade of cannabinoid type 1 receptors augments the antiparkinsonian action of levodopa without affecting dyskinesias in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated rhesus monkeys. **J. Pharmacol. Exp. Ther**., v. 323, p. 318-326, 2007.

CARROLL, C. B.; ZEISSLER, M. L.; HANEMANN, C. O.; ZAJICEK, J. P. Δ(9) -THC exerts a direct neuroprotective effect in a human cell culture model of Parkinson's disease. **Neuropathol. Appl. Neurobiol**. [Epub ahead of print]. 2012

CASTEELS, C.; LAUWERS, E.; BAITAR, A.; BORMANS, G.; BAEKELANDT, V.; VAN LAERE, K. In vivo type 1 cannabinoid receptor mapping in the 6-hydroxydopamine lesion rat model of Parkinson's disease. **Brain Res**., v. 1316, p. 153-162, 2010.

CASTEELS, C.; VANDEPUTTE, C.; RANGARAJAN, J. R.; DRESSELAERS, T.; RIESS, O.; BORMANS, G.; MAES, F.; HIMMELREICH, U.; NGUYEN, H.; VAN LAERE, K. Metabolic and type 1 cannabinoid receptor imaging of a transgenic rat model in the early phase of Huntington disease. **Exp. Neurol**., v. 229, p. 440-449, 2011.

CHAVES, G. P.; NOGUEIRA, T. C.; BRITTO, L. R.; BORDIN, S.; TORRÃO, A. S. Retinal removal up-regulates cannabinoid CB(1) receptors in the chick optic tectum**. J. Neurosci. Res**., v. 15, p. 1626-1634, 2008.

CHUNG, Y. C.; BOK, E.; HUH, S. H.; PARK, J. Y.; YOON, S. H.; KIM, S. R.; KIM, Y. S.; MAENG, S.; PARK, S. H.; JIN, B. K. Cannabinoid receptor type 1 protects nigrostriatal dopaminergic neurons against MPTP neurotoxicity by inhibiting microglial activation. **J. Immunol**., v. 187, p. 6508-6517, 2011.

CUMMINGS, J. L. Depression and Parkinson's disease: a review**. Am. J. Psychiatry**, v. 149, p. 443-544, 1009.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. **Neuron**, v. 39, p. 889-909, 2003.

DE FILIPPIS, D.; STEARDO, A.; D'AMICO, A.; SCUDERI, C.; CIPRIANO, M.; ESPOSITO, G.; IUVONE, T. Differential cannabinoid receptor expression during reactive gliosis: a possible implication for a nonpsychotropic neuroprotection. **ScientificWorldJournal**, v. 9, p. 229-235, 2009.

DE LAGO, E.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Cannabinoids and neuroprotection in motor-related disorders. **CNS Neurol. Disord. Drug Targets**, v. 6, p. 377-387, 2997.

DE PETROCELLIS, L.; CASCIO, M.G.; DI MARZO, V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. **Br. J. Pharmacol**., v. 141, p. 765-774, 2004.

DEUMENS, R.; BLOKLAND, A.; PRICKAERTS, J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway**. Exp. Neurol**., v. 175, p. 303-317, 2002.

DI MARZO, V.; MATIAS, I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. **Nat. Neurosci.,** v. 8, p. 585-589, 2005.

DI MARZO, V.; MELCK, D.; BISOGNO, T; DE PETROCELLIS, L. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. **Trends Neurosci.,** v. 21, p. 521-528, 1998.

DI MARZO, V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? **Nat. Rev. Drug Discov.,** v. 7, p. 438–455, 2008.

DOWIE, M. J.; BRADSHAW, H .B.; HOWARD, M. L.; NICHOLSON, L. F.; FAULL, R. L.; HANNAN, A. J; GLASS, M. Altered CB_1 receptor and endocannabinoid levels precede motor symptom onset in a transgenic mouse model of Huntington's disease. **Neuroscience,** v. 163, p. 456-465, 2009.

DOWNER, E. J.; FOGARTY, M. P.; CAMPBELL, V. A. Tetrahydrocannabinol-induced neurotoxicity depends on CB_1 receptor-mediated c-Jun N-terminal kinase activation in cultured cortical neurons. **Br. J. Pharmacol.,** v. 140, p. 547-557, 2003.

ENGLER, B.; FREIMAN, I.; URBANSKI, M.; SZABO, B. Effects of exogenous and endogenous cannabinoids on GABAergic neurotransmission between the caudate-putamen and the globus pallidus in the mouse. **J. Pharmacol. Exp. Ther**., v. 316, p. 608-617, 2006

FALENSKI, K. W.; CARTER, D. S.; HARRISON, A. J.; MARTIN, B. R.; BLAIR, R. E.; DELORENZO, R. J. Temporal characterization of changes in hippocampal cannabinoid CB(1) receptor expression following pilocarpine-induced status epilepticus. **Brain Res**., v. 25, p. 64-72, 2009.

FARKAS, S.; NAGY, K.; JIA, Z.; HARKANY, T.; PALKOVITS, M.; DONOHOU, S. R.; PIKE, V. W.; HALLDIN, C.; MÁTHÉ, D.; CSIBA, L.; GULYÁS, B. The decrease of dopamine D_2/D_3 receptor densities in the putamen and nucleus caudatus goes parallel with maintained levels of CB_1 cannabinoid receptors in Parkinson's disease: a preliminary autoradiographic study with the selective dopamine D_2/D_3 antagonist [^{3}H]raclopride and the novel CB_1 inverse agonist [^{125}I]SD7015. **Brain Res. Bull**., v. 87, p. 504-510, 2012.

FARSANDAJ, N.; GHAHREMANI, M. H.; OSTAD, S. N. Role of cannabinoid and vanilloid receptors in invasion of human breast carcinoma cells. **J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.**, v. 31, p. 377-387, 2012.

FERNANDEZ-ESPEJO, E.; CARABALLO, I.; DE FONSECA, F. R.; EL BANOUA, F.; FERRER, B.; FLORES, J. A.; GALAN-RODRIGUEZ, B. Cannabinoid CB_1 antagonists possess antiparkinsonian efficacy only in rats with very severe nigral lesion in experimental parkinsonism. **Neurobiol. Dis.,** v. 18, p. 591-601, 2005

FERNANDÉZ-RUIZ, J.; BERRENDERO, F.; HERNÁNDEZ, M. L.; RAMOS, J. A. The endogenous cannabinoid system and brain development. **Trends Neurosci.,** v. 23, p. 14-20, 2000.

FERNÁNDEZ-RUIZ, J.; ROMERO, J.; VELASCO, G.; TOLÓN, R. M.; RAMOS, J. A.; GUZMÁN, M. Cannabinoid CB_2 receptor: a new target for the control of neural cell survival?. **Trends Pharmacol.**, v. 28, p. 39-45, 2007.

FERNÁNDEZ-RUIZ, J.; PAZOS, M. R.; GARCÍA-ARENCIBIA, M.; SAGREDO, O.; RAMOS, J. A Role of CB_2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids. **Mol Cell Endocrinol.,** v. 286, p. 91-96,2008.

FERNÁNDEZ-RUIZ, J. The endocannabinoid system as a target for the treatment of motor dysfunction. **Br. J. Pharmacol.**, v. 156, p. 1029-1040, 2009.

FERRÉ, S.; GOLDBERG, S. R.; LLUIS, C.; FRANCO, R.. Looking for the role of cannabinoid receptor heteromers in striatal function. **Neuropharmacology**, v. 56, p. 26-34, 2009.

FERRÉ, S.; LLUÍS, C.; JUSTINOVA, Z.; QUIROZ, C.; ORRU, M.; NAVARRO, G.; CANELA, E. I.; FRANCO, R.; GOLDBERG, S. R. Adenosine-cannabinoid receptor interactions. Implications for striatal function. **Br. J. Pharmacol**., v. 160, p. 443-453, 2010.

FOWLER, C. J.; NILSSON, O.; ANDERSSON, M.; DISNEY, G.; JACOBSSON, S. O. P.; TIGER, G. Pharmacological properties of cannabinoid receptors in the avian brain: similarity of rat and chicken cannabinoid1 receptor recognition sites and expression of cannabinoid2 receptor-like immunoreactivity in the embryonic chick brain. **Pharmacol. Toxicol**., v. 88, p. 213-222, 2001.

FOWLER, C. J.; ROJO, M. L.; RODRIGUEZ-GAZTELUMENDI, A. Modulation of the endocannabinoid system: neuroprotection or neurotoxicity? **Exp. Neurol.,** v. 224, p. 37–47, 2010.

FREIMANN, F. B.; CROME, O.; SHEVTSOVA, Z.; BÄHR, M.; KÜGLER, S. Evaluation of long-term upregulation of Calbindin D28K as a preventive approach for ischaemic stroke. **Int. J. Stroke**, v. 5, p. 319-320, 2010.

FREUND, T. F; KATONA, I.; PIOMELLI, D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. **Physiol. Rev.,** v. 83, p. 1017-1066, 2003.

FRIDE, E.; SHOHAMI, E. The endocannabinoid system: function in survival of the embryo, the newborn and the neuron. **Neuroreport,** v. 13, p. 1833-1840, 2002.

GARCÍA, C.; PALOMO-GARO, C.; GARCÍA-ARENCIBIA, M.; RAMOS, J.; PERTWEE, R.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Symptom-relieving and neuroprotective effects of the phytocannabinoid Δ^9-THCV in animal models of Parkinson's disease. **Br. J. Pharmacol.**, v. 163, p. 1495-1506, 2011.

GARCÍA-ARENCIBIA, M.; GONZÁLEZ, S.; DE LAGO, E.; RAMOS, J. A.; MECHOULAM, R.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties. **Brain Res**., v. 1134, p. 162-170, 2007.

GARCÍA-ARENCIBIA, M.; FERRARO, L.; TANGANELLI, S.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Enhanced striatal glutamate release after the administration of rimonabant to 6-hydroxydopamine-lesioned rats. **Neurosci. Lett**., v. 438, p. 10-13, 2008.

GARCÍA-ARENCIBIA, M.; GARCÍA, C.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Cannabinoids and Parkinson's disease. **CNS Neurol. Disord. Drug Targets**, v. 8, p. 432-439, 2009.

GARCÍA-ARENCIBIA, M.; GARCÍA, C.; KURZ, A.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, J. A.; GISPERT-SÁCHEZ, S.; MENA, M. A.; AUBURGER, G.; DE YÉBENES, J. G.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Cannabinoid CB_1 receptors are early downregulated followed by a further upregulation in the basal ganglia of mice with deletion of specific park genes. **J. Neural. Transm. Suppl.**, v. 73, p. 269-275, 2009.

GATLEY, S. J.; GIFFORD, A. N.; VOLKOW, N. D.; LAN, R.; MAKRIYANNIS, A. 123I-labeled AM251: a radioiodinated ligand which binds in vivo to mouse brain cannabinoid CB_1 receptors. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 307, p. 331-338, 1996.

GILBERT, G. L.; KIM, H. J.; WAATAJA, J. J.; THAYER, S. .A. Delta(9)-Tetrahydrocannabinol protects hippocampal neurons from excitotoxicity. **Brain Res**., v. 1128, p. 61-69, 2007.

GIUFFRIDA, A.; PARSONS, L. H.; KERR, T. M.; RODRÍGUEZ DE FONSECA, F.; NAVARRO, M.; PIOMELLI, D. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. **Nat. Neurosci.,** v. 2, p. 358-363, 1999.

GLASS, M.; FAULL, R. L. M.; DRAGUNOW, M. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study on the fetal, neonatal and adult human brain. **Neuroscience**, v. 77, p. 299-318, 1997.

GONZÁLEZ, S.; SCORTICATI, C.; GARCÍA-ARENCIBIA, M.; DE MIGUEL, R.; RAMOS, J. A.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Effects of rimonabant, a selective cannabinoid CB_1 receptor antagonist, in a rat model of Parkinson's disease. **Brain Res.,** v. 1073-1074, p. 209-219, 2006.

GRIGOR'IAN, G. A; BAZIAN, A. S. The experimental models of Parkinson's disease in animals. **Usp. Fiziol. Nauk.,** v. 38, p. 80-88, 2007.

GRIMSEY, N. L.; GOODFELLOW, C. E.; SCOTTER, E. L.; DOWIE, M. J.; GLASS, M.; GRAHAM, E. S. Specific detection of CB_1 receptors; cannabinoid CB_1 receptor antibodies are not all created equal! **J. Neurosci. Methods**, v., 171, p. 78-86, 2008.

GROTENHERMEN, F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. **Clin Pharmacokinet**., v. 42, p. 327-360, 2003.

GRUNDY, R. I.; RABUFFETTI, M.; BELTRAMO, M. Cannabinoids and Neuroprotection. **Mol. Neurobiol.**, v. 24, p. 29-51, 2001.

GUBELLINI, P.; PICCONI, B.; BARI, M.; BATTISTA, N.; CALABRESI, P.; CENTONZE, D.; BERNARDI, G.; FINAZZI-AGRÒ, A.; MACCARRONE, M. J. Experimental parkinsonism alters endocannabinoid degradation: implications for striatal glutamatergic transmission. **Neuroscience,** v.22, p. 6900-6907, 2002.

GUZMAN, M. Neurons on cannabinoids: dead or alive? **Br. J. Pharmacol.,** v. 140, p. 439-440, 2003.

HASHIMOTODAN, I. Y.; OHNO-SHOSAKU, T.; KANO, M. Endocannabinoids and Synaptic Function in the CNS. **Neurocientist**, v. 13, p. 127-137, 2007.

HENDERSON, J. M.; WATSON, S.; HALLIDAY, G. M.; HEINEMANN, T.; GERLACH, M. Relationships between various behavioural abnormalities and nigrostriatal dopamine depletion in the unilateral 6-OHDA-lesioned rat. **Behav. Brain. Res**., v. 139, p. 105-13, 2003.

HENDERSON, J. M.; WATSON, S. Convulsive and postural effects of lesioning the mid-substantia nigra pars reticulata in naïve and 6-hydroxydopamine lesioned rats. **Brain Res. Bull.**, v. 60, p. 179-185, 2003.

HERKENHAM, M.; LYNN, A. B.; LITTLE, M. D.; JOHNSON, M. R.; MELVIN, L. S.; DE COSTA, B. R; RICE, K. C. Cannabinoid receptor localization in brain. **Proc. Natl. Acad. Sci.,** v. 87, p. 1932-1936, 1990.

HERKENHAM, M.; LYNN, A. B.; DE COSTA, B. R.; RICHFIELD, E. K. Neuronal localization of cannabinoid receptors in the basal ganglia of the rat. **Brain Res.,** v. 547, p. 267-274, 1991a.

HERKENHAM, M.; LYNN, A. B.; JOHNSON, M. R.; MELVIN, L. S.; DE COSTA, B. R.; RICE, K. C. Characterization and localization of cannabinoid receptors in the rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. **J. Neurosci.,** v. 11, p. 563-583, 1991b.

HILLARD, C. J.; MANNA, S.; GREENBERG, M. J.; DICAMELLI, R.; ROSS, R. A.; STEVENSON, L. A.; MURPHY, V.; PERTWEE, R. G.; CAMPBELL, W.B. Synthesis and characterization of potent and selective agonists of the neuronal cannabinoid receptor (CB1). **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 289, p. 1427-1433, 1999.

HOHMANN, A. G.; HERKENHAM, M. Localization of cannabinoid CB(1) receptor mRNA in neuronal subpopulations of rat striatum: a double-label in situ hybridization study. **Synapse**, v. 37, p. 71-80, 2000.

HONTANILLA, B.; PARENT, A.; GIMÉNEZ-AMAYA, J. M. Parvalbumin and calbindin D-28k in the entopeduncular nucleus, subthalamic nucleus, and substantia nigra of the rat as revealed by double-immunohistochemical methods. **Synapse**, v. 25, p. 359-367, 1997.

HONTANILLA, B.; PARENT, A.; DE LAS HERAS, S.; GIMÉNEZ-AMAYA, J. M. Distribution of calbindin D-28k and parvalbumin neurons and fibers in the rat basal ganglia. **Brain Res. Bull.,** v. 47, p. 107-116, 1998.

HOWLETT, A. C.; BARTH, F.; BONNER, T. I.; CABRAL, G.; CASELLAS, P.; DEVANE, W. A.; FELDER, C. C.; HERKENHAM, M.; MACKIE, K.; MARTIN, B. R.; MECHOULAM, R.; PERTWEE, R. G. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. **Pharmacol. Rev.,** v. 54, p. 161-202, 2002.

HOWLETT, A. C.; BREIVOGEL, C. S.; CHILDERS, S. R.; DEADWYLER, S. A.; HAMPSON, R. E.; PORRINO, L. J. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. **Neuropharmacology**, v. 47, p. 345-358, 2004.

HUDSON, J. L.; VAN HORNE, C. G.; STRÖMBERG, I.; BROCK, S.; CLAYTON, J.; MASSERANO, J.; HOFFER, B. J.; GERHARDT, G. A. Correlation of apomorphine- and amphetamine-induced turning with nigrostriatal dopamine content in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats. **Brain Res**., v. 626, p. 167-174, 1993.

HUOT, P.; PARENT, A. Dopaminergic neurons intrinsic to the striatum. **J. Neurochem**., v. 101, p. 1441-1447, 2007.

HURLEY, M. J.; MASH, D. C.; JENNER, P. Expression of cannabinoid CB_1 receptor mRNA in basal ganglia of normal and parkinsonian human brain. **J. Neural. Transm.,** v. 110, p. 1279-1288, 2003.

IACOPINO, A. M.; CHRISTAKOS, S. Specific reduction of calcium-binding protein (28-kilodalton calbindin-D) gene expression in aging and neurodegenerative diseases. **Proc. Nat.l Acad. Sci. U S A**, v. 87, p. 4078-4082, 1990.

JACKSON, S. J.; BAKER, D; CUZNER, M. L.; DIEMEL, L. T. Cannabinoid-mediated neuroprotection following interferon-gamma treatment in a three-dimensional mouse brain aggregate cell culture. **Eur. J. Neurosci.,** v. 20, p. 2267-2275, 2004.

JACKSON, S. J.; DIEMEL, L. T.; PRYCE, G.; BAKER, D. Cannabinoids and neuroprotection in CNS inflammatory disease. **J. Neuro.l Sci.,** v. 233, p. 21-25, 2005.

JAHANSHAHI, M.; JONES, C. R.; ZIJLMANS, J.; KATZENSCHLAGER, R.; LEE, L.; QUINN, N.; FRITH, C. D.; LEES, A. J. Dopaminergic modulation of striato-frontal connectivity during motor timing in Parkinson's disease. **Brain**, v. 3, p. 727-745, 2010.

JAIN, L.; BENKO, R.; SAFRANEK, S. Clinical inquiry. Which drugs work best for early Parkinson's disease? **J. Fam. Pract.,** v. 61, p. 106-108, 2012.

JELLINGER, K. A. Post mortem studies in Parkinson's disease--is it possible to detect brain areas for specific symptoms? **J. Neural. Transm. Suppl.**, v. 56, p. 1-29, 199.

JORDAN, J. D.; HE, J. C.; EUNGDAMRONG, N. J.; GOMES, I.; ALI, W.; NGUYEN, T.; BIVONA, T. G.; PHILIPS, M. R.; DEVI, L. A.; IYENGAR, R. Cannabinoid receptor-induced neurite outgrowth is mediated by Rap1 activation through G(alpha)o/i-triggered proteasomal degradation of Rap1GAPII. **J. Biol. Chem.**, v. 280, p. 11413-11421, 2005.

JULIAN, M. D.; MARTIN, A. B.; CUELLAR, B.; RODRIGUEZ DE FONSECA, F.; NAVARRO, M.; MORATALLA, R.; GARCIA-SEGURA, L. M. Neuroanatomical relationship between type 1 cannabinoid receptors and dopaminergic systems in the rat basal ganglia. **Neuroscience,** v. 119, p. 309-318, 2002.

KARANIAN, D. A.; BROWN, Q. B.; MAKRIYANNIS, A.; KOSTEN, T. A.; BAHR, B. A. Dual modulation of endocannabinoid transport and fatty acid amide hydrolase protects against excitotoxicity. **J. Neurosci**., v. 25, p. 7813-7820, 2006.

KAWAMOTO, E. M.; SCAVONE, C.; MATTSON, M. P.; CAMANDOLA, S. Curcumin requires Tumor Necrosis Factor α signaling to alleviate cognitive impairment elicited by Lipopolysaccharide. **Neurosignals**, 2012. In press.

KELSEY, J. E.; HARRIS, O.; CASSIN, J. The CB(1) antagonist rimonabant is adjunctively therapeutic as well as monotherapeutic in an animal model of Parkinson's disease. Behav **Brain Res**., v. 203, p. 304-307, 2009.

KHASPEKOV, L. G.; BRENZ VERCA, M. S.; FRUMKINA, L. E.; HERMANN, H.; MARSICANO, G.; LUTZ, B. Involvement of brain-derived neurotrophic factor in cannabinoid receptor-dependent protection against excitotoxicity. **Eur. J. Neurosci.**, v. 19, p. 1691-1698, 2004.

KIM, S. H.; WON, S. J.; MAO, X. O.; JIN, K.; GREENBERG D. A. Involvement of protein kinase A in cannabinoid receptor-mediated protection from oxidative neuronal injury. **J. Pharmacol. Exp. Ther**., v. 313, p. 88-94, 2005.

KIRIK, D.; ROSENBLAD, C.; BJÖRKLUND, A. Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat. **Exp. Neurol.,** v. 152, p. 259-277, 1998.

KÖFALVI, A.; RODRIGUES, R. J.; LEDENT, C.; MACKIE, K.; VIZI, E. S.; CUNHA, R. A.; SPERLÁGH, B. Involvement of cannabinoid receptors in the regulation of neurotransmitter release in the rodent striatum: a combined immunochemical and pharmacological analysis. **J. Neurosci.,** v. 25, p. 2874-2884, 2005.

KWAK, J. Y.; JUNG, J. Y.; HWANG, S. W.; LEE, W. T.; OH, U. A capsaicin-receptor antagonist, capsazepine, reduces inflammation-induced hyperalgesic responses in the rat: evidence for an endogenous capsaicin-like substance. **Neuroscience,** v. 86, p. 619-626, 1998.

LABANDEIRA-GARCIA, J. L.; ROZAS, G.; LOPEZ-MARTIN, E.; LISTE, I.; GUERRA, M. J. Time course of striatal changes induced by 6-hydroxydopamine lesion of the nigrostriatal pathway, as studied by combined evaluation of rotational behaviour and striatal Fos expression. **Exp. Brain Res**., v. 108, p. 69-84, 1996.

LANDUCCI, E.; SCARTABELLI, T.; GERACE, E.; MORONI, F.; PELLEGRINI-GIAMPIETRO, D. E. CB_1 receptors and post-ischemic brain damage: studies on the toxic and neuroprotective effects of cannabinoids in rat organotypic hippocampal slices. **Neuropharmacology**, v. 60, p. 674-682, 2011.

LASTRES-BECKER, I.; CEBEIRA, M.; DE CEBALLOS, M. L.; ZENG, B. Y.; JENNER, P.; RAMOS, J. A.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. J. Increased cannabinoid CB_1 receptor binding and activation of GTP-binding proteins in the basal ganglia of patients with Parkinson's syndrome and of MPTP-treated marmosets. **Eur. J. Neurosci.,** v. 14, p. 1827-1832, 2001.

LASTRES-BECKER, I.; MOLINA-HOLGADO, F.; RAMOS, J. A.; MECHOULAM, R.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: relevance to Parkinson's disease. **Neurobiol. Dis.,** v. 19, p. 96-107, 2005.

LEONELLI, M.; BRITTO, L. R.; CHAVES, G. P.; TORRAO, A. S. Developmental expression of cannabinoid receptors in the chick retinotectal system. **Develop**. **Brain Res.,** v. 156, p. 176-182, 2005.

LUTZ, B. Molecular biology of cannabinoid receptors. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, v. 66, p. 123-142, 2002.

MAILLEUX, P.; VANDERHAEGHEN, J. J. Distribution of the neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. **Neuroscience,** v. 48, p. 655-688, 1992.

MARSICANO, G.; LUTZ, B. Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. **Eur. J. Neurosci.,** v. 1, p. 4213-4225, 1999.

MARSICANO, G.; MOOSMANN, B.; HERMANN, H.; LUTZ, B.; BEHL, C. Neuroprotective properties of cannabinoids against oxidative stress: role of the cannabinoid receptor CB_1. **J. Neurochem**., v. 80, p. 448-456, 2002

MARTÍN, A. B.; FERNANDEZ-ESPEJO, E.; FERRER, B.; GORRITI, M. A.; BILBAO, A.; NAVARRO, M.; RODRIGUEZ DE FONSECA, F.; MORATALLA, R. Expression and function of CB_1 receptor in the rat striatum: localization and effects on D1 and D2 dopamine receptor-mediated motor behaviors. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, p. 1667-1679, 2008.

MATO, S.; DEL OLMO, E.; PAZOS, A. Ontogenetic development of cannabinoid receptor expression and signal transduction functionality in the human brain. **Eur. J. Neurosci.**, v. 17, p. 1747-1754, 2003.

MATO, S.; ALBERDI, E.; LEDENT, C.; WATANABE, M.; MATUTE, C. CB_1 cannabinoid receptor-dependent and -independent inhibition of depolarization-induced calcium influx in oligodendrocytes. **Glia**, v. 57, p. 295-306, 2009.

MATSUDA, L. A.; LOLAIT, S. J.; BROWNSTEIN, M. J.; YOUNG, A. C.; BONNER, T. I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature,** v. 346, p. 561-564, 1990.

MATSUDA, L. A.; BONNER, T. I.; LOLAIT, S. J. Localization of cannabinoid receptor mRNA in rat brain. **J. Comp. Neurol.,** v. 327, p. 535-550, 1993.

MÁTYÁS, F.; YANOVSKY, Y.; MACKIE, K.; KELSCH, W.; MISGELD, U.; FREUND T. F. Subcellular localization of type 1 cannabinoid receptors in the rat basal ganglia. **Neuroscience,** v. 137, p. 337-361, 2006.

MECHOULAM, R.; GAONI, Y. A total synthesis of dl-delta-1-tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 20;87, p. 3273-3275, 1965..

MECHOULAM, R.; PARKER, L. A. The Endocannabinoid System and the Brain. **Annu. Rev. Psychol.**, v. 64, p. 21-47, 2013.

MECHOULAM, R.; SPATZ, M.; SHOHAMI, E. Endocannabinoids and neuroprotection. **Sci. STKE,** v. 129 re5, 2002.

MECHOULAM, R. Discovery of endocannabinoids and some random thoughts on their possible roles in neuroprotection and aggression**. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, v. 66, p. 93-99, 2002

MESCHLER, J. P.; HOWLETT, A. C. Signal transduction interactions between CB_1 cannabinoid and dopamine receptors in the rat and monkey striatum. **Neuropharmacology**, v. 40, p. 918-926, 2001.

MNICH, K.; FINN, D. P.; DOWD, E.; GORMAN, A. M. Inhibition by anandamide of 6-hydroxydopamine-induced cell death in PC12 cells. **Int. J. Cell Biol**., v. 2010:818497, 2010.

MOLINA-HOLGADO, E.; VELA, J. M.; ARÉVALO-MARTÍN, A.; ALMAZÁN, G.; MOLINA-HOLGADO, F.; BORRELL, J.; GUAZA, C. Cannabinoids promote oligodendrocyte progenitor survival: involvement of cannabinoid receptors and phosphatidylinositol-3 kinase/Akt signaling. **J. Neurosci.,** v. 22, p. 9742-9753, 2002.

MORERA-HERRERAS, T.; RUIZ-ORTEGA, J. A.; GÓMEZ-URQUIJO, S.; UGEDO, L. Involvement of subthalamic nucleus in the stimulatory effect of Delta(9)-tetrahydrocannabinol on dopaminergic neurons. **Neuroscience,** v. 151, p. 817-823, 2008

MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature,** v. 365, p. 61-65, 1993.

NEMOTO, C.; HIDA, T.; ARAI, R. Calretinin and calbindin-D28k in dopaminergic neurons of the rat midbrain: a triple-labeling immunohistochemical study. **Brain Res**., v. 846, p. 129-136, 1999.

NG, M. C.; IACOPINO, A. M.; QUINTERO, E. M.; MARCHES, F.; SONSALLA, P. K.; LIANG, C. L.; SPECIALE, S. G.; GERMAN, D. C. The neurotoxin MPTP increases calbindin-D28k levels in mouse midbrain dopaminergic neurons.Brain **Res. Mol. Brain Res**., v. 36, p. 329-336, 1996.

ONAIVI, E. S.; ISHIGURO, H.; GONG, J. P.; PATEL, S.; PERCHUK, A.; MEOZZI, P. A.; MYERS, L.; MORA, Z.; TAGLIAFERRO, P.; GARDNER, E.; BRUSCO, A.; AKINSHOLA, B. E.; LIU, Q. R.; HOPE, B.; IWASAKI, S.; ARINAMI, T.; TEASENFITZ, L.; UHL, G. R. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB_2 receptors in brain. **Ann. N Y Acad. Sci.,** v. 1074, p. 514-536, 2006.

ONG, W. Y.; MACKIE, K. A light and electron microscopic study of the CB_1 cannabinoid receptor in the primate spinal cord. **J. Neurocytol.,** v. 28, p. 39-45, 1999a.

ONG, W. Y.; MACKIE, K. A light and electron microscopic study of the CB_1 cannabinoid receptor in primate brain. **Neuroscience,** v. 92, p. 1177-1191, 1999b

O'SULLIVAN, S. E.; KENDALL, D. A. Cannabinoid activation of peroxisome proliferator-activated receptors: potential for modulation of inflammatory disease. **Immunobiology**, v. 215, p. 611-616, 2010.

PANIKASHVILI, D.; SIMEONIDOU, C.; BEN-SHABAT, S.; HANUS, L.; BREUER, A.; MECHOULAM, R.; SHOHAMI, E. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. **Nature,** v. 413 , p. 527-531, 2001.

PANIKASHVILI, D.; SHEIN, N. A.; MECHOULAM, R.; TREMBOVLER, V.; KOHEN, R.; ALEXANDROVICH, A.; SHOHAMI, E. The endocannabinoid 2-AG protects the blood-brain barrier after closed head injury and inhibits mRNA expression of proinflammatory cytokines. **Neurobiol. Dis**., v. 22, p. 257-264, 2006.

PAPA, S. M. The cannabinoid system in Parkinson's disease: multiple targets to motor effects. **Exp. Neurol**., v.211, p. 334-338, 2008.

PARMENTIER-BATTEUR, S.; JIN, K.; MAO, X. O.; XIE, L. GREENBERG D. A.; Increased severity of stroke in CB_1 cannabinoid receptor Knock-out mice. **J. Neurosci**., v. 22, p. 9771-9775, 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2005.

PEGORINI, S.; ZANI, A.; BRAIDA, D.; GUERINI-ROCCO, C.; SALA, M. Vanilloid VR1 receptor is involved in rimonabant-induced neuroprotection. **Br. J. Pharmacol**., v. 147, p. 552-559, 2006.

PERTWEE, R. G. Pharmacology of cannabinoid CB_1 and CB_2 receptors. **Pharmacol. Ther.,** v. 74 , p. 129-180, 1997.

PERTWEE, R. G. Cannabinoid receptors and pain**. Prog. Neurobiol.,** v. 63, p. 569-611, 2001.

PERTWEE, R. G. Inverse agonism and neutral antagonism at cannabinoid CB_1 receptors. **Life Sci**., v. 76, p. 1307-1324, 2005.

PETITET, F.; JEANTAUD, B.; REIBAUD, M.; IMPERATO, A.; DUBROEUCQ, M. C. Complex pharmacology of natural cannabinoids: evidence for partial agonist activity of delta9-tetrahydrocannabinol and antagonist activity of cannabidiol on rat brain cannabinoid receptors. **Life Sci**., v. 63, p. 1-6, 1998.

PORRITT, M. J.; BATCHELOR, P. E.; HUGHES, A. J.; KALNINS, R.; DONNAN, G. A.; HOWELLS, D. W. New dopaminergic neurons in Parkinson's disease striatum. **Lancet**, v. 356, p. 44-50, 2000.

PRICE, D. A.; MARTINEZ, A. A.; SEILLIER, A.; KOEK, W.; ACOSTA, Y.; FERNANDEZ, E.; STRONG, R.; LUTZ, B.; MARSICANO, G.; ROBERTS, J. L.; GIUFFRIDA, A. WIN55,212-2, a cannabinoid receptor agonist, protects against

nigrostriatal cell loss in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. **Eur J Neurosci**., v. 29, p. 2177-2186, 2009.

PRZEDBORSKI, S.; LEVIVIER, 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**, v. 67, p. 631-647, 1995.

PURISAI, M. G.; MCCORMACK, A. L.; CUMINE, S.; LI, J.; ISLA, M. Z.; DI MONTE, D. A. Microglial activation as a priming event leading to paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. **Neurobiol. Dis**., v. 25, p. 392-400, 2007

RAMOS, J. A.; DE MIGUEL, R.; CEBEIRA, M.; HERNANDEZ, M.; FERNANDEZ-RUIZ, J. J. Exposure to cannabinoids in the development of endogenous cannabinoid system. **Neurotox. Res.,** v. 4, p. 363-372, 2002.

RAUCH, F.; SCHWABE, K.; KRAUSS, J. K. Effect of deep brain stimulation in the pedunculopontine nucleus on motor function in the rat 6-hydroxydopamine Parkinson model. **Behav. Brain. Res**., v. 210, p. 46-53, 2010.

REAL, C. C.; FERREIRA, A. F. B.; CHAVES-KIRSTEN, G. P.; TORRÃO, A. S.; PIRES, R. S.; BRITTO, L. R. G. BDNF receptor blockade hinders the beneficial effects of exercise in a rat model of Parkinson´s disease. **Neuroscience,** 2013. In press.

ROMERO, J.; BERRENDERO, F.; PÉREZ-ROSADO, A.; MANZANARES, J.; ROJO, A.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. J.; DE YEBENES, J. G.; RAMOS, J. A. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of nigrostriatal dopaminergic neurons increased CB_1 receptor mRNA levels in the caudate-putamen**. Life Sci.**, v. 66, p. 485-494, 2000.

ROSS, R. Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. **Br. J. Pharmacol.,** v. 140, p. 790-801, 2003.

RUPAREL, N. B.; PATWARDHAN, A. M.; AKOPIAN, A. N.; HARGREAVES, K. M. Desensitization of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) by the TRP vanilloid 1-selective cannabinoid arachidonoyl-2 chloroethanolamine. **Mol. Pharmacol.**, v. 80, p. 117-123, 2011.

SAGREDO, O.; GARCÍA-ARENCIBIA, M.; DE LAGO, E.; FINETTI, S.; DECIO, A.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Cannabinoids and neuroprotection in basal ganglia disorders. **Mol. Neurobiol.,** v. 36, p. 82-91, 2007a.

SAGREDO, O.; RAMOS, J. A.; DECIO, A.; MECHOULAM, R.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J. Cannabidiol reduced the striatal atrophy caused 3-nitropropionic acid in vivo by mechanisms independent of the activation of cannabinoid, vanilloid TRPV1 and adenosine A2A receptors. **Eur. J .Neurosci.,** v.26, p. 843-851, 2007b.

SALIO, C.; FISCHER, J.; FRANZONI, M. F.; CONRATH, M. Pre- and postsynaptic localizations of the CB_1 cannabinoid receptor in the dorsal horn of the rat spinal cord. **Neuroscience**, v. 110, p. 755-764, 2002.

SÁNCHEZ, A. J.; GARCÍA-MERINO, A. Neuroprotective agents: cannabinoids. **Clin. Immunol.,** v. 142, p. 57-67, 2012.

SANTOS, C. M. New Agents Promote Neuroprotection In Parkinson Models. **CNS Neurol. Disord. Drug. Targets**. 2012. [Epub ahead of print]

SARNE, Y.; MECHOULAM, R. Cannabinoids: between neuroprotection and neurotoxicity. **Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.,** v. 4, p. 677–684, 2005.

SARNE, Y.; ASAF, F.; FISHBEIN, M.; GAFNI, M.; KEREN, O. The dual neuroprotective-neurotoxic profile of cannabinoid drugs. **Br. J. Pharmacol.,** v. 163, p. 1391-1401, 2011.

SCHMIDT, N.; FERGER, B. Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. **J. Neural. Transm.,** v. 108, p. 1263-1282, 2001.

SCHOBER, A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. **Cell. Tissue. Res**., v. 318, p. 215-224, 2004.

SCHWARTING, R. K; HUSTON, J. P. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. **Prog Neurobiol**., v. 50, p. 275-331, 1996.

SEGOVIA, G.; MORA, F.; CROSSMAN, A. R.; BROTCHIE, J. M. Effects of CB_1 cannabinoid receptor modulating compounds on the hyperkinesia induced by high-dose levodopa in the reserpine-treated rat model of Parkinson's disease. **Mov. Disord.**, v. 18, p. 138-149, 2003.

SIERADZAN, K. A.; FOX, S. H.; HILL, M.; DICK, J. P.; CROSSMAN, A. R.; BROTCHIE, J. M. Cannabinoids reduce levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a pilot study. **Neurology**, v. 57, p. 2108-2111, 2001.

SILVA, C.; FUXE, K.; CHADI, G. Involvement of astroglial fibroblast growth factor-2 and microglia in the nigral 6-OHDA parkinsonism and a possible role of glucocorticoid hormone on the glial mediated local trophism and wound repair. **J. Neural. Transm. Suppl.,** v. 73, p. 185-202, 2009.

SILVERDALE, M. A.; MCGUIRE, S.; MCINNES, A.; CROSSMAN, A. R.; BROTCHIE, J. M. Striatal cannabinoid CB_1 receptor mRNA expression is decreased in the reserpine-treated rat model of Parkinson's disease. **Exp. Neurol**., v. 169, p. 400-406, 2001.

SINDHU, K. M.; SARAVANAN, K. S.; MOHANAKUMAR, K. P. Behavioral differences in a rotenone-induced hemiparkinsonian rat model developed following intranigral or median forebrain bundle infusion. **Brain Res**., v. 1051, p. 25-34, 2006.

SINDHU, K. M.; BANERJEE, R.; SENTHILKUMAR, K. S.; SARAVANAN, K. S.; RAJU, B. C.; RAO, J. M.; MOHANAKUMAR, K. P. Rats with unilateral median forebrain bundle, but not striatal or nigral, lesions by the neurotoxins MPP+ or rotenone

display differential sensitivity to amphetamine and apomorphine. **Pharmacol. Biochem. Behav.,** v. 84, p. 321-329, 2006.

SMEYNE, R. J.; JACKSON-LEWIS, V. The MPTP model of Parkinson's disease. **Brain Res. Mol. Brain. Res.,** v. 134, p. 57-66, 2005.

STELLA, N. Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. **Glia,** v. 58, p. 1017-1030, 2010.

SZALLASI, A.; DI MARZO, V. New perspectives on enigmatic vanilloid receptors. **Trends Neurosci**., v. 10, p. 491-497, 2000

TAGLIAFERRO, P.; JAVIER RAMOS, A.; ONAIVI, E. S.; EVRARD, S. G.; LUJILDE, J.; BRUSCO, A. R. Neuronal cytoskeleton and synaptic densities are altered after a chronic treatment with the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. **Brain Res.,** v. 1085, p. 163-176, 2006.

TANAKA, K.; OGAWA, N.; ASANUMA, M. Molecular basis of 6-hydroxydopamine-induced caspase activations due to increases in oxidative stress in the mouse striatum. **Neurosci. Lett.,** v. 410, p. 85-9, 2006.

TEBANO, M. T.; MARTIRE, A.; CHIODI, V.; PEPPONI, R.; FERRANTE, A.; DOMENICI, M. R.; FRANK, C.; CHEN, J. F.; LEDENT, C.; POPOLI, P. Adenosine A2A receptors enable the synaptic effects of cannabinoid CB_1 receptors in the rodent striatum. **J Neurochem**., v. 110, p. 1921-1930, 2009.

THOMAS, A.; BAILLIE, G. L.; PHILLIPS, A. M.; RAZDAN, R. K.; ROSS, R. A.; PERTWEE, R. G. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB_1 and CB_2 receptor agonists in vitro. **Br. J. Pharmacol**., v. 150, p. 613-623, 2007.

THYAGARAJAN, B.; POTIAN, J. G.; GARCIA, C. C.; HOGNASON, K.; CAPKOVÁ, K.; MOE, S. T.; JACOBSON, A. R.; JANDA, K. D.; MCARDLE, J. J. Effects of hydroxamate metalloendoprotease inhibitors on botulinum neurotoxin A poisoned mouse neuromuscular junctions. **Neuropharmacology**, v. 58, p. 1189-1198, 2009..

TILLERSON, J. L.; COHEN, A. D.; CAUDLE, W. M.; ZIGMOND, M. J.; SCHALLERT, T.; MILLER, G. W. Forced nonuse in unilateral parkinsonian rats exacerbates injury**. J Neurosci**., v.22, p. 6790-9, 2002.

TORRÃO, A. S.; CAFÉ-MENDES, C. C.; REAL, C. C.; HERNANDES, M. S.; FERREIRA, A. F. B.; SANTOS, T. O.; CHAVES-KIRSTEN, G. P.; MAZUCANTI, C. H. Y.; FERRO, E. S.; SCAVONE, C.; BRITTO, L .R. G. Different approaches, one target: understanding cellular mechanisms of Parkinson’s and Alzheimer’s diseases. **Rev. Bras. Psiquiatr.,** 2013. In press.

TREMBLAY, R. G.; SIKORSKA, M.; SANDHU, J. K.; LANTHIER, P.; RIBECCO-LUTKIEWICZ, M.; BANI-YAGHOUB, M. Differentiation of mouse Neuro 2A cells into dopamine neurons. **J. Neurosci. Methods**, v. 186, p. 60-67, 2010.

TSOU, K.; BROWN, S.; SANUDO-PENA, M. C.; MACKIE, K.; WALKER, J. M. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB_1receptors in the rat central nervous system. **Neuroscience,** v. 83, p. 393-411, 1998.

ULLRICH, O.; MERKER, K.; TIMM, J.; TAUBER, S. Immune control by endocannabinoids - New mechanisms of neuroprotection? **J. Neuroimmunol**., v. 184, p. 127-135, 2007.

VAN DER STELT, M.; DI MARZO, V.. The endocannabinoid system in the basal ganglia and in the mesolimbic reward system: implications for neurological and psychiatric disorders. **Eur. J .Pharmacol.,** v. 480, p. 133-150, 2003.

VAN DER STELT, M.; DI MARZO, V. Anandamide as an intracellular messenger regulating ion channel activity. **Prostaglandins Other Lipid Mediators,** v. 77, p. 111-122, 2005a.

VAN DER STELT, M.; DI MARZO, V. Cannabinoid receptors and their role in Neuroprotection. **Neuromol. Med**., v. 7, p. 37-50, 2005b.

VAN DER STELT, M.; VELDHUIS, W. B.; MACCARRONE, M.; BAR, P.R.; NICOLAY, K.; VELDINK, G.A.; DI MARZO, V.; VLIEGENTHART, J.F. Acute neuronal injury, excitotoxicity, and the endocannabinoid system. **Mol. Neurobiol.,** v. 26, p. 317-346, 2002.

VAN LAERE, K.; CASTEELS, C.; LUNSKENS, S.; GOFFIN, K.; GRACHEV, I. D.; BORMANS, G.; VANDENBERGHE, W. Regional changes in type 1 cannabinoid receptor availability in Parkinson's disease in vivo. **Neurobiol. Aging,**v. 33, p. 620.e 1-8, 2012.

VAN VLIET, S. A.; VANWERSCH, R. A.; JONGSMA, M. J; OLIVIER, B.; PHILIPPENS, I. H. Therapeutic effects of Delta9-THC and modafinil in a marmoset Parkinson model. **Eur Neuropsychopharmacol.,** v. 18, p. 383-389, 2008.

VAN WAES, V.; BEVERLEY, J. A.; SIMAN, H.; TSENG, K. Y.; STEINER, H. CB_1 Cannabinoid Receptor Expression in the Striatum: Association with Corticostriatal Circuits and Developmental Regulation. **Front. Pharmacol.**, p. 3:21, 2012.

VENDEROVA, K.; BROWN, T. M.; BROTCHIE, J. M. Differential effects of endocannabinoids on [(3)H]-GABA uptake in the rat globus pallidus. **Exp .Neurol.**, v. 194, p. 284-287, 2005.

WALSH, S.; MNICH, K.; MACKIE, K.; GORMAN, A. M.; FINN, D. P.; DOWD, E. Loss of cannabinoid CB_1 receptor expression in the 6-hydroxydopamine-induced nigrostriatal terminal lesion model of Parkinson's disease in the rat. **Brain Res. Bull**., v. 5, p. 543-548, 2010.

WILSON, R. I.; NICOLL, R. A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. **Nature**, v. 410, p. 588-592, 2001.

WINNER, B.; DESPLATS, P.; HAGL, C.; KLUCKEN, J.; AIGNER, R.; PLOETZ, S.; LAEMKE, J.; KARL, A.; AIGNER, L.; MASLIAH, E.; BUERGER, E.; WINKLER, J. Dopamine receptor activation promotes adult neurogenesis in an acute Parkinson model. **Exp. Neurol.,** v. 219, p. 543-552, 2009.

YUAN, H. H.; CHEN, R. J.; ZHU, Y. H.; PENG, C. L.; ZHU, X. R. The neuroprotective effect of overexpression of calbindin-D(28k) in an animal model of Parkinson's disease. **Mol. Neurobiol,**, v. 47, p. 117-122, 2013.

ZANI, A.; BRAIDA, D.; CAPURRO, V.; SALA, M. Delta9-tetrahydrocannabinol (THC) and AM 404 protect against cerebral ischaemia in gerbils through a mechanism involving cannabinoid and opioid receptors. **Br. J. Pharmacol.,** v. 152, p. 1301-1311, 2007.

ZHUANG, S. Y.; BRIDGES, D.; GRIGORENKO, E.; MCCLOUD, S.; BOON, A.; HAMPSON, R. E.; DEADWYLER, S. A. Cannabinoids produce neuroprotection by reducing intracellular calcium release from ryanodine-sensitive stores**. Neuropharmacology**, v. 48, p. 1086-1096, 2005.