

CAROLINE CRISTIANO REAL

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NO
MODELO DA DOENÇA DE PARKINSON EM RATOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto G. Britto

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertação da USP (BDTD).

São Paulo
2013

RESUMO

Real CC. Efeitos do exercício físico no modelo de Parkinson em ratos. [tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2013.

As doenças neurodegenerativas representam um dos grandes desafios da neurociência atual. A Doença de Parkinson (DP), por exemplo, acomete milhões de indivíduos no mundo todo, sendo que o número de doentes deve duplicar ao longo dos próximos 20 anos. Assim, é natural que a DP seja alvo de intensas pesquisas no sentido de desenvolver possíveis estratégias de tratamento e prevenção. Diversos estudos demonstram os efeitos benéficos proporcionados pelo exercício físico sobre o sistema nervoso central. Porém, poucos estudos correlacionam os efeitos do exercício físico com a DP. Assim, o objetivo principal deste projeto foi investigar as alterações histológicas e comportamentais decorrentes da prática de diferentes protocolos de exercício físico no modelo da DP induzida por 6-OHDA (6-hidroxidopamina) em ratos, e o papel do BDNF nos mecanismos envolvidos com as alterações encontradas. Nosso estudo foi dividido em duas etapas, sendo elas, efeito neuroprotetor do exercício, onde os animais treinavam antes e depois (EXA+EXD), ou apenas depois (EXD) da indução da DP; e o efeito preventivo do exercício, onde os animais praticaram exercício apenas antes (EX) da indução da DP, sendo os grupos controles animais sedentários. Para analisar o efeito do BDNF, os animais foram divididos em dois grandes grupos, sendo eles (1) aqueles que receberam a injeção intraestriatal de K252a (inibidor de TrkB) com o objetivo de bloquear as ações do BDNF; (2) aqueles que não receberam o bloqueador do receptor de BDNF. O protocolo de exercício consistiu de treino em esteira (3x/semana, 40 minutos por 4 semanas). Após o protocolo específico para cada grupo, realizaram-se os testes comportamentais (campo aberto e teste de rotação), e posteriormente a análise neuroquímica das regiões encefálicas de interesse, sendo elas, substância negra *pars compacta* (SNc) e estriado (CPu). Utilizaram-se as técnicas de imuno-histoquímica, *immunoblotting*, fluorescência da dihidroetina (DHE) e dosagem de BDNF por ELISA. Os resultados obtidos revelaram, de modo geral, que os diferentes protocolos de exercício intermitente foram eficazes na melhora do sistema dopaminérgico e capazes de recuperar o comportamento dos ratos injetados com 6-OHDA. Demonstramos ainda, que o benefício promovido pelo exercício intermitente parece ter o envolvimento do sistema BDNF-TrkB, sugerindo ser esse um importante sistema de prevenção e neuroproteção na DP.

Palavras-chave: BDNF. 6-OHDA. Doença de Parkinson. Exercício intermitente em esteira. K252a. Tirosina Hidroxilase.

ABSTRACT

Real CC. Effects of exercise on a rat model of Parkinson's disease. [Ph. D. thesis (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2013.

Neurodegenerative diseases represent one of the major challenges of current neuroscience. Parkinson's Disease (PD), for example, affects millions of individuals worldwide, and the number of patients is expected to double over the next 20 years. It is therefore natural that the PD is the subject of intense research to develop possible strategies for treatment and prevention. Several studies have shown the beneficial effects by physical exercise on the central nervous system. However, few studies have correlated the effects of exercise on PD. The aim of this study was to investigate the effects of different protocols of intermittent treadmill exercise-induced behavioral and histological/neurochemical changes in a rat model of unilateral PD induced by striatal injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA), and the role of BDNF in the exercise effects. Our study was divided into two stages: (1) neuroprotective effects of exercise, where the animals trained before and after (EXA + EXD) or only after (EXD) the PD induction; and (2) preventive effects of exercise, where the animals exercised only before PD induction (EX). Sedentary rats were used as control groups. To analyze the effects of BDNF, the animals were divided into two major groups, namely (1) those who received intrastriatal injection of K252a (inhibitor of TrkB) with the aim of blocking the actions of BDNF, (2) those who did not receive the BDNF receptor blocker. The exercise protocol consisted of treadmill training (3x/week, 40 minutes for 4 weeks). One month after 6-OHDA injections, the animals were subjected to behavioral tests (open field and rotation induced by apomorphine), and the brains were collected for immunohistochemistry, immunoblotting, fluorescence of dihydroetina (DHE), and ELISA assays, in which we analyze changes in the substantia nigra pars compacta (SNc) and the striatum (caudate-putamen, CPu). The results showed, in general, that the different intermittent exercise protocols were effective in improving of dopaminergic system and able to recover the behavior of the animals injected with 6-OHDA. We also demonstrated that the benefit promoted by intermittent exercise appears to have the involvement of the BDNF-TrkB, suggesting this an important prevention and neuroprotection system in PD.

Keywords: Brain derived neurotrophic factor (BDNF). 6-OHDA. Parkinson's disease. Intermittent treadmill exercise. Tyrosine hydroxylase. K252a.

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Parkinson

A Doença de Parkinson acomete milhões de indivíduos no mundo todo, sendo que o número de doentes deve duplicar ao longo dos próximos 20 anos. A ocorrência da doença na maioria dos casos é de origem idiopática, e apenas 5% dos casos têm natureza hereditária. Esta se manifesta numa média etária de 55 anos, afetando cerca de 1% da população com mais de 50 anos. O índice aumenta com o avanço da idade, atingindo 2% da população após os 65 anos (Hughes et al., 1993). É muito baixa a frequência em indivíduos com menos de 40 anos (Golbe, 1991).

As primeiras descrições dos distúrbios motores presentes na doença de Parkinson (DP) foram feitas por James Parkinson, em 1817, em seu trabalho “An essay on the shaking palsy” (Blum et al., 2001; Parkinson, 1817). Cem anos depois, determinou-se que a doença estava relacionada à perda de neurônios na substância negra em sua porção compacta (SNc), e conseqüentemente da concentração de dopamina (DA) na área de projeção destes neurônios, ou seja, no estriado. A morte neuronal de origem idiopática na SNc chega a 5% ao ano. Estes neurônios são impregnados por neuromelanina, atribuindo-lhes uma coloração escura; porém, com a morte destes, ocorre uma despigmentação da SNc, deixando a estrutura clara. Associado à perda neuronal, há a formação de precipitados protéicos intracitoplasmáticos constituídos principalmente pelas proteínas sinucleína, parkina e ubiquitina, que são chamados de corpúsculos de Lewy (Tretiakoff, 1919).

A SNc e o estriado são estruturas que compõem os núcleos da base, descritos detalhadamente no próximo item (Kandel et al., 2012; Mink, 1999). Esses núcleos estão envolvidos na maioria dos programas motores de rotina, além de participarem do aprendizado e da formação de memórias, participando dos movimentos voluntários (Calne, 1994; Kandel et al., 2012; Fearnley, Lees, 1991).

Assim, a DP é definida como uma doença neurodegenerativa crônica progressiva que promove distúrbios motores extrapiramidais, tais como bradicinesia (lentidão dos movimentos voluntários ou dificuldades em iniciar os movimentos) ou acinesia (falta de movimentos), tremores de repouso, rigidez muscular, alterações da marcha e instabilidade postural com quedas frequentes e falta de expressão facial

(Agid, 1991; Kandel et al., 2012; Smith, Zigmond, 2003). Os sintomas da doença só aparecem após redução de 40-60% dos neurônios nigrais e dos níveis dopaminérgicos no estriado (Obeso et al., 2000).

Além dos sintomas motores, outro fator envolvido na DP que foi negligenciado por muitos anos é a presença de alterações cognitivas (Kandel et al., 2012). Os sintomas cognitivos acometem cerca de 60% das pessoas com DP (revisado por Chaudhuri et al., 2006). As alterações podem ser lentidão dos pensamentos, demora em responder perguntas, desconexão com o ambiente (ausência), falta de iniciativa, alucinações, pânico e demência, além de quadro depressivo em cerca de 40% dos pacientes (revisado por Chaudhuri et al., 2006; Cummings, 1992). A demência associada à DP é muito comum, com prevalência estimada por alguns estudos variando entre 20% e 40% (Cummings, 1988) e prevalência acumulada podendo chegar a 80%, de acordo com os resultados do estudo de Aarsland et al. (2003). Vale ressaltar que a média da idade da população examinada neste estudo foi superior a 70 anos, o que pode ter contribuído para prevalência tão alta. Barbosa et al. (1987) demonstraram prevalência de demência associada à DP de 18,7% em estudo realizado no Brasil. As alterações cognitivas podem comprometer consideravelmente a qualidade de vida do doente e até mesmo de seus cuidadores. Em fases iniciais é necessária a aplicação de testes específicos para detecção do declínio mental. O termo demência associada à DP refere-se à demência que se desenvolve pelo menos 12 meses após a instalação das alterações motoras. Quando a demência desenvolve-se nos primeiros 12 meses de evolução da doença, preenche-se o critério para o diagnóstico de demência de corpos de Lewy (McKeith et al., 2005).

1.2 Núcleos da base

Os núcleos da base formam um circuito extremamente organizado, onde diferentes regiões podem ser ativadas para funções e circunstâncias específicas. Esses núcleos participam do controle do movimento, pertencendo ao sistema motor extrapiramidal, assim como da aprendizagem associativa, planejamento, memória de trabalho ou de curto prazo e respostas emocionais, sendo o circuito motor o mais compreendido (Kandel et al., 2012; revisado por Obeso et al., 2008). Este sistema tem um papel crítico no planejamento, aprendizado e execução de novas habilidades motoras e movimentos automáticos (Doyon et al., 2009).

O circuito é composto essencialmente por quatro núcleos, sendo eles, estriado (núcleo accumbens, caudado e putâmen (CPu), globo pálido (interno (GPi) e externo (GPe)), substância negra (pars compacta (SNc) e pars reticulada (SNr)) e núcleo subtalâmico (NST). Eles não se comunicam diretamente com a medula espinal, mas recebem projeções do córtex, tálamo e regiões do tronco encefálico, realizam as correções necessárias do movimento e enviam sinais de volta ao córtex através do tálamo ou núcleo pedúnculo-pontino (Kandel et al., 2012).

No modelo descrito por Alexander e Crutcher (1990), o estriado é considerado o principal núcleo do circuito por ser o responsável por receber aferências glutamatérgicas (Calabresi et al., 1998; Kita, 1996) topograficamente organizadas de todas as regiões corticais, (através do circuito corticoestriatal) (Goldman, Nauta, 1977), aferências excitatórias dos núcleos intratalâmicos, projeções dopaminérgicas da SNc e aferências serotoninérgicas dos núcleos da rafe. O estriado é o componente com maior diversidade de neurotransmissores nos núcleos da base, com cerca de 40 tipos (Graybiel, Ragsdale, 1983), e assim representa um complexo circuito neuroquímico. Com a chegada de aferências glutamatérgicas ocorrem sinapses excitatórias com neurônios GABAérgicos espinhosos médios, responsáveis por originar as duas vias eferentes do estriado, sendo uma direta (GABA/substância P) e outra indireta (GABA/encefalina). As eferências do estriado permitem a esse núcleo comunicar-se com o GPi e SNr, através das quais toda a informação processada nos núcleos da base é enviada à medula, através do núcleo pedúnculo-pontino ou ao tálamo e deste de volta à região cortical de origem (Noback et al., 1999).

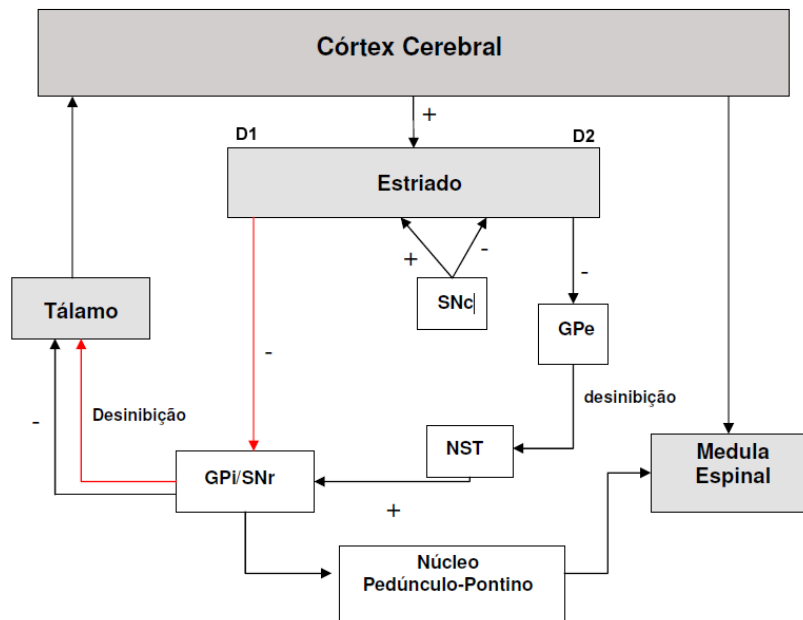
Porém, a ativação da via direta ou indireta pelo estriado é definida pelas projeções dopaminérgicas provenientes da SNc. Os neurônios espinhosos médios estriatais que se projetam para os núcleos de saída expressam os dois tipos de receptor dopaminérgicos, D1 e D2, em populações diversas, e a ativação de cada um deles pelo sistema dopaminérgico que irá determinar qual a via a ser ativada. Assim, o sistema dopaminérgico, ao estimular receptores diferentes, é capaz de modular e filtrar as entradas glutamatérgicas no estriado (revisado por Obeso et al., 2008). Quando a dopamina atua nos neurônios que expressam o receptor D1 ocorre ativação da via direta, e ao atuar nos que expressam o receptor D2 a ativação é da via indireta. Com a ativação da via direta ocorre inibição dos neurônios gabaérgicos do GPi e SNr, e assim ocorre desinibição talâmica, ou seja, ativação da alça tálamo-cortical responsável em facilitar o movimento. Já a ativação da via indireta promove inibição do GPe, e consequentemente desinibição do NST, pois este é inibido por neurônios gabaérgicos do GPe. O NST, por sua vez, possui neurônios glutamatérgicos responsáveis por ativar a atividade inibitória do GPi, promovendo assim inibição dos neurônios dos núcleos-alvos, ou seja, inibição da alça tálamo-cortical responsável em inibir o movimento (Kandel et al., 2012; Obeso et al., 2008). Logo, notamos que o controle da atividade dos núcleos da base está diretamente relacionado à expressão diferencial dos receptores D1 e D2 responsáveis em ativar as diferentes vias, e assim, promover respostas distintas nos núcleos talâmicos ventrolateral e centro-mediano (Blandini et al., 2000; Obeso et al., 2000). A presença de níveis aumentados de DA no estriado tende a ativar neurônios que expressam D1 na via direta, enquanto inibe os neurônios da via indireta que expressam D2 (Kandel et al., 2012) Desta maneira, fica evidente a importância do sistema dopaminérgico no funcionamento adequado dos núcleos da base (**Figura 1**).

Os corpos celulares de neurônios do sistema dopaminérgico estão agrupados em três regiões específicas, sendo elas, SNc (A9), em maior quantidade, na área tegumentar ventral (VTA – A10) e área retrorubral (A8). Os neurônios da SNc são responsáveis, principalmente, pela modulação da excitabilidade dos núcleos da base através das projeções nigroestriatais e os neurônios da VTA estão mais relacionados a mecanismos de recompensa, processos cognitivos e comportamentos motivados através de circuitos límbicos e projeções para o estriado, sendo responsáveis por comportamentos motivados (Lima, 2010; revisado por

Obeso et al., 2008). A área retrorubral foi descrita pela primeira vez por Dahlstrom e Fuxe (1964) como dopaminérgica, porém suas funções e as separações entre as áreas A8, A9 e A10 não são muito claras.

Os neurônios da via nigroestriatal apresentam, normalmente, baixa frequência de atividade, responsável pela liberação contínua de DA no estriado. Por outro lado, em situações de antecipação do movimento nota-se um aumento sincronizado da frequência da atividade neuronal. Assim, a fase em que o sistema dopaminérgico se encontra irá determinar a ativação de receptores D1 (via direta) ou D2 (via indireta) (revisado por Obeso et al., 2008).

Figura 1 - Circuitos dos núcleos da base.



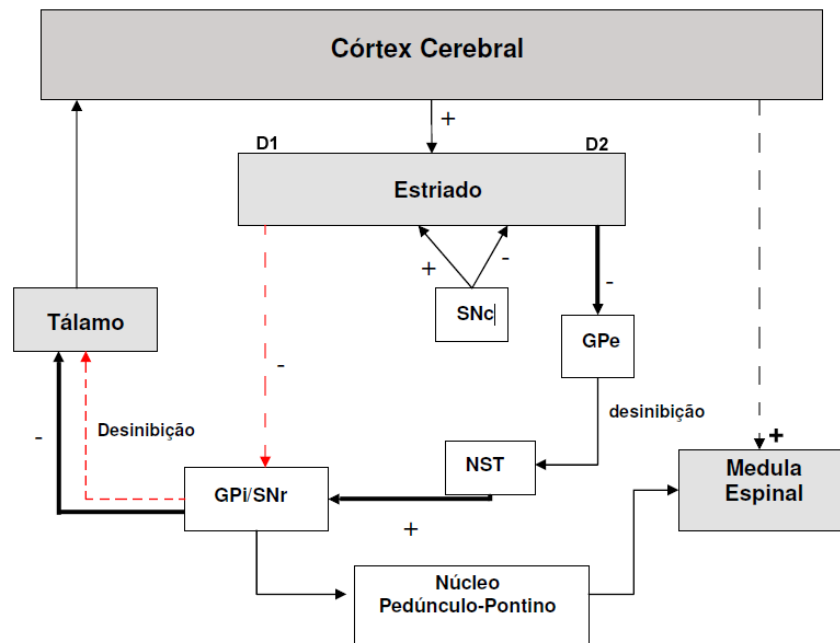
As setas vermelhas representam a via direta do estriado e as pretas a via indireta. Note que a via direta promove desinibição do tálamo, enquanto a indireta promove inibição. Abreviaturas no texto.

Fonte: Modificado de Alexander e Crutcher (1990).

Por outro lado, a morte dos neurônios dopaminérgicos da SNc promove o déficit de DA no sistema e assim redução da ativação da via direta e hiperatividade da via indireta, resultando em redução do movimento. Com a maior ativação da via indireta ocorre aumento na atividade neuronal do GPI e SNr, levando a uma inibição excessiva dos sistemas motores tálamo-corticais. A inibição excessiva do tálamo ocorre devido à reduzida ativação dos receptores dopaminérgicos, devido à deficiência de DA; logo, ocorre diminuição da inibição dos neurônios da via indireta,

e assim aumento da inibição do GPe, resultando em desinibição do NST, e diminuição da atividade da via direta. Assim, com a excitação pelo NST e diminuição da inibição pela via direta, a atividade de saída dos núcleos da base (GPI e SNr) aumenta, gerando então excessiva inibição dos sistemas motores, sendo diminuída a resposta cortical para a medula espinal (revisado por Obeso et al., 2008; Alexander, Crutcher, 1990) (**Figura 2**). Esta hiperativação dos núcleos GPI e NST pode ser confirmada em estudos experimentais com macacos submetidos ao modelo da DP por MPTP. Após a indução da DP os pesquisadores realizaram a lesão destes núcleos, o que promoveu uma diminuição dos sintomas motores apresentados por estes animais. Após anos de pesquisas, este método passou a ser utilizado na clínica médica para melhora dos sintomas motores de pacientes em estágios avançados da DP (revisado por Obeso et al., 2008).

Figura 2 - Circuitos dos núcleos da base na DP.



As setas vermelhas representam a via direta do estriado e as pretas a via indireta. Note que as linhas tracejadas representam os circuitos que estão comprometidos na DP e as linhas mais grossas os circuitos que se encontram com a atividade exacerbada. Note que o resultado final será uma inibição excessiva do tálamo e assim há prejuízo do movimento motor. Abreviaturas no texto.

Fonte: Modificado de Alexander e Crutcher (1990).

1.3 Agentes Neurotóxicos

Algumas substâncias são empregadas em estudos animais por possuírem diversas propriedades, capazes de produzir a mesma lesão seletiva de neurônios dopaminérgicos da SNc, acompanhada de sintomas semelhantes ao parkinsonismo, permitindo assim o desenvolvimento de modelos animais desta doença. Entre estas substâncias estão: 1) as análogas da DA como a 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que está presente no encéfalo de pacientes com DP (Jellinger et al., 1995); 2) contaminantes da heroína sintética - 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP); 3) herbicidas e pesticidas como a rotenona, paraquat e maneb; 4) metais como manganês; 5) Lipopolissacarídeo (LPS). 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 (Purisai et al., 2007; Smeyne et al., 2005).

A 6-OHDA foi o primeiro agente neurotóxico utilizado no modelo de Parkinson, sendo uma droga seletiva para células catecolaminérgicas (Ungerstedt, 1968), produzindo um modelo que gera ampla resposta inflamatória (Blandini et al., 2008). Originalmente, a 6-OHDA foi isolada por Senoh e Witkop (1959a,b), e seus efeitos biológicos foram demonstrados pela primeira vez em 1963, por Porter e colaboradores (1963). Seus estudos demonstraram que a 6-OHDA era muito eficiente na diminuição de noradrenalina em nervos simpáticos (Porter et al., 1963, 1965). Em experimentos com cultura de células, é comum associá-la à droga inibidora de alta afinidade da recaptação de noradrenalina, a desipramina, para tornar o efeito seletivo às células dopaminérgicas (Deumens et al., 2002), porém esta associação não é capaz de prevenir citotoxicidade (revisado por Blum et al., 2001). Por outro lado, estudos *in vivo* em que se injeta a droga diretamente no estriado não utilizam inibidores (Henning et al., 2008; Lee et al., 1996), possivelmente pelo fato de alguns estudos demonstrarem morte de neurônios noradrenérgicos no *locus ceruleus postmortem* de humanos (Zarow et al., 2003), podendo este ser o fator responsável pela discinesia encontrada nestes pacientes (Srinivasan, Schmidt, 2004).

A injeção de 6-OHDA na porção centro-lateral do caudado-putâmen (CPu) é o modelo que mais se aproxima do quadro encontrado em humanos (Tillerson et al.,

2002), principalmente se a lesão for bilateral (Deumens et al., 2002); porém, é costumeiro fazer-se a lesão unilateral do sistema nigro-estriatal, de forma a aproveitar o lado não lesado do mesmo animal como controle dos efeitos da lesão, o que é muito utilizado em modelos com ratos (Blandini et al., 2007; Grigor'ian, Bazian, 2007; Schwarting, Huston, 1996). A perda dos neurônios ocorre logo após a injeção, principalmente em injeções na SNc e no feixe prosencefálico medial (Kondo et al., 2004). A injeção no feixe prosencefálico medial (FPM) parece ser a mais agressiva e gerar quadros mais semelhantes às fases mais avançadas da doença (revisado por Deumens et al., 2002). Já a injeção intra-estriatal parece ser a menos agressiva e de evolução lenta, sendo a mais utilizada em modelos com estratégias terapêuticas (Blandini et al., 2008). A lesão pode ser induzida em ratos ou camundongos (Beal, 2001; Dauer, Przedborski, 2003). Assim a progressão da doença depende do modelo utilizado. Após injeção local, esta neurotoxina é captada pelas células e promove a produção de radicais livres e disfunções mitocondriais. Ocorre assim inibição dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial, e consequentemente estresse oxidativo, melhor explicado adiante (revisado por Blum et al., 2001). Como resultado final ocorre a morte neuronal devido à ativação de mecanismos apoptóticos dependentes de caspase 3 (Tanaka et al., 2006). A liberação de espécies reativas 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. Para examinar os déficits funcionais causados pela doença realizam-se testes comportamentais com os animais, para verificar assimetria rotacional e outras disfunções motoras e sensoriais (Blandini et al., 2008; Henderson et al., 2003).

O estresse oxidativo causado pela entrada de 6-OHDA na célula envolve aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs); estas por sua vez, induzem excitotoxicidade secundária, pois elevam os níveis de cálcio livre, que, por sua vez, aumenta os níveis de óxido nítrico (NO) intracelular (revisado Blum et al., 2001). A análise de tecidos cerebrais *postmortem* de pacientes com doenças neurodegenerativas revela alterações na homeostase intracelular de cálcio (revisado por Mattson, 2007). Outro fator que favorece o aumento de radicais livres na degeneração encontrada na DP é a ativação de microglia responsável por produzir NO, citocinas e dinucleótido adenina nicotinamida adenina fosfato (NADPH)-oxidase

(Blum et al., 2001; Phani et al., 2012). Estudos demonstraram aumento da enzima sintetizadora de NO do tipo induzível (iNOS) no encéfalo de pacientes com DP, enzima que pode estar envolvida em respostas neuroinflamatórias (revisado por Blum et al., 2001). Além da ativação microglial (Wojtera et al., 2005), notamos uma resposta astrogliar que também está envolvida com os processos inflamatórios das doenças neurodegenerativas (revisado por Eng et al., 2000; Maragakis, Rothstein, 2006). Assim, estudar os marcadores que se encontram reativos na DP pode ser de extrema importância no desenvolvimento do tratamento, prevenção e progressão das doenças neurodegenerativas.

1.4 Marcadores de neuroinflamação

Neste item descreve-se alguns dos mecanismos que estão envolvidos na resposta inflamatória encontrada na DP, tanto em modelos animais quanto em humanos, sendo eles EROs, ativação microglial e astrogliar, e aumento da enzima sintetizadora de NO do tipo induzível (iNOS).

1.4.1 Espécies reativas de oxigênio

As EROs são essenciais na manutenção da homeostase celular. Em condições fisiológicas as células mantêm o equilíbrio de óxido-redução (redox) por meio da geração e eliminação de EROs. A homeostase redox é crucial para que diversas funções celulares ocorram de maneira adequada, tais como ativação enzimática, síntese de DNA, regulação do ciclo celular e até mesmo apoptose (Kamata, Hirata, 1999). O delicado equilíbrio entre a geração de EROs e a sua decomposição é mantido por mecanismos complexos e a disfunção destes mecanismos pode levar a alterações no equilíbrio redox celular. Um aumento na produção de EROs ou uma diminuição na capacidade de decomposição devido a estímulos metabólicos endógenos e/ou exógenos podem interromper a homeostase redox, levando a um aumento nos níveis de EROs intracelulares ou até mesmo estresse oxidativo (Valko et al., 2007). Em 1985, Sies e Cadenas definiram estresse oxidativo como um desequilíbrio celular no qual os oxidantes predominariam sobre os antioxidantes. Ou seja, quando a produção de EROs excedesse a capacidade

dos sistemas de defesa antioxidantes, teríamos o estresse oxidativo (Poon et al., 2004; Scandalios, 2002).

Algumas linhas de investigação procuram elucidar o papel do estresse oxidativo nos distúrbios neurodegenerativos, visto que, nestas circunstâncias, observa-se o aumento da formação de EROs (Floyd, 1999; Lee et al., 2009; Phani et al., 2012), por vários mecanismos, como o aumento nos níveis de ferro (catalizador da reação de síntese de EROs), a redução nos níveis de antioxidantes (revisado por Blum et al., 2001) e a ativação da NADPH-oxidase, entre outros. Este complexo enzimático, ao ser ativado, é capaz de produzir uma grande quantidade de radicais superóxido, favorecendo assim, o estresse oxidativo (Phani et al., 2012; Qian et al., 2010). A análise do tecido cerebral *postmortem* de pacientes com doenças neurodegenerativas como a DP e o mal de Alzheimer revelam claramente o excesso de produção de EROs nas regiões cerebrais mais afetadas pela doença (Dexter et al., 1989; Hensley et al., 1998). Nota-se um aumento nos níveis de superóxido dismutase e diminuição nos níveis de glutathiona na SNc, e este desequilíbrio leva à geração do estresse oxidativo (Smith, Zigmond, 2003). Em alguns casos, evidências apontam para o envolvimento de EROs na propagação do dano celular causado pela neuropatologia, levando ao prejuízo oxidativo irreversível dos lipídios, proteínas, DNA e ativação de processos de apoptose (Valko et al., 2007).

Recentemente, alguns estudos têm elucidado o papel do estresse oxidativo no desequilíbrio da homeostase do cálcio, tornando o neurônio mais sensível à excitotoxicidade e apoptose. Níveis elevados de EROs induzem excitotoxicidade secundária, pois elevam os níveis de cálcio livre, que, por sua vez, aumenta os níveis de óxido nítrico (NO) intracelular (revisado por Blum et al., 2001). A análise de tecidos cerebrais *postmortem* de pacientes com doenças neurodegenerativas revela alterações na homeostase intracelular de cálcio (revisado por Mattson, 2007). Outro fator que favorece o aumento de radicais livres na degeneração encontrada na DP é a ativação de microglia responsável por produzir NO, citocinas e NADPH-oxidase (Phani et al., 2012; Qian et al., 2010). Tendo em vista os danos causados pelo estresse oxidativo, alguns estudos têm focado meios de intervir mecanismos que causam a morte celular. Fujita e colaboradores (2009) demonstraram como possível forma de prevenção da DP a adição de fator antioxidante, hidrogênio, na água de beber de camundongos submetidos ao modelo da DP por MPTP. Neste estudo, os

animais que beberam água saturada de hidrogênio apresentaram menor perda de neurônios TH-positivos. Associado à diminuição da perda neuronal, houve diminuição da fluorescência por dihidroetidina (DHE), um indicador de estresse oxidativo. Logo, este estudo mostrou que a perda de neurônios dopaminérgicos pode estar relacionada ao desequilíbrio entre fatores oxidantes e antioxidantes no sistema nervoso central (SNC).

1.4.2 Síntese de óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) participa de diversas funções do SNC, incluindo indução e manutenção da plasticidade sináptica, liberação de neurotransmissores e remoção de agentes patogênicos (Chen et al., 2004; Dawson et al., 1992). Em situações patológicas, tais como doenças neurodegenerativas, podemos encontrar uma grande concentração de NO capaz de causar respostas tóxicas na célula. A neurotoxicidade está associada à formação de peroxinitrito, devido à reação que ocorre entre o radical livre superóxido com o NO (Kavya et al., 2006). Estudos demonstraram aumento da enzima sintetizadora de NO do tipo induzível (iNOS) no encéfalo de pacientes com DP, enzima que pode estar envolvida em respostas neuroinflamatórias (revisado por Blum et al., 2001).

A síntese de NO ocorre por ação de uma enzima, a óxido nítrico sintetase (NOS), sobre o aminoácido L-arginina, o que produz NO e L-citrulina, necessitando da presença de dois cofatores, o oxigênio e o NADPH. O NO é produzido por uma ampla variedade de tipos celulares que incluem células epiteliais, nervosas, endoteliais e inflamatórias. Existem três formas de NOS, sendo elas a endotelial (eNOS), presentes na membrana de vasos sanguíneos, responsáveis pela regulação da função vascular; a neuronal (nNOS), presente em neurônios e em células endoteliais e estimulada mediante insultos ao SNC; e por último, a enzima que pode ser produzida em diferentes tipos celulares, tem sua transcrição e produção ativada devido situações patológicas, conhecida por forma induzível (iNOS), ausente ou em pouca quantidade em condições fisiológicas (Conti et al., 2007; Knott, Bossy-Wetzl, 2009). Estudos analisaram a expressão de iNOS na DP e revelaram associação entre o acréscimo da enzima com o processo neurodegenerativo na SNc (Hunot et al., 1996; Iravani et al., 2002). Por outro lado,

estudos com modelos da DP (MPTP e 6-OHDA) revelaram proteção dos neurônios dopaminérgicos após bloqueio não seletivo de NOS (Barthwal et al., 2001) ou específico de iNOS (Broom et al., 2011), bloqueio da enzima inflamatória NADPH oxidase (revisado por Koppula et al., 2012), e em animais *knockout* para genes de iNOS (Dehmer et al., 2000). Esses dados, apóiam a ideia da participação dessas enzimas nos processos neuroinflamatórios das doenças neurodegenerativas. Por conseguinte, a gestão adequada ou inibição de EROs gerados por essas enzimas podem representar um alvo terapêutico para reduzir a degeneração neuronal observada em DP (revisado por Koppula et al., 2012).

1.4.3 Proliferação microglial

As células microgliais, subtipo de células da glia, foram descritas pela primeira vez em 1880 com o desenvolvimento da técnica de Nissl. Em meados de 1920, Pío del Río Hortega, um estudante de Santiago Ramón y Cajal, passou a chamá-la de microglia. Estas células são células diferenciadas do sistema imune residentes no SNC, ou seja, durante o período embrionário monócitos produzidos no sistema sanguíneo migram ao cérebro e diferenciam-se naquelas células. Assim, a microglia é uma variação do macrófago e possui um alto poder fagocitário responsável pelo remodelamento e maturação cerebral, pois auxilia na limpeza de células em apoptose ou mortas (Wojtera et al., 2005).

No encéfalo maduro, em condições fisiológicas, as células encontram-se pequenas com numerosos prolongamentos ao seu redor, estando em sua forma inativa. Por outro lado, estas células são muito sensíveis e pequenas mudanças no microambiente promovem a sensibilização destas. Ao serem sensibilizadas elas passam a sua forma ativa, assumindo um formato ameboide (Wojtera et al., 2005). A ativação celular promove síntese de substâncias pro-inflamatórias (citocinas), sinalizadores inflamatórios, tais como NO, ou ainda fatores relacionados com a sobrevivência da célula, como o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) (Wojtera et al., 2005). Um dos marcadores utilizados para estudos da microglia é o OX42 ou CD-11-b/c. Este marcador apresenta ligação específica para o receptor C3bi, encontrado em monócitos, macrófagos e microglia (BD550299); assim, o anticorpo é

capaz de reconhecer tanto a forma inativa quanto a forma ativa da célula (Marinova-Mutafchieva et al., 2009).

A microglia funciona como um sensor de eventos patológicos no SNC, estando envolvida nas diversas doenças neurodegenerativas. Em 1988, houve o primeiro relato de proliferação microglial na SNc e CPU de pacientes com DP (McGeer et al., 1988¹ apud Wojtera et al., 2005), e posteriormente, em encéfalos de humanos contaminados por MPTP (Langston et al., 1999). Estas descrições impulsionaram diversos estudos em animais e em humanos para analisar o envolvimento da microglia com a degeneração dos neurônios dopaminérgicos na DP. Em 1998, houve o primeiro relato da proliferação microglial na SNc e CPU após a injeção de LPS diretamente na SNc, um modelo animal que causa rápida degeneração das células (Castano et al., 1998), sendo descrito posteriormente em outros modelos, como por exemplo, de MPTP (Kurkowska-Jastrzebska et al., 1999a,b; Sugama et al., 2003) e de 6-OHDA (Marinova-Mutafchieva et al., 2009; Rodriguez-Pallares et al., 2007).

Sabe-se que ocorre interação entre microglia e o desenvolvimento da DP, tendo em vista que a ativação microglial precede a perda de neurônios dopaminérgicos tanto em humanos (Forno et al., 1996² apud Marinova-Mutafchieva et al., 2009; Ouchi et al., 2005) quanto em modelos animais (Cichetti et al., 2002; Marinova-Mutafchieva et al., 2009). Porém, os mecanismos não são bem definidos.

Um dos mecanismos sugeridos para a interação entre microglia e o desenvolvimento da DP é a grande quantidade de microglia presente na SNc. Esta riqueza de células, mediante qualquer alteração do microambiente, é capaz de gerar intensa ativação microglial e conseqüentemente síntese de substâncias inflamatórias (Kim et al., 2000; McGeer, McGeer, 2004); em contrapartida, os neurônios dopaminérgicos possuem uma capacidade antioxidante limitada, o que pode favorecer defeitos das funções mitocondriais mediante a ativação microglial, e conseqüentemente a morte neuronal (Greenamyre, Hastings, 2004).

Estudo com tomografia por emissão de pósitrons (PET) em ratos submetidos ao modelo com injeção intra-estriatal de 6-OHDA revelaram aumento da reatividade

¹ McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*. 1988;38:1285-91.

² Forno LS. Neuropathology of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1996;55:259-72.

para [^{11}C] (R) – PK11195, um marcador de microglia ativada, seguido por diminuição da reatividade para [^{11}C] CFT, um marcador de transportador de dopamina (DAT), além de diminuição da expressão de TH e aumento da expressão de OX42 em análises de imuno-histoquímica (Cichetti et al., 2002). Estudo clínico, semelhante ao anterior, com pacientes com DP corrobora os dados com animais, ou seja, antes de ocorrer diminuição da ligação de DAT ao radioativo, há uma hiperativação de microglia, reforçando a ideia da participação microglial na progressão da DP (Ouchi et al., 2005). Outro indicio da participação microglial na morte de neurônios dopaminérgicos na DP foi obtido no modelo animal com 6-OHDA. Este estudo relatou que antes de haver diminuição da expressão de TH, há uma intensa proliferação de marcadores microgliais, tais como, OX-42, OX-6, CD-68, sugerindo, assim, uma resposta diretamente proporcional entre a ativação glial e a perda neuronal (Marinova-Mutafchieva et al., 2009).

Vale ressaltar que nem sempre a ativação microglial é deletéria, pois este mecanismo é muito importante nos processos fagocitários para remoção de restos celulares (Glezer et al., 2006; Neumann, 2006; Sriram et al., 2006). Logo, seria de grande relevância o desenvolvimento de intervenções capazes de diminuir a ativação microglial, e conseqüentemente, efeitos neuroprotetores do SNC.

1.4.4 Astrócitos

Os astrócitos são outros subtipos de células gliais, classificadas como células macrogliais do SNC, sendo também conhecidas por astroglia. As funções destas células são diversas e alvos de descrições muito recentes, sendo algumas delas o suporte metabólico, formação da barreira hemato-encefálica e da estrutura cerebral, modulação da transmissão sináptica, potencialização de longo prazo, reparação do sistema nervoso, entre outras que vêm sendo descritas e estudadas. Em nosso estudo, a função de interesse que será descrita adiante é a envolvida com a reparação do sistema nervoso (revisado por Eng et al., 2000).

Um marcador muito utilizado para análise astrogliar após lesões, doenças e desenvolvimento do SNC é a proteína acídica fibrilar glial (GFAP). A GFAP foi descrita pela primeira vez por Larry Eng e colaboradores (1971) ao analisar material de pacientes com esclerose múltipla. O GFAP pertence à família de proteínas do

citoesqueleto, sendo o principal filamento de tamanho intermediário presente em astrócitos maduros. Esta proteína é importante na modulação da mobilidade e da forma do astrócito, e é expressa em todo o SN, principalmente após lesões encefálicas.

Estudos “in vivo” e “in vitro” demonstraram aumento da ativação astrogliar em diferentes modelos animais, tais como encefalomielite alérgica experimental (EAE – modelo de esclerose múltipla), modelos de epilepsia (cainato), e modelos da DP (6-hidroxi-dopamina, 1-metil-4-fenil-1, 2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP)). Nestes modelos, os astrócitos tornam-se reativos e respondem de maneira típica, fenômeno conhecido por astrogliose. A astrogliose é caracterizada por rápida síntese de filamentos de GFAP próximo ao local da lesão. Assim, o GFAP é um biomarcador sensível e precoce da neurotoxicidade (revisado por Eng et al., 2000).

Apesar de animais *knockouts* serem viáveis, estudos demonstraram que estes ratos apresentam hipersensibilidade a lesões na medula espinal e uma redução na estabilidade citoarquitônica do astrócito. Estudo com o modelo de esclerose múltipla demonstrou que animais GFAP^{-/-} apresentaram pior quadro clínico em relação aos animais selvagens, apesar da remielização axonal ocorrer nos animais knock-outs (Liedtke et al., 1998).

O aumento de GFAP nos astrócitos ocorre gradualmente ao longo da vida adulta. Porém, mudanças astrocíticas, tais como proliferação intensa e rápida em regiões anatômicas específicas, parece estar envolvida com doenças neurodegenerativas, por exemplo, esclerose lateral amiotrófica (ELA), doença de Huntington, DP e DA (Calne, 1994). Assim, a intensidade da síntese de GFAP parece estar envolvida no controle clínico da doença após a ativação astrogliar, sugerindo a participação deste filamento nos processos de neuroproteção e recuperação do SN após danos encefálicos (Dutra et al., 2012).

Estudos com o modelo da DP induzido por 6-OHDA demonstraram que a diminuição da expressão de GFAP pode estar relacionada com a melhora motora de animais treinados em esteira (Dutra et al., 2012) e com o efeito neuroprotetor encontrado após o tratamento com NK1 (um antagonista do receptor de substância P, sendo a substância P um importante mediador da neuroinflamação) (Thornton, Vink, 2012). Assim, existem evidências da participação dos astrócitos em doenças

neurodegenerativas, porém os mecanismos envolvidos ainda são pouco compreendidos.

1.5 Exercício físico

O exercício físico é um comportamento relativamente simples e muito praticado pelos humanos, capaz de ativar cascatas moleculares e celulares responsáveis pelo suporte e manutenção da plasticidade cerebral (Cotman, Berchtold, 2002) e inversamente relacionado com doenças neurodegenerativas. Portanto, tem sido foco de diversos estudos, tanto com animais quanto em humanos, que visam descrever benefícios ao sistema nervoso. Alguns efeitos já foram descritos, tais como melhora no aprendizado, na memória e na plasticidade neural (Lambert et al., 2005; Molteni et al., 2004a; Vaynman et al., 2004). Observou-se também um efeito protetor do exercício no sistema nervoso, atenuando o declínio mental decorrente do envelhecimento (Kronenberg et al., 2006; Mattson, 2000; Sumic et al., 2007), aumentando a resistência a lesões (Chen et al., 2007) e facilitando a recuperação funcional pós-lesão (Lacerda et al., 2007; Mattson, 2000). Estudos sugerem diminuição do risco de desenvolver a DP (Chen et al., 2005; Logroscino et al., 2006; Wu et al., 2011), ou ainda, um efeito neuroprotetor sobre os neurônios dopaminérgicos com a prática do exercício (Lau et al., 2011; Petzinger et al., 2007; Tajiri et al., 2010; Yoon et al., 2007). Há ainda trabalhos que demonstram proliferação celular e neurogênese no giro denteado do hipocampo em protocolos de exercício (Kempermann et al., 1998, 1997; van Praag et al., 2008, 1999).

Estudos com modelos animais da DP têm mostrado diversos processos plásticos, desencadeados pelo exercício físico, envolvidos com mecanismos de neuroproteção, tais como melhora da angiogênese (Al-Jarrah et al., 2010), incremento de respostas anti-inflamatórias (Cadet et al., 2003) e decréscimo das inflamatórias (Wu et al., 2011), melhora das funções mitocondriais (Lau et al., 2011), aumento da neurogênese no CPu (Tajiri et al., 2010) e na SNc (Steiner et al., 2006), diminuição de danos oxidativos (revisado por Radák et al., 2008; Radák et al., 2001) e de mecanismos que ativam a neurodegeneração, como a proliferação astrogliar (Dutra et al., 2012). Essas respostas plásticas parecem estar diretamente relacionadas às melhoras nos déficits neuroquímicos, cognitivos e motores (Cohen

et al., 2003; Lau et al., 2011; O'Dell et al., 2008; Petzinger et al., 2007; Sutoo et al., 2003; Tajiri et al., 2010; Yoon et al., 2007; Wu et al., 2011).

O efeito neuroprotetor do exercício em modelos da DP foi relatado em ratos submetidos ao movimento forçado do membro anterior 7 dias antes da injeção (Cohen et al., 2003), em ratos treinados em esteira (Lau et al., 2011; Petzinger et al., 2007; Tajiri et al., 2010; Tillerson et al., 2003; Yoon et al., 2007; Wu et al., 2011) e submetidos a protocolos de exercício voluntário em roda (O'Dell et al., 2007), diminuindo os déficits neuroquímicos, aumentando a produção de tirosina-hidroxilase e do DAT, além da melhora do comportamento motor.

O exercício intenso em esteira demonstrou, em camundongos submetidos ao modelo com MPTP, aumento na liberação de DA no CPu e melhora da performance motora no rotarod. Possivelmente, estas melhoras devem-se ao aumento nos níveis de TH e do DAT, apesar de não haver alterações no RNA mensageiro (Petzinger et al., 2007). O exercício de intensidade leve, por 14 dias consecutivos em esteira, também foi capaz de promover efeitos no modelo induzido por injeção intra-estriatal de 6-OHDA; notou-se diminuição nos déficits de TH e do comportamento rotacional induzido por injeção de apomorfina (Yoon et al., 2007). Por outro lado, o exercício voluntário em roda, 2 ½ semanas antes e 4 semanas depois da injeção intracerebral de 6-OHDA, demonstrou melhora motora dos animais sem que houvesse respostas neuroprotetoras, ou seja, houve diminuição da expressão de DAT e TH semelhantes aos animais sedentários (O'Dell et al., 2007).

Em adição aos relatos da melhora neuroquímica e comportamental, promovidos pelo exercício, alguns estudos têm investigado a participação de fatores neuroinflamatórios responsáveis por ativar mecanismos neurodegenerativos, tais como ativação microglial, ativação astrogliar, aumento da síntese de NO e EROs.

Estudos que correlacionam a ativação microglial com a DP e o exercício físico são controversos. Um deles demonstrou que o exercício em esteira não afeta a ativação microglial no modelo da DP induzida por LPS, mas promove proteção das células dopaminérgicas (Wu et al., 2011). Por outro lado, um estudo com o modelo de MPTP revelou diminuição da proliferação microglial, assim como da expressão de iNOS após 4 semanas de treino em esteira (Sung et al., 2012). Porém, vale ressaltar que o protocolo com LPS promoveu uma resposta inflamatória rápida e sistêmica, podendo não reproduzir idealmente a situação na DP.

Além da diminuição da ativação microglial, o exercício também é capaz de diminuir a ativação astrogliar, em modelo com 6-OHDA, após 1 hora de treino em esteira, por 4 semanas, 5x/semana. A diminuição na proliferação de astrócitos parece estar envolvida na melhora motora dos animais, tendo em vista que não houve mudanças na expressão de TH quando comparados os animais sedentários com os treinados (Dutra et al., 2012).

Há também mudanças na produção de EROS após o exercício, importante no controle de estresse oxidativo promovido pelas doenças neurodegenerativas (revisado por Radak et al., 2008; Radák et al., 2001). Porém, os dados são controversos; o treino intenso de ratos saudáveis em esteira 1 hora/dia, por 8 semanas, 5x/semana, é capaz de aumentar marcadores de EROs (Radák et al., 2013), parecendo esta ser uma resposta adaptativa aguda que estimula a síntese de enzimas antioxidantes e reparação tecidual, pois não se observam lesões no SNC após aquele aumento (Radák et al., 2002, 2001). Por outro lado, o exercício moderado diminui a geração de EROs, como observado no hipocampo de ratos idosos (Marosi et al., 2012) e em modelos de epilepsia (Kim et al., 2011). O exercício parece ser capaz de alterar o estado antioxidativo e redox do encéfalo (Somani et al., 1996, 1995), sendo capaz de diminuir o estresse oxidativo e assim diminuir a incidência de doenças neurodegenerativas (Hollooszy, Kohrt, 1995). Apesar das evidências da participação de EROs no desenvolvimento da DP e os efeitos do exercício físico sobre a sua produção, não existem estudos que relacionem diretamente os efeitos do exercício físico sobre a geração de EROs na DP.

Além das descrições em modelos animais, estudos clínicos relatam que a etiologia da DP está relacionada ao estilo de vida das pessoas, sendo mais propícias a desenvolver doenças neurodegenerativas as pessoas sedentárias (Chen et al., 2005; Elbaz, Moison, 2008; Olanow, Tatton, 1999). Em pacientes que já apresentam os quadros clínicos da DP há uma melhora na qualidade de vida, na deambulação (Herman et al., 2007), na coordenação motora (Fischer et al., 2008), equilíbrio (Toole et al., 2000), no tremor e na força de preensão (revisado por Goodwin et al., 2008; Palmer et al., 1986) após o exercício físico. Com a melhora motora há uma diminuição das quedas nos pacientes (Goodwin et al., 2011) e diminuição da taxa de mortalidade (Kuroda et al., 1990, 1992).

Um estudo com pacientes em estágios iniciais da DP relatou, após 24 sessões de exercício em esteira, normalização da excitabilidade córtico-motora e melhora no desempenho funcional. A melhora funcional parece estar relacionada com o aumento na velocidade da marcha, alargamento da passada e aumento na mobilidade do quadril e tornozelo, responsáveis pela melhor distribuição de peso corporal durante as tarefas de sentar e levantar (Fisher et al., 2008).

1.5.1 Fator neurotrófico derivado do encéfalo

É possível que os principais responsáveis pelos efeitos neuroprotetores do exercício físico, descritos acima, sejam fatores neurotróficos, tais como o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF). Esses fatores são essenciais na diferenciação celular, sobrevivência neuronal, migração, arborização dendrítica, sinaptogênese e plasticidade sináptica, agindo através dos receptores tirosina quinase B (TrkB) (Cotman, Berchtold, 2002). A expressão de BDNF está diminuída em modelos animais da DP (Lau et al., 2011; Tajiri et al., 2010; Wu et al., 2011) e em cérebros de pacientes parkinsonianos *postmortem* (Howells et al., 2000). Por outro lado, o exercício físico é capaz de recuperar os níveis de BDNF tanto em modelos animais (Lau et al., 2011; Smith, Zigmond, 2003; Tajiri et al., 2010; Wu et al., 2011) quanto em pacientes com a DP (Ahlskog, 2011).

Estudos *in vitro* demonstraram que o fator neurotrófico neuronal (NGF) e o BDNF têm papel neuroprotetor mediante estímulos neurotóxicos que ativam vias de apoptose encontradas em doenças neurodegenerativas (Nguyen et al., 2009), sendo diminuído este efeito após adição de K252a (inibidor seletivo da transdução de mecanismos das neurotrofinas (Knüsel, Hefti, 1992). Estudo eletrofisiológico no hipocampo demonstrou que a adição de BDNF a células em cultura promoveu a rápida excitação do receptor TrKB, enquanto a adição da proteína bloqueadora de TrK (K252a) foi capaz de inibir a ativação destes receptores por BDNF (Kafitz et al., 1999). Molteni e colaboradores (2004b) demonstraram que a atividade voluntária é capaz de aumentar a regeneração axonal de neurônios sensoriais periféricos, porém a regeneração é dependente de fatores neurotróficos, pois a adição de K252a promoveu diminuição da regeneração mesmo no animal treinado (Molteni et al., 2004b).

A possível participação do BDNF nos efeitos neuroprotetores também foi descrita em modelos da DP, tanto em estudos que aplicaram BDNF exógeno nos animais (Wu et al., 2011; Singh et al., 2006) quanto em protocolos de exercício capazes de restaurar os níveis de BDNF (Lau et al., 2011; Tajiri et al., 2010; Wu et al., 2011). O tratamento com BDNF antes da aplicação intra-estriatal de 6-OHDA demonstrou recuperação comportamental do sistema dopaminérgico, sugerindo um efeito preventivo do desenvolvimento da DP (Singh et al., 2006). Estudo mais recente com o modelo moderado crônico de DP induzido por administração de MPTP em camundongos revelou que exercício em esteira por 18 semanas (1 semana antes de injetar MPTP, 5 semanas durante a administração e 12 semanas após a indução completa da DP), foi capaz de diminuir os déficits de neurônios dopaminérgicos (TH), de DA e do DAT, elevar os níveis de fatores neurotróficos no circuito nigroestriatal (BDNF e GDNF), e melhorar a função mitocondrial, protegendo, assim, as células de danos oxidativos causados pela neurotoxina (Lau et al., 2011). Estudo com o modelo de 6-OHDA também demonstrou efeito neuroprotetor do exercício em esteira. A prática de 30 minutos de exercício, 5x/semana por 4 semanas, foi capaz de recuperar os níveis de BDNF no estriado, mecanismo que deve estar diretamente envolvido com a preservação das células TH-positivas na SNc e dos terminais axonais no CPu, além do aumento da migração de células BrDu e doublecortina-positivas para a região lesada do CPu (Tajiri et al., 2011).

Para confirmar o envolvimento do BDNF nesses efeitos, e não outros mecanismos que podem estar envolvidos com o exercício, um grupo comparou os efeitos neuroprotetores promovidos pelo exercício e pelo tratamento exógeno com BDNF. Para isto, antes da injeção de LPS, um grupo de camundongos foi treinado em esteira, 5x/semana por 4 semanas, e o outro grupo foi tratado com injeção de BDNF no CPu. Estes animais foram sacrificados após 5 semanas da indução do modelo da DP com LPS, e as análises histológicas revelaram melhora na expressão de tirosina hidroxilase, com níveis semelhantes aos encontrados em animais exercitados (Wu et al., 2011). Por outro lado, a injeção intracerebroventricular do bloqueador do receptor de BDNF, K252a, em ratos treinados, antes da injeção de LPS, promoveu déficits na expressão de TH (Wu et al., 2011), assim como em camundongos *knockout* para TrkB (Baydyuk et al., 2011).

Apesar dos estudos mencionados acima reforçarem a ideia do envolvimento do BDNF na neuroproteção induzida pelo exercício, outros protocolos de estudos são necessários para analisar estratégias terapêuticas da DP em fases mais iniciais da doença. Por exemplo, a injeção intraperitoneal de LPS promove uma resposta inflamatória sistêmica rápida e intensa, capaz de ativar resposta microglial na SNC e outras regiões do encéfalo (Dutta et al., 2008; Wu et al., 2011), resultando em morte severa de células TH-positivas, simulando fases mais tardias da doença (Wu et al., 2011).

Deve-se ressaltar que estudos clínicos revelam aumento do BDNF no soro de pacientes com DP após protocolos de exercício físico. Este fator, por sua vez, é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica e desempenhar seu papel neuroprotetor no SNC (Ahlskog, 2011).

CAPÍTULO 6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desta forma, nosso estudo, de modo geral, revelou que os 3 protocolos de exercício intermitente em esteira foram capazes de promover benefícios ao sistema dopaminérgico no modelo da DP. Além disso, o sistema BDNF-TrkB parece atuar em ambos os mecanismos investigados, ou seja, de neuroproteção e neuroprevenção, pois ao bloquearmos este mecanismo os déficits encontrados no modelo da DP, que são revertidos pelo exercício, estão presentes.

Assim, concluímos que independentemente de quando for iniciado, o exercício físico é benéfico ao sistema nervoso na DP, sendo capaz de promover melhoras neuroquímicas na DP, e conseqüentemente melhoras comportamentais.

REFERÊNCIAS³

- Aarsland D, Hutchinson M, Larsen JP. Cognitive, psychiatric and motor response to galantamine in Parkinson's disease with dementia. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2003;18(10):937-41.
- Agid Y. Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet*. 1991;337(8753):1321-4. Review.
- Ahlskog JE. Does vigorous exercise have a neuroprotective effect in Parkinson disease? *Neurology*. 2011;77(3):288-94. Review.
- Alexander GE, Crutcher MD. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci*. 1990;13(7):266-71. Review.
- Al-Jarrah M, Jamous M, Al Zailaey K, Bweir SO. Endurance exercise training promotes angiogenesis in the brain of chronic/progressive mouse model of Parkinson's Disease. *NeuroRehabilitation*. 2010;26(4):369-73.
- Alonso-Frech F, Sanahuja JJ, Rodriguez AM. Exercise and physical therapy in early management of Parkinson disease. *Neurologist*. 2011;(6 Suppl 1):S47-53.
- Andringa G, van Oosten RV, Unger W, Hafmans TG, Veening J, Stoof JC, Cools AR. Systemic administration of the propargylamine CGP 3466B prevents behavioural and morphological deficits in rats with 6-hydroxydopamine-induced lesions in the substantia nigra. *Eur J Neurosci*. 2000;12(8):3033-43.
- Arida RM, Scorza FA, Gomes da Silva S, Cysneiros RM, Cavalheiro EA. Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. *Am J Phys Med Rehabil*. 2011;90(6):452-65.
- Baptista PP, de Senna PN, Paim MF, Saur L, Blank M, do Nascimento P, Ilha J, Vianna MR, Mestriner RG, Achaval M, Xavier LL. Physical exercise down-regulated locomotor side effects induced by haloperidol treatment in Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013;104:113-8.
- Barbosa ER, Lefèvre BH, Comerlatti LR, Scaff M, Canelas HM. Neuropsychological dysfunctions in Parkinson's disease: a study of 64 cases. *Arq Neuropsiquiatr*. 1987;45(2):109-18.
- Barthwal MK, Srivastava N, Dikshit M. Role of nitric oxide in a progressive neurodegeneration model of Parkinson's disease in the rat. *Redox Rep*. 2001;6(5):297-302.
- Batchelor, PE, Liberatore, GT, Wong, JYF, Porritt, MJ, Frerichs, F, Donnan, GA, Howells, DW, Activated macrophages and microglia induce dopaminergic sprouting in the injured striatum and express brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Neuroscience*. 1999;19(5):1708-16.
- Baydyuk M, Nguyen MT, Xu B. Chronic Deprivation of TrkB Signaling Leads to Selective Lateonset Nigrostriatal Dopaminergic Degeneration. *Exp Neurol*. 2011;228(1):118-25.

³ De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

- Beal MF. Experimental models of Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2:325-34.
- Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*. 2004;22(3):123-31.
- Blanchard V, Chritin M, Vyas S, Savasta M, Feuerstein C, Agid Y, Javoy-Agid F, Raisman-Vozari R. Long-term induction of tyrosine hydroxylase expression: compensatory response to partial degeneration of the dopaminergic nigrostriatal system in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*. 1995;64:1669-79.
- Blandini F, Armentero MT, Martignoni E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2008;14:S124-S9. Review.
- Blandini F, Levandis G, Bazzini E, Nappi G, Armentero MT. 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*. 2007;25(2):397-405.
- Blandini F, Nappi G, Tassorelli C, Martignoni E. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2000;62(1):63-88. Review.
- Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Benabid AL, Sadoul R, Verna JM. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2000;65(2):135-72. Review.
- Bové J, Prou D, Perier C, Przedborski S. Toxin-induced models of Parkinson's disease. *NeuroRx*. 2005;2(3):484-94.
- Bowenkamp KE, Lapchak PA, Hoffer BJ, Miller PJ, Bickford PC. Intracerebroventricular glial cell line-derived neurotrophic factor improves motor function and supports nigrostriatal dopamine neurons in bilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Exp Neurol*. 1997;145(1):104-17.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248.
- Broadhurst PL. The place of animal psychology in the development of psychosomatic research. *Fortschr Psychosom*. 1960;1:63-9.
- Broom L, Marinova-Mutafchieva L, Sadeghian M, Davis JB, Medhurst AD, Dexter DT. Neuroprotection by the selective iNOS inhibitor GW274150 in a model of Parkinson disease. *Free Radic Biol Med*. 2011;50(5):633-40.
- Cadet P, Zhu W, Mantione K, Rymer M, Dardik I, Reisman S, Hagberg S, Stefano GB. Cyclic exercise induces anti-inflammatory signal molecule increases in the plasma of Parkinson's patients. *Int J Mol Med*. 2003;12(4):485-92.
- Calabresi P, Centonze D, Pisani A, Sancesario G, Gubellini P, Marfia GA, Bernardi G. Striatal spiny neurons and cholinergic interneurons express differential ionotropic glutamatergic responses and vulnerability: implications for ischemia and Huntington's. *Ann Neurol*. 1998;43(5):586-97.
- Calne DB. *Neurodegenerative diseases*. Philadelphia: WB Saunders, 1994.

- Calne DG. Is idiopathic parkinsonism the consequence of an event or a process? *Neurology*. 1994a;44:5-10.
- Campos LA, Plehm R, Cipolla-Neto J, Bader M, Baltatu OC. Altered circadian rhythm reentrainment to light phase shifts in rats with low levels of brain angiotensinogen. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006;290(4):R1122-7.
- Castano A, Herrera AJ, Cano J, Machado A. Lipopolysaccharide intranigral injection induces inflammatory reaction and damage in nigrostriatal dopaminergic system. *J Neurochem*. 1998;70:1584-92.
- Cecanho, R. Anaya, M. Renzi, A. Menani, JV. De Luca, L. Sympathetic mediation of salivation induced by Intracerebroventricular pilocarpine in rats. *J Autonomic Nervous System*. 1999;76:9-14.
- Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol*. 2006;5:235-45.
- Chen H, Zhang SM, Schwarzschild MA, Herná n MA, Ascherio A. Physical activity and the risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2005;64:664-9.
- Chen XY, Li J, Qi WQ, Shen SH. Experimental change on dopaminergic neurons in striatum of Parkinson disease rats. *Histol Histopathol*. 2007;22(10):1085-90.
- Cicchetti F, Brownell AL, Williams K, Chen YI, Livni E, Isacson O. Neuroinflammation of the nigrostriatal pathway during progressive 6-OHDA dopamine degeneration in rats monitored by immunohistochemistry and PET imaging. *Eur J Neurosci*. 2002;15(6):991-8.
- Cohen AD, Tillerson JL, Smith AD, Schallert T, Zigmond MJ. Neuroprotective effects of prior limb use in 6-hydroxydopamine-treated rats: possible role of GDNF. *J Neurochem*. 2003;85(2):299-305.
- Conti A, Miscusi M, Cardali S, Germanò A, Suzuki H, Cuzzocrea S, Tomasello F. Nitric oxide in the injured spinal cord: synthases cross-talk, oxidative stress and inflammation. *Brain Res Rev*. 2007;54(1):205-18. Review.
- Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002;25(6):295-301.
- Cummings JL. Depression and Parkinson's disease: a review. *Am J Psychiatry*. 1992;149(4):443-54. Review.
- Cummings JL. The dementias of Parkinson's disease: prevalence, characteristics, neurobiology, and comparison with dementia of the Alzheimer type. *Eur Neurol*. 1988;28 Suppl1:15-23. Review.
- Dahlstrom A, Fuxe K. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia*. 1964;20:398-9.
- Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003;39:889-909.

Dehmer T, Lindenau J, Haid S, Dichgans J, Schulz JB. Deficiency of inducible nitric oxide synthase protects against MPTP toxicity in vivo. *J Neurochem*. 2000;74(5):2213-6.

Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol*. 2002;175(2):303-17. Review.

Devi SA, Kiran TR. Regional responses in antioxidant system to exercise training and dietary vitamin E in aging rat brain. *Neurobiol Aging*. 2004;25(4):501-8.

Dexter DT, CJ Carter, FR Wells, F Javoy-Agid, Y Agid, A Lees, P Jenner and CD Marsden. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J Neurochem*. 1989;52:381-9.

Doyon J, Bellec P, Amsel R, Penhune V, Monchi O, Carrier J, LeHéricy S, Benali H. Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. *Behav Brain Res*. 2009;199(1):61-75. Review.

Dutra MF, Jaeger M, Ilha J, Kalil-Gaspar PI, Marcuzzo S, Achaval M. Exercise improves motor deficits and alters striatal GFAP expression in a 6-OHDA-induced rat model of Parkinson's disease. *Neurol Sci*. 2012 Oct;33(5):1137-44.

Dutta G, Zhang P, Liu B. The lipopolysaccharide Parkinson's disease animal model: mechanistic studies and drug discovery. *Fundam Clin Pharmacol*. 2008;22:453-64.

Elbaz A. and Moisan F. Update in the epidemiology of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*. 2008;21:454-60.

Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res*. 2000;25(9-10):1439-51. Review.

Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*. 1991;114(Pt 5):2283-301.

Felix JV, Michelini LC. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarius. *Hypertension*. 2007;50(4):780-5.

Ferreira, Ana Francisca Barros. Neuroplasticidade induzida pelo exercício: efeitos sobre o hipocampo e regiões motoras do encéfalo de ratos. [tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2011.

Ferrer I, López-Gonzalez I, Carmona M, Dalfó E, Pujol A, Martínez A. Neurochemistry and the non-motor aspects of PD. *Neurobiol Dis*. 2012;46(3):508-26. Review.

Finkelstein DI, Stanic D, Parish CL, Tomas D, Dickson K, Horne MK. Axonal sprouting following lesions of the rat substantia nigra. *Neuroscience*. 2000;97:99-112.

Fisher BE, Wu AD, Salem GJ, Canção J, Lin CH, J Yip, Cen S, Gordon J, Jakowec M, G Petzinger The effect of exercise training in improving motor performance and corticomotor excitability in people with early Parkinson's disease. *Arch Phys Med Rehabil*. 2008;89(7):1221-9.

Floyd RA. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999;222:236-45

Fornaguera J, Schwarting RK. Early behavioral changes after nigro-striatal system damage can serve as predictors of striatal dopamine depletion. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1999; 23(8):1353-68.

Fujita K, Seike T, Yutsudo N, Ohno M, Yamada H, Yamaguchi H, Sakumi K, Yamakawa Y, Kido MA, Takaki A, Katafuchi T, Tanaka Y, Nakabeppu Y, Noda M. Hydrogen in drinking water reduces dopaminergic neuronal loss in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *PLoS One*. 2009;4(9):e7247.

Garcia PC, Real CC, Ferreira AF, Alouche SR, Britto LR, Pires RS. Different protocols of physical exercise produce different effects on synaptic and structural proteins in motor areas of the rat brain. *Brain Res*. 2012;1456:36–48.

Glezer I, Lapointe A, Rivest S. Innate immunity triggers oligodendrocyte progenitor reactivity and confines damages to brain injuries. *FASEB J*. 2006;20(6):750-2.

Golbe LI. Young-onset Parkinson's disease: a clinical review. *Neurology*. 1991;41(2):168-73. Review.

Goldman PS, Nauta WJ. An intricately patterned prefronto-caudate projection in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 1977;72(3):369-86.

Goodwin VA, Richards SH, Taylor RS, Taylor AH, Campbell JL. The effectiveness of exercise interventions for people with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 2008;23(5):631-40. Review.

Goodwin VA, Richards SH, Henley W, Ewings P, Taylor AH, Campbell JL. An exercise intervention to prevent falls in people with Parkinson's disease: a pragmatic randomised controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(11):1232-8.

Gordon MN, Schreier WA, Ou X, Holcomb LA, Morgan DG. Exaggerated astrocyte reactivity after nigrostriatal deafferentation in the aged rat. *J Comp Neurol*. 1997;388:106–19

Graybiel AM, Ragsdale CW. Biochemical anatomy of the striatum. In: Emson PC, editor. *Chemical neuroanatomy*. New York: Raven Press; 1983. p. 427-504.

Greenamyre JT, Hastings TG. *Biomedicine*. Parkinson's – divergent causes, convergent mechanisms. *Science*. 2004;304:1120-22.

Grigor'ian GA, Bazian AS. The experimental models of Parkinson's disease in animals *Usp Fiziol Nauk*. 2007;38(4):80-8.

Henderson JM, Watson S, Halliday GM, Heinemann T, Gerlach M. Relationships between various behavioural abnormalities and nigrostriatal dopamine depletion in the unilateral 6-OHDA-lesioned rat. *Behav Brain Res*. 2003;139(1-2):105-13.

Henning J, Strauss U, Wree A, Gimsa J, Rolfs A, Benecke R, Gimsa U. Differential astroglial activation in 6-hydroxydopamine models of Parkinson's disease. *Neurosci Res*. 2008 Dec;62(4):246-53.

Hensley K, ML Maitt, Z Yu, H Sang, WR Markesbery and RA Floyd. Electrochemical analysis of protein nitrotyrosine and dityrosine in the Alzheimer brain indicates region-specific accumulation. *J Neurosci*. 1998;18:8126-32.

Herman T, Giladi N, Gruendlinger L, Hausdorff JM. Six weeks of intensive treadmill training improves gait and quality of life in patients with Parkinson's disease: a pilot study. *Arch Phys Med Rehabil.* 2007;88(9):1154-8.

Hernandes, MS, Britto LR, Real CC, Martins DO, Lopes LR. Reactive oxygen species and the structural remodeling of the visual system after ocular enucleation. *Neuroscience.* 2010;170(4):1249-60.

Hirsch MA, Farley BG. Exercise and neuroplasticity in persons living with Parkinson's disease. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2009;45(2):215-29.

Holloszy JO, Kohrt WM. Exercise. In: Masoro EJ, editor. *Handbook of physiology. Aging.* New York: Oxford Press; 1995. p. 633–66.

Holmes MM, Galea LA, Mistlberger RE, Kempermann G. Adult hippocampal neurogenesis and voluntary running activity: circadian and dose dependent effects. *J Neurosci Res.* 2004;76(2):216-22.

Howells DW, Porritt MJ, Wong JY, Batchelor PE, Kalnins R, Hughes AJ, Donnan GA. Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. *Exp Neurol.* 2000;166(1):127–35.

Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 1993;50(2):140-8.

Hunot S, Boissière F, Faucheux B, Brugg B, Mouatt-Prigent A, Agid Y, Hirsch EC. Nitric oxide synthase and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Neuroscience.* 1996;72(2):355-63.

Iravani MM, Kashefi K, Mander P, Rose S, Jenner P. Involvement of inducible nitric oxide synthase in inflammation-induced dopaminergic neurodegeneration. *Neuroscience.* 2002;110(1):49-58.

Jellinger K, Linert L, Kienzl E, Herlinger E, Youdim MB. Chemical evidence for 6-hydroxydopamine to be an endogenous toxic factor in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl.* 1995;46:297-314.

Jin F, Wu Q, Lu YF, Gong QH, Shi JS. Neuroprotective effect of resveratrol on 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *Eur J Pharmacol.* 2008;600(1-3):78-82.

Kafitz KW, Rose CR, Thoenen H, Konnerth A. Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors. *Nature.* 1999;401(6756):918-21.

Kamata H, Hirata H. Redox regulation of cellular signalling. *Cell Signal.* 1999;11(1):1-14.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. *Principles of neural science.* 5th ed. New York: McGraw-Hill; 2012.

Kavya R, Saluja R, Singh S, Dikshit M. Nitric oxide synthase regulation and diversity: implications in Parkinson's disease. *Nitric Oxide.* 2006;15(4):280-94. Review.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J Neurosci.* 1998;18(9):3206-12.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*. 1997;386(6624):493-5.

Kim WG, Mohny RP, Wilson B, Jeohn GH, Liu B, Hong JS. Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: role of microglia. *J Neurosci*. 2000;20(16):6309-16.

Kim BS, Kim MEU, Leem YH. Hippocampal neuronal death induced by kainic acid and restraint stress is suppressed by exercise. *Neuroscience*. 2011;194:291-301.

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*. 1998;152(2):259-77.

Kita H. Glutamatergic and GABAergic postsynaptic responses of striatal spiny neurons to intrastriatal and cortical stimulation recorded in slice preparations. *Neuroscience*. 1996;70(4):925-40.

Knott AB, Bossy-Wetzel E. Nitric oxide in health and disease of the nervous system. *Antioxid Redox Signal*. 2009;11(3):541-54.

Knüsel B, Hefti F. K-252 compounds: modulators of neurotrophin signal transduction. *J Neurochem*. 1992;59(6):1987-96. Review.

Kondo J, Kitanura Y, Inden M, Taniguchi T. Hemiparkinsonian rat models: different sensitivity of dopaminergic neurotoxins. *Int Congr Ser*. 2004;1260:281-5.

Koppula S, Kumar H, Kim IS, Choi DK. Reactive oxygen species and inhibitors of inflammatory enzymes, NADPH oxidase, and iNOS in experimental models of Parkinson's disease. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:823902.

Kronenberg G, Bick-Sander A, Bunk E, Wolf C, Ehninger D, Kempermann G. Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. *Neurobiol Aging*. 2006;27(10):1505-1513.

Kurkowska-Jastrzebska I, Wrońska A, Kohutnicka M, Członkowski A, Członkowska A. MHC class II positive microglia and lymphocytic infiltration are present in the substantia nigra and striatum in mouse model of Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp(Wars)*. 1999b;59(1):1-8.

Kurkowska-Jastrzebska I, Wrońska A, Kohutnicka M, Członkowski A, Członkowska A. The inflammatory reaction following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3, 6-tetrahydropyridine intoxication in mouse. *Exp Neurol*. 1999a Mar;156(1):50-61.

Kuroda K, Tatara K, Takatorige T, Shinsho F. Effect of physical exercise on mortality in patients with Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand*. 1992;86(1):55-9.

Kuroda K, Tatara K, Shinsho H, Okamoto E, Cho R, Nishigaki C, Takatorige T, Nakanishi N, Aoki T. A study of attitudes toward illness and its effect on mortality in patients with Parkinson's disease. *Nippon Koshu Eisei Zasshi*. 1990;37(5):333-9.

Labandeira-Garcia JL, Rozas G, Lopez-Martin E, Liste I, Guerra MJ. 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*. 1996;108(1):69-84.

Lacerda AC, Gripp F, Rodrigues LO, Silami-Garcia E, Coimbra CC, Prado LS. Acute heat exposure increases high-intensity performance during sprint cycle exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2007;99(1):87-93.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-5.

Lambert TJ, Fernandez SM, Frick KM. Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. *Neurobiol Learn Mem*. 2005;83(3):206-16.

Langston JW, Forno LS, Tetud J, Reeves AG, Kaplan JA, Karluk D. Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure. *Ann Neurol*. 1999;46:598-605.

Lau YS, Patki G, Das-Panja K, Le WD, Ahmad SO. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *Eur J Neurosci*. 2011;33(7):1264-74

Lee CS, Sauer H, Björklund A. Dopaminergic neuronal degeneration and motor impairments following axon terminal lesion by intrastriatal 6-Hydroxydopamine in the rat. *Neuroscience*. 1996;72(3):641-53.

Lee JK, Tran T, Tansey MG. Neuroinflammation in Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2009;4:419-29

Liang Y, Li S, Wen C, Zhang Y, Guo Q, Wang H, Su B. Intrastriatal injection of colchicine induces striatonigral degeneration in mice. *J Neurochem*. 2008;106(4):1815-27.

Liedtke W, Edelmann W, Chiu FC, Kucherlapati R, Raine CS. Experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking glial fibrillary acidic protein is characterized by a more severe clinical course and an infiltrative central nervous system lesion. *Am J Pathol*. 1998;152(1):251-9.

Lima, Leandro Bueno. Organização das projeções da área tegmental ventral para o estriado. Um estudo no rato com a técnica de rastreamento anterógrado da leucoaglutina do *Phaseolus vulgaris*. [dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2010.

Lindholm P, Saarma M. Novel CDNF/MANF family of neurotrophic factors. *Developmental neurobiology*. 2010;70(5):360-71.

Logroscino G, Sesso HD, Paffenbarger RS Jr, Lee IM. Physical activity and risk of Parkinson's disease: a prospective cohort study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006; 77(12):1318-22.

Lom B, Cohen-Cory S. Brain-derived neurotrophic factor differentially regulates retinal ganglion cell dendritic and axonal arborization in vivo. *J Neurosci*. 1999;19(22):9928-38.

Maragakis NJ, Rothstein JD. Mechanisms of disease: astrocytes in neurodegenerative disease. *Nat Clin Pract Neurol*. 2006;2(12):679-89. Review.

Marinova-Mutafchieva L, Sadeghian M, Broom L, Davis JB, Medhurst AD, Dexter DT. Relationship between microglial activation and dopaminergic neuronal loss in the substantia nigra: a time course study in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2009;110(3):966-75.

Marosi K, Bori Z, Hart N, Sárga L, Koltai E, Radák Z, Nyakas C. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*. 2012;226:21-8.

Mattson MP, Gleichmann M, Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. *Neuron*. 2008;60(5):748-66. Review.

Mattson MP. Calcium and neurodegeneration. *Aging Cell*. 2007;6(3):337-50. Review.

Mattson MP. Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let me run. *Brain Res*. 2000;886:47-53.

McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2004;10 Suppl 1:S3-7. Review.

McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, Cummings J, Duda JE, Lippa C, Perry EK, Aarsland D. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology*. 2005;65:1863-72.

Michailowsky C, Niura FK, do Valle AC, Sonohara S, Meneguim TD, Tsanaclis AM. Experimental tumors of the central nervous system: standardisation of a model in rats using the 9L glioma cells. *Arq Neuropsiquiatr*. 2003;61(2A):234-40.

Melo LM, Barbosa ER, Caramelli P. Declínio cognitivo e demência associados à doença de Parkinson: características clínicas e tratamento. *Rev Psiquiatr*. 2007;34(4):176-83. Revisão.

Mello, PB; Benti, F; Martín C; Izquierdo I. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 2008;80(2):301-9.

Mink JW. Basal Ganglia. In: Zigmund MJ, Bloon FE, Lands SC, Roberts JL, Squire LR. *Fundamental neuroscience*. San Diego: Academic Press; 1999.

Mocchetti I, Bachis A, Nosheny RL, Tanda G. Brain-derived neurotrophic factor expression in the substantia nigra does not change after lesions of dopaminergic neurons. *Neurotox Res*. 2007;12(2):135-43.

Molteni R, Zheng JQ, Ying Z, Gómez-Pinilla F, Twiss JL. Voluntary exercise increases axonal regeneration from sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004a;101(22):8473-8.

Molteni R, Wu A, Vaynman S, Ying Z, Barnard RJ, Gomez-Pinilla F. Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*. 2004b;123(2):429-40.

Neumann J, Gunzer M, Gutzeit HO, Ullrich O, Reymann KG, Dinkel K. Microglia provide neuroprotection after ischemia. *FASEB J*. 2006;20(6):714-6.

Nguyen N, Lee SB, Lee YS, Lee KH, Ahn JY. Neuroprotection by NGF and BDNF Against Neurotoxin-Exerted Apoptotic Death in Neural Stem Cells Are Mediated Through Trk Receptors, Activating PI3-Kinase and MAPK Pathways. *Neurochem Res.* 2009;34(5):942-51.

Noback CR, Strominger NL, Demarest RJ. *Neuroanatomia: estrutura e função do sistema nervoso humano*. 5. ed. São Paulo: Premier; 1999.

O'Dell SJ, Gross NB, Fricks AN, Casiano BD, Nguyen TB, Marshall JF. Running wheel exercise enhances recovery from nigrostriatal dopamine injury without inducing neuroprotection. *Neuroscience.* 2007;144(3):1141-51.

Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Benitez-Temino B, Blesa FJ, Guridi J, Marin C, Rodriguez M. Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2008;23 Suppl 3:S548-59. Review.

Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Rodríguez M, Lanciego JL, Artieda J, Gonzalo N, Olanow CW. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 2000;23(10 Suppl):S8-19. Review.

Olanow C, Tatton W. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci.* 1999;22:123-44.

Ouchi Y, Yoshikawa E, Sekine Y, Futatsubashi M, Kanno T, Ogusu T, Torizuka T. Microglial activation and dopamine terminal loss in early Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2005;57(2):168-75.

Palmer SS, Mortimer JA, Webster DD, Bistevins R, Dickinson GL. Exercise therapy for Parkinson's disease. *Arch Phys Med Rehabil.* 1986;67(10):741-5.

Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2002; Spring;14(2):223-36; discussion 222.

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

Pérez V, Sosti V, Rubio A, Barbanoj M, Rodríguez-Alvarez J, Kulisevsky J. Modulation of the motor response to dopaminergic drugs in a parkinsonian model of combined dopaminergic and noradrenergic degeneration. *Eur J Pharmacol.* 2007;576(1-3):83-90.

Pestana RRF. *Geração de espécies reativas de oxigênio e morte neuronal no modelo de epilepsia do lobo temporal induzido por pilocarpina em ratos [dissertação]*. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Psicologia; 2010.

Petzinger GM, Walsh JP, Akopian G, Hogg E, Abernathy A, Arevalo P, Turnquist P, Vucković M, Fisher BE, Togasaki DM, Jakowec MW. Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. *J Neurosci.* 2007;27(20):5291-300.

Phani S, Loike JD, Przedborski S. Neurodegeneration and inflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2012;18 Suppl 1:S207-9.

Poon HF, V Calabrese, G Scapagnini and DA Butterfield. Free radicals: key to brain aging and heme oxygenase as a cellular response to oxidative stress. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:478-93.

Porter CC, Totaro JA, Burcin A. The relationship between radioactivity and norepinephrine concentrations in the brains and hearts of mice following administration of labeled methyldopa or 6-hydroxydopamine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1965;150:17–22.

Porter CC, Totaro JA, Stone CA. Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 1963;140:308–16.

Purisai MG, McCormack AL, Cumine S, Li J, Isla MZ, Di Monte DA. Microglial activation as a priming event leading to paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. *Neurobiol Dis.* 2007;25:392-400.

Phani S, Loike JD, Przedborski S. Neuroinflammation is a key player in Parkinson's disease and a prime target for therapy. *J Neural Transm.* 2010;117(8):971-9.

Radák Z, Silye G, Bartha C, Jakus J, Stefanovits-Bányai E, Atalay M, Marton O, Koltai E. The effects of cocoa supplementation, caloric restriction, and regular exercise, on oxidative stress markers of brain and memory in the rat model. *Food Chem Toxicol.* 2013;S0278-6915(13)00095-1.

Radák Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(2):153-9. Review.

Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez F, Goto S. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflug Arch.* 2002;445:273–8.

Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsok J, Sasvári M, Nyakas C, Goto S. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int.* 2001;38(1):17-23.

Radák Z, Taylor AW, Ohno H, Goto S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exerc Immunol Rev.* 2001;7:90–107.

Real CC, Ferreira AF, Chaves-Kirsten GP, Torrão AS, Pires RS, Britto LR. BDNF receptor blockade hinders the beneficial effects of exercise in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2013;237C:118-29.

Riddle DR, Katz LC, Lo DC. Focal delivery of neurotrophins into the central nervous system using fluorescent latex microspheres. *Biotechniques.* 1997;23(5):928-34, 936-7.

Rio-Hortega P del. El tercer elemento de los centros nerviosos. Poder fagocitario y movilidad de la microglia. *Bol Soc Esp Biol.* 1920;9:154.

Rizelio V, Szawka RE, Xavier LL, Achaval M, Rigon P, Saur L, Matheussi F, Delattre AM, Anselmo-Franci JA, Meneses M, Ferraz AC. Lesion of the subthalamic nucleus reverses motor deficits but not death of nigrostriatal dopaminergic neurons in a 6-hydroxydopamine-lesion model of Parkinson's disease. *Braz J Med Biol Res.* 2010;43(1):85-95.

Rodriguez-Pallares J, Parga JA, Muñoz A, Rey P, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity: the role of NADPH oxidase and microglial activation in 6-hydroxydopamine-induced degeneration of dopaminergic neurons. *J Neurochem.* 2007;103(1):145-56.

Rueda, André Veloso Lima. O enriquecimento ambiental inibe a sensibilização comportamental ao etanol em camundongos: efeitos sobre o Egr-1 e a sinalização do BDNF. [dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2011.

Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Buijs MR, Escobar C. Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats. *Neuroscience.* 2008; 154(3):922-31.

Sasco AJ, Paffenbarger Jr RS, Gendre I, Wing AL. The role of physical exercise in the occurrence of Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 1992;49(4):360-5.

Scandalios JG. Oxidative stress responses-what have genome-scale studies taught us?. *Genoma Biol.* 2002;3(7):REVIEWS1019.

Schmued LC, Hopkins KJ. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. *Brain Res.* 2000;874:123-30.

Schober A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell Tissue Res.* 2004;318:215-4.

Schwartz RK, Huston JP. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol.* 1996;50(2-3):275-331. Review.

Senoh S, Witkop B Non-enzymatic conversions of dopamine to norepinephrine and rihydroxyphenethylamines. *J Am Chem Soc.* 1959a;81:6222-31.

Senoh S, Creveling CR, Udenfriend S, Witkop B Chemical, enzymatic, and metabolic studies on the mechanism of oxidation of dopamine. *J Am Chem Soc.* 1959b;6236-40.

Siegel GJ, Chauhan NB. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res Brain Res Rev.* 2000 Sep;33(2-3):199-227. Review.

Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1985;311:617-31.

Singh S, Ahmad R, Mathur D, Sagar RK, Krishana B. Neuroprotective effect of BDNF in young and aged 6-OHDA treated rat model of Parkinson disease. *Indian J Exp Biol.* 2006;44(9):699-704.

Smeyne M, Jiao Y, Shepherd KR, Smeyne RJ. Glia cell number modulates sensitivity to MPTP in mice. *Glia.* 2005;52:144-52.

Smith AD, Zigmond MJ. Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of parkinsonism. *Exp Neurol.* 2003;184(1):31-9. Review.

Somani SM, Husain K, Diaz-Phillips L, Lanzotti DJ, Kareti KR, Trammell GL. Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat. *Alcohol* 1996;13:603–10.

Somani SM, Ravi R, Rybak LP. Effect of exercise training on antioxidant system in brain regions of rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995;50(4):635-9.

Srinivasan J, Schmidt WJ. Behavioral and neurochemical effects of noradrenergic depletions with N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine in 6-hydroxydopamine-induced rat model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res.* 2004;151(1-2):191-9.

Sriram K, Miller DB, O'Callaghan JP. Minocycline attenuates microglial activation but fails to mitigate striatal dopaminergic neurotoxicity: role of tumor necrosis factor-alpha. *J Neurochem.* 2006;96(3):706-18.

Steiner B, Winter C, Hosman K, Siebert E, Kempermann G, Petrus DS, Kupsch A. 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. *Exp Neurol.* 2006;199(2):291–300.

Su W, Chen HB, Li SH, Wu DY. Correlational study of the serum levels of the glial fibrillary acidic protein and neurofilament proteins in Parkinson's disease patients. *Clin Neurol Neurosurg.* 2012;114(4):372-5.

Sugama S, Yang L, Cho BP, DeGiorgio LA, Lorenzl S, Albers DS, Beal MF, Volpe BT, Joh TH. Age-related microglial activation in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced dopaminergic neurodegeneration in C57BL/6 mice. *Brain Res.* 2003;964(2):288-94.

Sumic A, Michael YL, Carlson NE, Howieson DB, Kaye JA. Physical Activity and the Risk of Dementia in Oldest Old. *Journal of Aging & Health.* 2007;19(2):242-59.

Sung YH, Kim SC, Hong HP, Park CY, Shin MS, Kim CJ, Seo JH, Kim DY, Kim DJ, Cho HJ. Treadmill exercise ameliorates dopaminergic neuronal loss through suppressing microglial activation in Parkinson's disease mice. *Life Sci.* 2012;17;91(25-26):1309-16.

Sutoo D, Akiyama K. Regulation of brain function by exercise. *Neurobiol Dis.* 2003;13(1):1-14. Review.

Tajiri N, Yasuhara T, Shingo T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. *Brain Research.* 2010;200-207.

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.* 2006;410(2):85-9.

Thornton E, Vink R. Treatment with a substance P receptor antagonist is neuroprotective in the 6-hydroxydopamine model of early Parkinson's disease. *PLoS One.* 2012;7(4):e34138.

Tillerson JL, Caudle WM, Reverón ME, Miller GW. Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2003;119(3):899-911.

Tillerson JL, Cohen AD, Caudle WM, Zigmond MJ, Schallert T, Miller GW. Forced nonuse in unilateral parkinsonian rats exacerbates injury. *J Neurosci*. 2002;22(15):6790-9.

Toole T, Hirsch MA, Forkink A, Lehman DA, Maitland CG. The effects of a balance and strength training program on equilibrium in Parkinsonism: a preliminary study. *NeuroRehabilitation*. 2000;14(3):165-74.

Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. 1979. York: Raven Press, 1983:427-504.

Tretiakoff C. Contribution à l'étude de l'anatomie pathologique du locus niger de Soemmering avec quelques déductions relatives à la pathogénie de troubles du tonus musculaire et la maladie de Parkinson. Thèse de Médecine, Paris (1919).

Turgeon JL, Waring DW. Differential expression and regulation of progesterone receptor isoforms in rat and mouse pituitary cells and LbT2 gonadotropes. *J Endocr*. 2006;190:837-46.

Ungerstedt U. 6-hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol*. 1968;5:107-10.

Valko MD, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(1):44-84.

van Praag H. Neurogenesis and exercise: past and future directions. *Neuromolecular Med*. 2008;10(2):128-40.

van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci*. 1999;2(3):266-70.

Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci*. 2004;20(10):2580-90.

Venkateshappa C, Harish G, Mythri RB, Mahadevan A, Bharath MM, Shankar SK. Increased oxidative damage and decreased antioxidant function in aging human substantia nigra compared to striatum: implications for Parkinson's disease. *Neurochem Res*. 2012;37(2):358-69.

Vilela MG. Efeito do estresse cirúrgico e do estresse luminoso nos níveis séricos de leptina em ratas asultas wistar. [tese]. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais; 2008.

Walker JM, Fowler SW, Miller DK, Sun AY, Weisman GA, Wood WG, Sun GY, Simonyi A, Schachtman TR. Spatial learning and memory impairment and increased locomotion in a transgenic amyloid precursor protein mouse model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*. 2011;222(1):169-75.

Waynforth HB, Flecknell PA. Experimental and surgical technique in the rat. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1992. 382 p.

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*. 2009 Oct;219(2):543-52.

Wojtera M, Sikorska B, Sobow T, Liberski PP. Microglial cells in neurodegenerative disorders. *Folia Neuropathol*. 2005;43(4):311-21.

Wu SY, Wang TF, Yu L, Jen CJ, Chuang JI, Wu FS, Wu CW, Kuo YM. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. *Brain Behav Immun*. 2011;25(1):135-46.

Yoon MC, Shin MS, Kim TS, Kim BK, Ko IG, Sung YH, Kim SE, Lee HH, Kim YP, Kim CJ. Treadmill exercise suppresses nigrostriatal dopaminergic neuronal loss in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. *Neurosci Lett*. 2007;423(1):12-7.

Zarow C, Lyness SA, Mortimer JA, Chui HC. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. *Arch Neurol*. 2003;60(3):337-41.

Zigmond MJ, Cameron JL, Leak RK, Mirnics K, Russell VA, Smeyne RJ, Smith AD. Triggering endogenous neuroprotective processes through exercise in models of dopamine deficiency. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009;15(S3):S42–S45.

Zigmond MJ, Abercrombie ED, Berger TW, Grace AA, Stricker EM. Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends Neurosci*. 1990;13(7):290-6.