

TAIS HARUMI DE CASTRO SASAHARA

**Efeitos da neurotoxina MPTP na estrutura do miocárdio de camundongos
C57/BL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi

São Paulo

2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2304 FMVZ	Sasahara, Tais Harumi de Castro Efeitos da neurotoxina MPTP na estrutura do miocárdio de camundongos C57/BL / Tais Harumi de Castro Sasahara. -- 2010. 80 f. : il. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2010. Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres. Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres. Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi. 1. Doença de Parkinson. 2. Desnervação cardíaca. 3. Cardiomiopatia. 4. MPTP. 5. Estereologia. I. Título.
----------------	---

RESUMO

SASAHARA, T. H. C. **Efeitos da neurotoxina MPTP na estrutura do miocárdio de camundongos C57/BL.** [Effects of the neurotoxin MPTP on the myocardial structure in C57/BL mice]. 2010. 80 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa caracterizada pela progressiva depleção dos neurônios dopaminérgicos da substância negra (*pars compacta*). A DP não ocasiona apenas uma desordem motora, mas também pode provocar uma disautonomia cardiovascular. A DP com sintomas similares aos que ocorrem em humanos pode ser experimentalmente induzida em ratos e camundongos com a administração das neurotoxinas 1-metil-1-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropirimidina (MPTP), 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) e rotenona. Mais, na década de 90, camundongos transgênicos que expressam altos níveis de alfa-sinucleína mutante humana têm sido produzidos e utilizados para investigar a possível relação entre a agregação da proteína alfa-sinucleína e a DP, uma vez que em humanos, a alta expressão dessa proteína está relacionada ao desenvolvimento do parkinsonismo associado à desnervação cardíaca simpática. No entanto, a desnervação cardíaca e suas conseqüências no miocárdio na DP não estão claramente caracterizadas, pois na literatura os métodos quantitativos empregados para tal finalidade têm sua confiabilidade e acurácia questionáveis. Desta forma, avaliou-se, no modelo de indução neurotóxico (MPTP), o miocárdio de camundongos C57/BL aplicando-se métodos morfoquantitativos tridimensionais (estereológicos). Neste trabalho, observamos que o volume da parede ventricular, o volume e a densidade de volume do interstício cardíaco foram, respectivamente, 0,8%, 5,3% e 2,4% maior no grupo MPTP. O volume do lúmen ventricular, o volume ventricular, o volume das fibras musculares cardíacas e a sua densidade de volume foram, respectivamente, 11,7%, 0,9%, 2,3% e 1,7% maior no grupo controle. O número total de núcleos de cardiomiócitos foi 14,8% menor no grupo MPTP bem como o número total de cardiomiócitos que foi 19% menor também neste grupo. Houve diferença estatística significativa entre os grupos para o parâmetro número de

cardiomiócitos. Não houve, porém, diferença estatística significativa para os outros parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Doença de Parkinson. Desnervação cardíaca. Cardiomiopatia.
MPTP. Estereologia.

ABSTRACT

SASAHARA, T. H. C. **Effects of the neurotoxin MPTP on the myocardial structure in C57/BL mice.** [Efeitos da neurotoxina MPTP na estrutura do miocárdio de camundongos C57/BL]. 2010. 80 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder mostly characterised by a profound reduction of dopamine in the striatum due to a dramatic loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra (*pars compacta*). The disease is not only characterised by a motor disorder but also present cardiovascular dysautonomia. The disease has been chemically induced in rats and mice using neurotoxins such as 1-methyl-1-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidina (MPTP), 6-OHDA and rotenone. In the nineties, transgenic α -synuclein mice have recently been used as a model of PD and alpha-synuclein aggregation, because the overexpression of this protein is related to the development of parkinsonism associated to the sympathetic cardiac denervation. Although, the cardiac denervation in PD and its consequences in myocardium is not well defined because the literature reports no reliable quantitative methods. Therefore, the myocardium of the C57/BL mice was investigated in the neurotoxin animal model (MPTP) applying tridimensional morphoquantitative methods (stereological). In this study, we observed an increase of 0,8%, 5,3% and 2,4% in ventricular wall volume, in cardiac interstitial volume and in cardiac interstitial volume density, respectively, in the MPTP group. The lumen ventricular volume, the ventricular volume, the cardiac muscle fibre and their volume density were, respectively, 11,7%, 0,9% , 2,3% and 1,7% larger in control group. The total number of cardiomyocyte nuclei was 14,8% lower in MPTP group as well as the total number of cardiomyocyte that was 19% lower for this group too. Significant difference was observed between the groups to the total number of cardiomyocyte. No significant difference, however, was detected for the others estimated parameters.

Key-words: Parkinson's disease. Cardiac denervation. Cardiomyopathy. MPTP.

Stereology

1 INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é caracterizada pela degeneração progressiva de neurônios dopaminérgicos na substância negra e um dos sinais clássicos da doença é a presença dos corpúsculos de Lewy, uma inclusão fibrilar citoplasmática cujo componente principal é a proteína alfa-sinucleína (SPILLANTINI et al., 1998; SHIMOJI et al., 2005; TOFARIS et al., 2006).

Esta doença não é apenas caracterizada por uma desordem motora, mas uma desordem multisistêmica com o envolvimento de vários sistemas extranigrais incluindo a degeneração dos sistemas colinérgicos, serotoninérgicos e catecolaminérgicos. Desordens gastrointestinais, urogenitais, cardiovasculares e termoregulatórias são, dessa maneira, freqüentemente observadas em pacientes com a doença de Parkinson (PROBST et al., 2008; SCHAPIRA, 2008).

Na DP, o processo patológico (corpúsculo de Lewy e neuritos) envolve precocemente o gânglio simpático cardíaco no curso da doença e continua seguindo uma seqüência topográfica: tronco encefálico, *locus ceruleus*, núcleo motor dorsal do vago e o núcleo colinérgico basalis de Meynert seguindo a hipótese proposta por Braak (HAENSCH et al., 2009). De acordo com Braak et al. (2006) a patologia de corpúsculo de inclusão associada com a DP segue uma seqüência de seis estágios em que os sistemas olfatório, autônomo, límbico e somatomotor tornam-se progressivamente envolvidos e afetados topograficamente.

Numerosos estudos têm demonstrado disfunções na inervação cardíaca simpática em pacientes acometidos pela DP e no modelo químico da doença, em que há a aplicação da neurotoxina MPTP em camundongos da linhagem C57/BL (GOLDSTEIN et al., 2000; LI et al., 2002; REN et al., 2004; METZ et al., 2005; HAENSCH et al., 2009). Esta disautonomia cardiovascular também é observada na DP que acomete uma mesma família em que o gene que codifica a proteína alfa-sinucleína sofreu mutação. Os resultados indicaram que tanto o parkinsonismo quanto a desnervação cardíaca simpática resultaram da expressão excessiva da proteína alfa-sinucleína (SINGLETON et al., 2004).

Todos os pacientes apresentaram um decréscimo na inervação cardíaca, especialmente na parede lateral do ventrículo esquerdo e esta desnervação cardíaca precede a perda neuronal nos gânglios simpáticos. Estes gânglios são conhecidos como locais de predileção para ocorrência dos corpúsculos de Lewy (ORIMO et al., 2005).

Embora a desnervação cardíaca tenha sido reportada em pacientes acometidos pela DP, há relativamente poucos estudos utilizando métodos quantitativos acurados e eficientes. Neste sentido, há poucos experimentos com delineamento estereológico empregados no coração.

O emprego da estereologia tem se limitado, mais particularmente, aos neurônios dopaminérgicos no estriado e na substância negra durante o envelhecimento (CABELLO et al., 2002) ou durante o advento da DP (MA et al., 1997). Não obstante, há estudos baseados em métodos quantitativos morfométricos assumindo modelos geométricos e utilizando fatores de correção como, por exemplo, o de Abercrombie (1946).

Desta forma, os resultados reportando uma desnervação cardíaca produzida pela DP foram obtidos por técnicas de imagiologia como a cintilografia e a tomografia cardíaca ou por meio de estudos eletrofisiológicos, dosagens bioquímicas e imunorreatividade em humanos e no modelo animal (TAKATSU et al., 2000; REN et al., 2004; AMINO et al., 2005; GOLDSTEIN et al., 2005, HAENSCH et al., 2009, ZIEMSEN; REICHMANN, 2010).

Assim, este trabalho é inovador uma vez que empregou métodos baseados em delineamento estereológico tridimensional, no qual se usa a probabilidade e a geometria estocástica para estimar o número total de cardiomiócitos, o número total de núcleos de cardiomiócitos, o volume ventricular e o volume de fibras cardíacas e do interstício em camundongos C57/BL após a aplicação da neurotoxina MPTP. É de se esperar que este tipo de estudo possa nos dar mais informações a respeito do processo patogênico presente no coração de camundongos e os resultados nos forneçam suporte para o diagnóstico e tratamento da DP para melhorar a qualidade de vida dos pacientes portadores desta enfermidade.

8 CONCLUSÕES

De acordo com os métodos empregados (indução com MPTP e delinamento estereológico estocástico) e resultados obtidos pode-se concluir que:

- ❖ O MPTP induziu uma modificação importante da arquitetura do miocárdio quanto a:
 - Redução no número de cardiomiócitos.

- ❖ Outros parâmetros do VE que não foram no entanto alterados com a aplicação do MPTP:
 - Parede ventricular.
 - Lúmen ventricular.
 - Fibra muscular cardíaca.
 - Interstício cardíaco.
 - Número total de núcleos de cardiomiócitos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtomic sections. **Anatomical Record**. v. 94, p. 239, 1946.

ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; APFEL, M.I.R. Estereologia do Miocárdio de Ratos Jovens e Idosos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, n. 2, p. 105-109, 1998.

ALAM, M.; SCHMIDT, W.J. Rotenone destroys dopaminergic neurons and induces parkinsonian symptoms in rats. **Behavioural Brain Research**. v. 136, p. 317-324, 2002.

AMINO, T.; SATOSHI, O.; YOSHINORI, I.; ATSUSHI, T.; TOSHIKI, U.; HIDEHIRO, M. Profound cardiac sympathetic denervation occurs in Parkinson disease. **Brain Pathology**. v. 15, p. 29-34, 2005.

AMINO, T.; UCHIHARA, T.; TSUNEKAWA, H.; TAKAHATA, K.; SHIMAZU, S.; MIZUSAWA, H.; ORIMO, S. Myocardial nerve fibers are preserved in MPTP-treated mice, despite cardiac sympathetic dysfunction. **Neuroscience Research**, v. 60, p. 314-318, 2008.

BAUDINO TA, CARVER W, GILES W, BORG TK. Cardiac fibroblasts: Friend or foe? **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, p. H1015–H1026, 2006.

BEZARD, E.; DOVERO, S.; BIOULAC, B.; GROSS, C. Effects of different schedules of MPTP administration on dopaminergic neurodegeneration in mice. **Experimental Neurology**, v. 148, p. 288–292, 1997.

BEAL, M. F. Experimental models of Parkinson's disease. **Nature Reviews-Neuroscience**, v. 2, p. 325-332, 2001.

BETARBET, R.; SHERER, T.B.; MACKENZIE, G.; GARCIA-OSUNA, M.; PANOV, A.V.; GREENAMYRE, J.T. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. **Nature Neuroscience**. v. 3, n. 12, p. 1301-6, 2000.

BRAAK, H.; BOHL, J .R.; MÜLLER, C. M.; RÜB, U.; DE VOS, R .A .I.; DEL TREDICI, K. Stanley Fahn Lecture 2005: The Staging Procedure for the Inclusion Body Pathology Associated with Sporadic Parkinson's Disease Reconsidered. **Movement Disorders**, v. 21, n. 12, p. 2042–2051, 2006.

BRÜEL, A.; CHRISTOFFERSEN, T. E. H.; NYENGAARD, J. R. Growth hormone increases the proliferation of existing cardiac myocytes and the total number of cardiac myocytes in the rat heart. **Cardiovascular Research**, v. 76, p. 400-408, 2007.

BRÜEL, A.; NYENGAARD, J. R. Design-based stereological estimation of the total number of cardiac myocytes in histological sections. **Basic Research in Cardiology**. v. 100, p. 311-319, 2005.

BRÜEL, A.; OXLUND, H.; NYENGAARD, J. R. Growth hormone increases the total number of cardiac myocyte nuclei in young rats but not in old rats. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 123, p. 1353–1362, 2002a.

BRÜEL, A.; OXLUND, H.; NYENGAARD J. R. Growth hormone increases the total number of myocyte nuclei in the left ventricle of adult rats. **Growth Hormone and IGF Research**, v. 12, n. 2, p. 106-15, 2002b.

CABELLO, C. R.; THUNE, J. J.; PAKKENBERG, H.; PAKKENBERG, B. Ageing of substantia nigra in humans: cell loss may be compensated by hypertrophy. **Neuropathology and Applied Neurobiology**. v. 28, p. 283-291, 2002.

CAVALCANTI, R. A.; DA PUREZA, D. Y.; DE MELO, M. P.; DE SOUZA, R R.; BERGAMASCHI, C. T.; DO AMARAL, S. L.; TANG, H.; LOESCH, A.; RIBEIRO A. A. Low-intensity treadmill exercise-related changes in the rat stellate ganglion neurons. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 6, p. 1334-42, 2009.

CICCHETTI, F.; DROUIN-OUELLET, J.; GROSS, R. E. Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 30 n. 9, 2009.

DE MEYER, G. R. Y.; MARTINET, W. Autophagy in the cardiovascular system. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1793, n. 9, p. 1485–1495, 2009.

DIEZ, J.; FORTUNO, M. A.; RAVASSA, S. Apoptosis in hypertensive heart disease. **Current Opinion in Cardiology**, v. 13, p. 317–325, 1998.

EMBORG, M. E. Evaluation of animal models of Parkinson's disease for neuroprotective strategies. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 139, p. 121-143, 2004.

ESPIRA, L.; CZUBRYT, M. P. Emerging concepts in cardiac matrix biology. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 87, p. 996-1008, 2009.

FRANKLIN, K.; PAXINOS, G. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. San Diego , Academic Press: 1997.

FRANTZ, S.; BAUERSACHS, J.; ERTL, G. Post-infarct remodelling: contribution of wound healing and inflammation, **Cardiovascular Research**, v. 81, p. 474-481, 2009.

FUKUMITSU, N.; SUZUKI, M.; FUKUDA, T.; KIYONO, Y.; KAJIYAMA, S.; SAJI, H. Reduced ¹²⁵I-meta-iodobenzylguanidine uptake and norepinephrine transporter density in the hearts of mice with MPTP-induced parkinsonism. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 33, n. 1, p. 37-42, 2006.

GHEBREMEDHIN, E.; TREDICI, K.L.; LANGSTON, J.W.; BRAAK, H. Diminished tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the cardiac conduction system and myocardium in Parkinson's disease: an anatomical study. **Acta Neuropathologica**, v. 118, p. 777-784, 2009.

GLYNN, D.; BORTNICK, R. A.; MORTON, J. Complexin II is essential for normal neurological function in mice. **Human Molecular Genetics**, v. 12, n. 19, 2003.

GOLDSTEIN, D.; ELDADAH, B.A.; HOLMES, C.; PECHNIK, S.; MOAK, J.; SALEEM, A.; SHARABI, Y. Neurocirculatory abnormalities in Parkinson Disease with orthostatic hypotension independence from levodopa treatment. **Hypertension**, v. 46, p. 1333-1339, 2005.

GOLDSTEIN, D.; HOLMES, C.; LI, S. T.; BRUCE, S.; METMAN, L. V. Cardiac Sympathetic denervation in Parkinson disease. **Annals of Internal Medicine**, v. 133, p. 338-347, 2000.

GRAVES, M. J.; DOMMETT, D. M. F. Comparison of cardiac stroke volume measurement determined using stereological analysis of breath-hold cine MRI and phase contrast velocity mapping. **The British Journal of Radiology**, v 73, p. 825-832, 2000.

GUNDERSEN, H. J.; BENDTSEN, T. F.; KORBO, L.; MARCUSSEN, N.; MOLLER, A.; NIELSEN, K.; NYENGAARD, J.R.; PAKKENBERG, B.; SORENSEN, F.B.; VESTERBY, A. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. **Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, v. 96, p. 379– 94, 1988.

GUNDERSEN, H. J.; JENSEN, E. B. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. **Journal of Microscopy**, v. 147, n. 3, p.229–63, 1987.

GUNDERSEN, H. J. G. The smooth fractionator. **Journal of Microscopy**, v. 207, p. 191-210, 2002.

GUNDERSEN, H. J. G.; JENSEN, E. B. V.; KIEU, K.; JENSEN, J. The efficiency of systematic sampling in stereology—reconsidered. **Journal of Microscopy**, v. 193, p. 199–211, 1999.

HAENSCH, C. A.; LERCH, H.; JÖRG, J. A.; ISENMANN, S. Cardiac denervation occurs independent of orthostatic hypotension and impaired heart rate variability in Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 15, p. 134-137, 2009.

HAOBAM, R.; SINDHU, K. M.; CHANDRA, G.; MOHANAKUMAR, K. P. Swim-test as a function of motor impairment in MPTP model of Parkinson's disease: A comparative study in two mouse strains. **Behavioural Brain Research**, v. 163, p. 159–167, 2005.

IDE, T.; TSUTSUI, H.; KINUGAWA, S.; UTSUMI, H.; KANG, D.; HATTORI, N.; UCHIDA, K.; ARIMURA, K.; EGASHIRA, K.; TAKESHITA, A. Mitochondrial Electron Transport Complex I Is a Potential Source of Oxygen Free Radicals in the Failing Myocardium. **Circulation Research**, v. 85, p. 357-363, 1999.

JACKSON-LEWIS, V.; PRZEDBORSKI, S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Nature Protocols**, v. 2, n. 1, p. 141-151, 2007.

JAVITCH, J. A.; D'AMATO, R. J.; STRITTMATTER, S. M.; SNYDER, S. H. Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 -tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity, **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, v. 82, n.,7, p. 2173-2177, 1985.

KAJSTURA, J.; ZHANG, X.; LIU, Y.; SZOKE, E.; CHENG, W.; OLIVETTI, G.; HINTZE, T. H.; ANVERSA, P. The cellular basis of pacing-induced dilated cardiomyopathy. Myocyte cell loss and myocyte cellular reactive hypertrophy. **Circulation**, v. 92, p. 2306–2317, 1995.

LEEUEWENBURGH, B. P. J.; HELBING, W. A.; WENINK, A. C. G.; STEENDIJK, P.; DEJONG, R.; DREEF, E. J.; GITTENBERGER-DE GROOT, A. C. G.; BAAN, J.; VAN DER LAARSE, A. Chronic right ventricular pressure overload results in a hyperplastic rather than a hypertrophic myocardial response. **Journal of Anatomy**, v. 212, p. 286-294, 2008.

LI, S. T.; DENDI, R.; HOLMES, C.; GOLDSTEIN, D. Progressive loss of cardiac sympathetic innervation in Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, v. 52, p. 220-223, 2002.

LUCHTMAN, D. W.; SHAO, D.; SONG, C. Behavior, neurotransmitters and inflammation in three regimens of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Physiology and Behavior**, n. 98, v. 1-2, p. 130-138, 2009.

MA, S. Y.; RÖYTTÄ, M.; RINNE, J. O.; COLLAN, Y.; RINNE, U. K. Correlation between neuromorphometry in the substantia nigra and clinical features in Parkinson's disease using disector counts. **Journal of Neurological Sciences**, v. 151, p. 83-87, 1997.

MAYER, R. A.; KINDT, M. V.; HEIKKILA, R. E. Prevention of the nigrostriatal toxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine by inhibitors of 3,4-dihydroxyphenylethylamine transport. **Journal Neurochemistry**, v. 47, n. 4, p. 1073-1079, 1986.

METZ, G. A.; TSE, A.; BALLERMANN, M.; SMITH, L. K.; FOUAD, K. The unilateral 6-OHDA rat model of Parkinson's disease revisited: an electromyographic and behavioural analysis. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 3, p. 735-744, 2005.

MÜHLFELD, C.; NYENGAARD, J. R.; MAYHEW, T. A review of state-of-the-art stereology for better quantitative 3D morphology in cardiac research. **Cardiovascular Pathology**, v. 19, n. 2, p. 65-82, 2010.

MUTHANE, U.; RAMSAY, K. A.; JIANG, H.; JACKSON-LEWIS, V.; DONALDSON, D.; FERNANDO, S.; FERREIRA, M.; PRZEDBORSKI, S. Differences in nigral neuron number and sensitivity to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in C57/bl and CD-1 mice. **Experimental Neurology**, v. 126, n. 2, p. 195-204, 1994.

NADAL-GINARD, B.; KAJSTURA, J.; LERI, A.; ANVERSA, P. Myocyte Death, Growth, and Regeneration in Cardiac Hypertrophy and Failure, **Circulation Research**, v. 92, p. 139-150, 2003.

NYENGAARD, J. R.; GUNDERSEN, H. The isector: a simple and direct method for generating isotropic, uniform, random sections from small specimens. **Journal of Microscopy**, v. 165, p. 427-431, 1992.

OLIVETTI, G.; ABBI, R.; QUAINI, F.; KAJSTURA, J.; CHENG, W.; NITAHARA, J. A.; QUAINI, E.; DI LORETO, C.; BELTRAMI, C. A.; KRAJEWSKI, S.; REED, J. C.; ANVERSA, P. Apoptosis in the failing human heart. **New England Journal of Medicine**, v. 336, p. 1131–1141, 1997.

OLIVETTI, G.; MELISSARI, M.; BALBI, T.; QUAINI, F.; SONNENBLICK, E. H.; ANVERSA, P. Myocyte nuclear and possible cellular hyperplasia contribute to ventricular remodeling in the hypertrophic senescent heart in humans **Journal of American College of Cardiology**, v. 24, p. 140-149, 1994.

ORIMO, S.; AMINO, T.; ITOH, Y.; TAKAHASHI, A.; KOJO, T.; UCHIHARA, T.; TSUCHIYA, K.; MORI, F.; WAKABAYASHI, K.; TAKAHASHI, H. Cardiac sympathetic denervation precedes neuronal loss in the sympathetic ganglia in Lewy body disease. **Acta Neuropathologica (Berl)**, v. 109, n. 6, p. 583-588, 2002.

PEDERSEN, K. M.; MARNER, L.; PAKKENBERG, H.; PAKKENBERG, B. No global loss of neocortical neurons in Parkinson's disease: a quantitative stereological study. **Movement Disorders**, v. 20, n. 2, p. 164-171, 2005.

POEWE, W.; MAHLKNECHT, P. The clinical progression of Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 15S, p. S28–S32, 2009.

PORTER, K. E.; TURNER, N. A. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 123, p. 255–278, 2009.

PROBST, A.; BLOCH, A.; TOLNAY, M. New insights into the pathology of Parkinson's disease: does the peripheral autonomic system became central? **European Journal of Neurology**, v. 15, n. 1, p. 1-4, 2008.

PRZEDBORSKI, S.; JACKSON-LEWIS, V.; NAINI, A. B.; JAKOWEC, M.; PETZINGER, G.; MILLER, R.; AKRAM, M. The parkinsonian toxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP): a technical review of its utility and safety. **Journal of Neurochemistry**, v. 76, n. 5, p. 1265-1274, 2001.

REMME, W. J. Pharmacological Modulation of Cardiovascular Remodeling: A Guide to Heart Failure Therapy. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 17, p. 349–360, 2003.

REN, J.; PORTER, J. E.; WOLD, L. E.; ABERLE, N. S.; MURAKIKRISHNAN, D.; HASELTON, J. R. Depressed contractile function and adrenergic responsiveness of cardiac myocytes in an experimental model of Parkinson disease, the MPTP-treated mouse. **Neurobiology of Aging**, v. 25, p. 131-138, 2004.

SCHAPIRA, A. H. V. Progress in neuroprotection in Parkinson's disease. **European journal of Neurology**, v. 15, n. 1, p. 5-13, 2008.

SHIMOJI, M.; ZHANG, L.; MANDIR, A. S.; DAWSON, V. L.; DAWSON, T. M.; Absence of inclusion body formation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Molecular Brain Research**, v. 134, p. 103-108, 2005.

SINGLETON, A.; GWINN-HARDY, K.; SHARABI, Y.; LI, S. T.; HOLMES, C.; DENDI, R.; HARDY, J.; SINGLETON, A.; CRAWLEY, A.; GOLDSTEIN, D. S. Association between cardiac denervation and parkinsonism caused by a-synuclein gene triplication. **Brain**, v. 127, p. 768-772, 2004.

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

SONSALLA, P. K.; HEIKKILA, R. E. The influence of dose and dosing interval on MPTP- induced dopaminergic neurotoxicity in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 129, p. 339-345, 1986.

SPILLANTINI, M. G.; CROWTHER, R. A.; JAKES, R.; HASEGAWA, M.; GOEDERT, M. Alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, v. 95, p. 6469-6473, 1998.

SUNDSTRÖM, E.; STRÖMBERG, I.; TSUTSUMI, T.; OLSON, L.; JONSSON, G. Studies on the effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) on central catecholamine neurons in C57 BL/6 mice: comparison with three other strains of mice. **Brain Research**, v. 405, p. 26-38, 1987.

TAKATSU, H.; NISHIDA, H.; MATSUO, H.; WATANABE, S.; NAGASHIMA, K.; WADA, H.; NODA, T.; NISHIGAKI, K.; FUJIWARA, H. Cardiac sympathetic denervation from the early stage of /Parkinson's disease: clinical and experimental studies with radiolabeled MIBG. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 41, p. 71-77, 2000.

TANG, Y.; NYENGAARD, J. R.; ANDERSEN, J. B.; BAANDRUP, U.; GUNDERSEN, H. J. The application of stereological methods for estimating structural parameters in the human heart. **Anatomical Record (Hoboken)**, v. 292, n. 10, p. 1630-1647, 2009.

TOFARIS, G. K.; REITBÖCK, P. G.; HUMBY, T.; LAMBOURNE, S. L.; O'CONNELL, M.; GHETTI, B.; GOSSAGE, H.; EMSON, P. C.; WILKINSON, L. W.; GOEDERT, M.; SPILLANTINI, M. G. Pathological changes in dopaminergic nerve cells of the substantia nigra and olfactory bulb in mice transgenic for truncated human α -synuclein(1–120): implications for lewy body disorders. **The Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 15, p. 3942–3950, 2006.

TURGUT, M. Asymmetry of sympathetic activity in a rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine: haemodynamic, electrocardiographic and biochemical changes. **Research in Experimental Medicine**, v. 198, p. 281-292, 1998.

UVERSKY, V. N. Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. **Cell and Tissue Research**, v. 318, p. 225–241, 2004.

VAN DEN BORNE, S.W.M; DIEZ, J; BLANKESTEIJN,W.M; VERJANS,J; HOFSTRA, L; NARULA, J. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts. **Nature Reviews Cardiology**, v, 7, p. 30–37, 2010.

VAN DER LAARSE, A.; BLOYS VAN TRESLONG, C. H.; VLIEGEN, H. W.; RICCIARDI, L. Relation between ventricular DNA content and number of myocytes and non myocytes in hearts of normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Cardiovascular Research**, v. 21, p. 223–229, 1987.

VAN VRÉ, E. A.; VAN BEUSEKOM; H. M.; VRINTS, C. J.; BOSMANS, J. M.; BULT, H.; VAN DER GIESSEN, W. J. Stereology: a simplified and more time-efficient method than planimetry for the quantitative analysis of vascular structures in different models of intimal thickening. **Cardiovascular Pathology**, v. 16, p. 43– 50, 2007.

VEDEL JENSEN, E. B.; GUNDERSEN, H. J. G. The rotator. **Journal of Microscopy**, v. 170, p. 35-44, 1993.

ZIEMSEN, T.; REICHMANN, H. Cardiovascular autonomic dysfunction in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 289, n. 1-2, p. 74-80, 2010.

WULFSOHN, D.; NYENGAARD, J. R.; TANG, Y. Postnatal growth of cardiomyocytes in the left ventricle of the rat. **The Anatomical Record. Part A, Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology**, v. 277, n. 1, p. 236-47, 2004.

YAN, X.; CARBAYO, J. J. P.; WEIBEL, E. R.; HSIA, C. C. W. Variation of lung volume after fixation when measured by immersion or Cavalieri method. **American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 284, p. L242–L245, 2003.