

MONIQUE CAMPOS NACCARATO CARRIJO

Envolvimento do núcleo do trato solitário nas alterações respiratórias observadas durante hipóxia em um modelo experimental da Doença de Parkinson

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profª Drª Ana Carolina Takakura

Versão corrigida

São Paulo

2023

RESUMO

NACCARATO, M.C. Envolvimento do núcleo do trato solitário nas alterações respiratórias observadas durante hipóxia em um modelo experimental da Doença de Parkinson. 81f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2023.

A doença de Parkinson (DP) é caracterizada pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos da substância negra compacta (SNpc), acompanhada de sintomas clássicos e não clássicos, como a insuficiência respiratória. Aqui, nossos objetivos foram investigar se: 1) existem comunicações neuronais entre a SNpc e o núcleo do trato solitário comissural (NTSc), 2) os neurônios do NTS têm participação nas alterações respiratórias induzidas pela ativação de quimiorreceptores periféricos por hipóxia e o fenótipo desses neurônios e 3) existe prejuízo no número de neurônios Phox2b ou que são ativados por hipóxia no NTS e se projetam para o núcleo retrotrapezóide (RTN), num modelo experimental da DP. Ratos Wistar adultos receberam injeção bilateral de veículo ou 6-hidroxidopamina (6-OHDA) no estriado. Os registros ventilatórios foram realizados por pletismografia de corpo inteiro e para verificar as projeções entre regiões, usamos injeção unilateral do traçador retrógrado Fluorogold (FG) no NTSc e RTN. Para investigar a ativação neuronal analisamos a expressão da proteína FOS em ratos submetidos à hipóxia (1h) 41 e 61 dias após a injeção de veículo ou 6-OHDA. Os resultados mostraram que no modelo experimental utilizado a resposta ventilatória basal e em resposta a hipóxia está prejudicada, há redução de neurônios Phox2b ou ativados por hipóxia no NTS que se projetam para o RTN e existe uma via indireta da SNpc para o NTSc, que passa pela substância cinzenta periaquedutal (PAG). Não vimos redução de neurônios catecolaminérgicos no NTS. Concluimos que a via SNpc – PAG – NTSc pode estar prejudicada no modelo 6-OHDA, justificando a perda de neurônios Phox2b ou ativados por hipóxia no NTSc, levando aos prejuízos respiratórios diante do estímulo da hipóxia. Além disso, sugerimos que neurônios Phox2b reduzidos no NTS, possam ser os mesmos que são ativados por hipóxia e que se projetam para o RTN, o que seria mais uma explicação para a neurodegeneração do RTN e consequentes disfunções em resposta à hipercapnia.

Palavras-chave: Doenças neurodegenerativas. Hipóxia. Quimiorreflexo periférico. Respiração.

ABSTRACT

NACCARATO, M.C. Involvement of the nucleus of the solitary tract in respiratory changes observed during hypoxia in an experimental model of Parkinson's Disease. 81f. Dissertation (Masters in Pharmacology) – Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo. 2023.

Parkinson's disease (PD) is characterized by the progressive loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra compact (SNpc), accompanied by classic and non-classical symptoms, such as respiratory failure. Here, our objectives were to investigate whether: 1) there are neuronal communications between the SNpc and the commissural area of the nucleus of the solitary tract commissural (cNTS), 2) NTS neurons participate in respiratory alterations induced by activation of peripheral chemoreceptors by hypoxia and their phenotype neurons and 3) there is impairment in the number of Phox2b neurons or neurons that are activated by hypoxia in the NTS and project to the retrotrapezoid nucleus (RTN), in an experimental model of PD. Adult Wistar rats received bilateral injection of vehicle or 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the striatum. Ventilatory recordings were performed by full body plethysmography and to verify the projections between regions, we used unilateral injection of the retrograde tracer Fluorogold (FG) in the cNTS and RTN. To investigate neuronal activation, we analyzed FOS protein expression in rats subjected to hypoxia (1h) 41 and 61 days after vehicle or 6-OHDA injection. The results showed that in the experimental model used, the basal ventilatory response and in response to hypoxia are impaired, there is a reduction of Phox2b or hypoxia-activated neurons in the NTS that project to the RTN and there is an indirect pathway from the SNpc to the NTSc, which passes by the periaqueductal gray matter (PAG). We did not see a reduction of catecholaminergic neurons in the NTS. We conclude that the SNpc – PAG – cNTS pathway may be impaired in the 6-OHDA model, justifying the loss of Phox2b or hypoxic-activated neurons in the cNTS, leading to respiratory damage in the face of hypoxia stimulus. Furthermore, we suggest that reduced Phox2b neurons in the NTS may be the same ones that are activated by hypoxia and that project to the RTN, which would be one more explanation for the neurodegeneration of the RTN and consequent dysfunctions in response to hypercapnia.

Keywords: Neurodegenerative diseases. Hypoxia. Peripheral chemoreflex. Breathing.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Mecânica respiratória e controle neural da respiração

A principal função da respiração são as trocas gasosas, ou seja, fornecer oxigênio (O₂) para as células e remover o dióxido de carbono (CO₂) oriundo do metabolismo. A atividade respiratória é produzida por um padrão gerador de movimento que envolve a coordenação de movimentos da caixa torácica, músculos abdominais e vias aéreas respiratórias. Para que isso ocorra é necessária a participação do sistema nervoso central (SNC), mais especificamente da região do tronco encefálico. O padrão respiratório é tipicamente ativo durante a inspiração (entrada de ar) e passivo na expiração (saída de ar) eupneica (Zoccal et al, 2019).

Dentre os três elementos básicos no controle respiratório (Figura 1), podemos citar:

- **Sensores**, que reúnem informações e as transmitem para os
- **Centros de controle no encéfalo**, onde essas informações são processadas e impulsos são enviados aos
- **Efetores (músculos respiratórios)**, que promovem a ventilação (West, 2013).

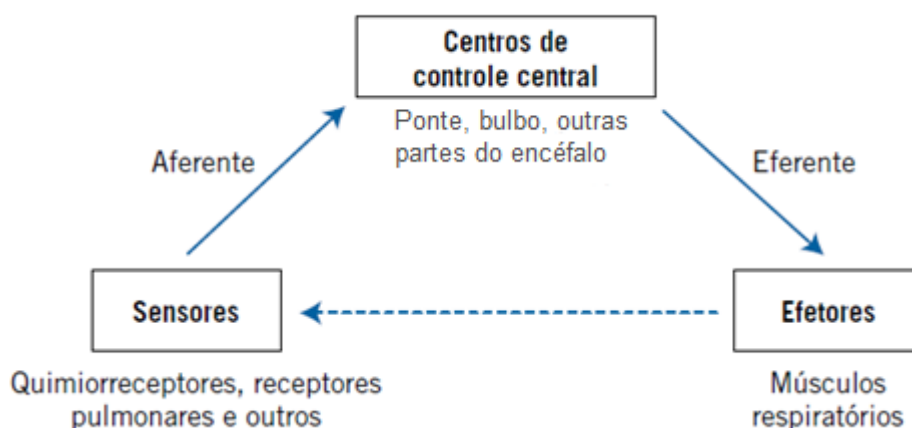


Figura 1: Elementos básicos do controle respiratório (Fonte: Fisiologia Respiratória, princípios básicos: John B West, 2013).

Do ponto de vista mecânico, para que o ar se movimente para dentro e para fora dos pulmões, é necessária uma diferença de pressão entre o espaço alveolar e o ar atmosférico. Essa diferença é gerada por meio da contração e relaxamento dos músculos respiratórios, que promovem alterações nos volumes dos pulmões e caixa torácica (Zoccal, 2019).

Os principais **músculos da inspiração** são o diafragma, o qual consiste numa lâmina muscular fina em forma de cúpula inserida nas costelas inferiores, e os intercostais externos, que conectam as costelas adjacentes. Quando esses músculos se contraem, os conteúdos abdominais são forçados para baixo e para frente, no caso do diafragma, e as costelas são tracionadas para cima e para fora, no caso dos intercostais, promovendo o aumento da dimensão anteroposterior da caixa torácica, redução da pressão intratorácica e, conseqüentemente a entrada de ar. Os músculos acessórios da inspiração são os escalenos e esternomastóideo, desempenhando pequena atividade em repouso, sendo mais requisitados durante exercício. Como o pulmão e parede torácica são elásticos, eles tendem a retornar às suas posições de equilíbrio após serem ativamente expandidos ao longo da inspiração, assim, ocorre o aumento da pressão intratorácica e a saída de ar (**expiração passiva ou pós inspiração**) (Figuras 2 e 3). Durante o exercício e hiperventilação voluntária, a expiração passa a ser ativa, e os principais músculos envolvidos nesse caso são: reto abdominal, oblíquos internos e externos, transverso e os intercostais internos (West, 2013; Aires, 2018; Zoccal, 2019).

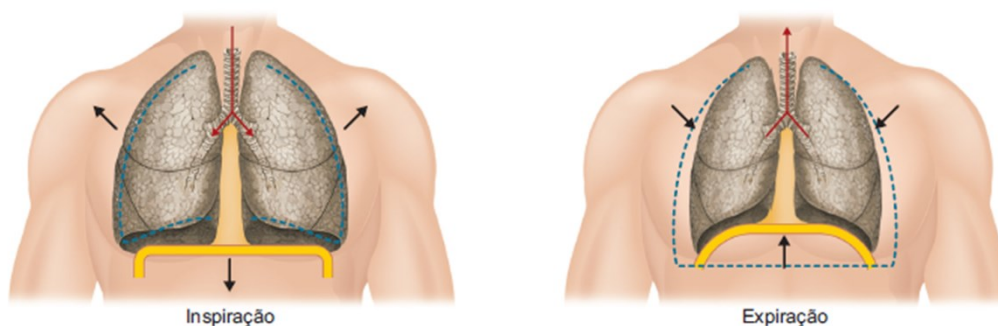


Figura 2: Na inspiração, o diafragma se contrai e os conteúdos abdominais são forçados para baixo e para fora, e a caixa torácica é ampliada. Todos promovem o aumento do volume do tórax. Na expiração passiva, o diafragma eleva-se, e os pulmões e a caixa torácica retornam à posição inicial de repouso de modo gradual, devido às forças elásticas de recolhimento dos tecidos distendidos durante a inspiração (Fonte: Mecânica Respiratória: Zoccal et al, 2019).

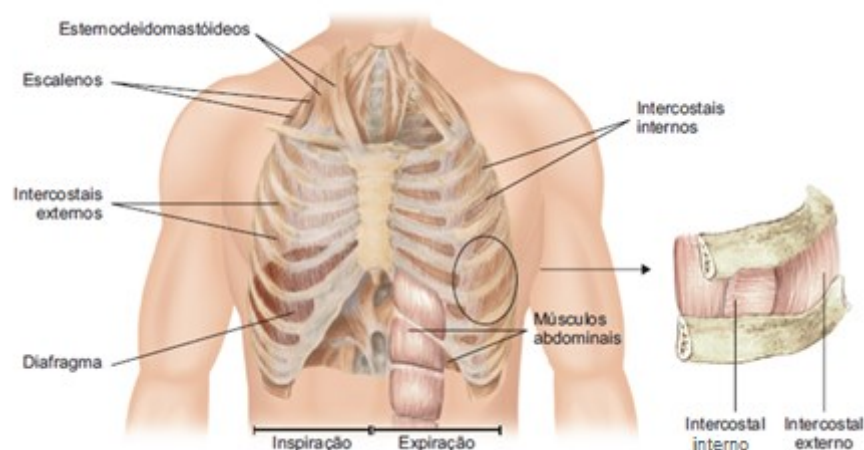


Figura 3: Principais músculos respiratórios. Inspiratórios à esquerda, expiratórios à direita. O detalhe da figura mostra a disposição anatômica das fibras musculares dos músculos intercostais internos e externos (Fonte: Mecânica Respiratória: Zoccal et al, 2019).

A inervação motora do diafragma é dada pelos nervos frênicos esquerdo e direito, os quais se originam bilateralmente dos ramos ventrais dos segmentos das vértebras cervicais (C3 a C5). Esses nervos são responsáveis pelo suprimento motor ao diafragma, além de conter fibras sensitivas para dor e propriocepção. Os músculos intercostais são inervados pelos nervos intercostais anteriores que se originam do primeiro ao décimo primeiro segmento torácico da medula espinal e a inervação dos músculos abdominais é feita pelos nervos motores da porção torácica final e da porção lombar da medula espinal (Figura 4) (Zoccal et al, 2019).

A ritmogênese respiratória é gerada em neurônios do tronco encefálico e transmitida por uma rede de interneurônios e neurônios pré-motores, e para os neurônios motores respiratórios. Esse processo de transmissão sináptica dos centros respiratórios até a musculatura respiratória é essencial para a geração de um padrão respiratório eupneico, o qual corresponde a uma respiração observada em condições de repouso em mamíferos (Figura 5). Sabe-se que as **regiões do tronco encefálico** que possuem grupamentos neuronais envolvidos nas diversas fases do ciclo respiratório são:

- Complexo parabraquial e Kolliker –Fuse (PB/KF) e *locus coeruleus* (LC), na ponte
- Núcleo do trato solitário (NTS), na região dorsal do bulbo
- Coluna respiratória ventral (CRV), na região ventral do bulbo

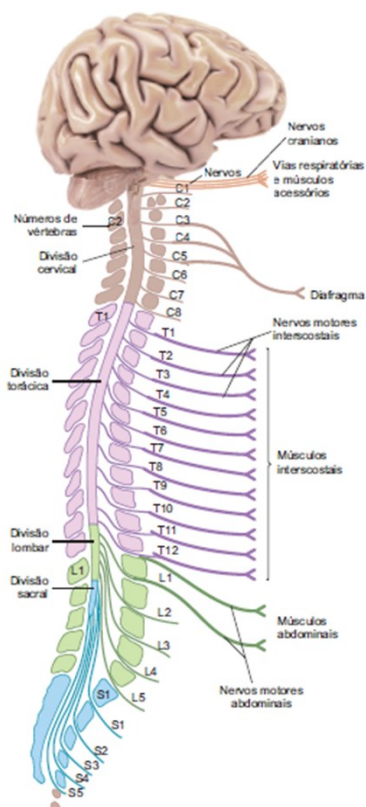


Figura 4: Inervação motora dos principais músculos respiratórios. Os nervos cranianos (hipoglossos, acessórios e vago) inervam músculos das vias respiratórias e músculos acessórios da respiração. O nervo frênico inerva o diafragma, os nervos intercostais inervam os músculos intercostais (internos e externos) e os nervos motores abdominais inervam os músculos abdominais (transverso, retroabdominal e oblíquos interno e externo) (Fonte: Mecânica Respiratória: Zoccal et al, 2019).

A CRV é dividida no sentido rostro-caudal em: núcleo retrotrapezóide (RTN), complexos de Botzinger (BotC) e pre-Botzinger (preBotC) e grupamentos respiratórios ventrolaterais rostral (GRVLr) e caudal (GRVLc) (Figura 6). O ritmo respiratório inicia-se no preBotC, onde neurônios rítmicos excitatórios enviam sinais para o GRVLr, ativando neurônios pré-motores inspiratórios, os quais se projetam para neurônios motores da medula espinal (C3-C5) e, através do nervo frênico, esses impulsos atingem o diafragma, que se contrai, resultando na inspiração ativa. Quando neurônios inibitórios do BotC são ativados, eles inibem o preBotC e toda a cadeia de transmissão, resultando na expiração passiva (Figura 5) (Aires, 2018). O RTN desempenha importante papel na respiração e é composto por um aglomerado de neurônios glutamatérgicos localizados abaixo do núcleo motor facial (Conelly et al, 1990). Os neurônios dessa região que expressam a neuromedina B e o fator de transcrição Phox2b possuem os quimiorreceptores centrais, ou seja, quando ativados pelo aumento de CO_2/H^+ , retransmitem essa informação por todo o circuito respiratório, incluindo o preBotC e o GRVLr para aumentar a frequência e a amplitude da respiração (Moreira et al, 2020). Também contribuem para a atividade de suspiro, que ocorre no estado eupneico e se torna mais ativo em condições hipercápnicas e hipóxicas ou em resposta a comportamentos emocionais variados, como medo, raiva, felicidade, tristeza, transtornos de ansiedade e outras condições psiquiátricas (Li et al,

2016). Além disso, mais lateral ao RTN, temos o grupamento parafacial lateral (pFRG) envolvido com a expiração ativa. O mesmo possui neurônios glutamatérgicos que são constantemente inibidos por neurônios da Rafe, núcleo tegmental pedúnculo pontino (PPT), BotC e núcleo do trato solitário intermediário (NTSi) (Silva et al, 2019; Flor et al, 2020) pois, assim, evita-se a contração de músculos expiratórios durante a inspiração ativa. Durante exercício físico, por exemplo, em que a expiração se torna ativa, essa inibição é inibida e, com isso, os neurônios excitatórios do pFRG ativam os neurônios pré-motores expiratórios no GRVLc, os quais se projetam para a medula espinal (L1-L4), inervando os músculos abdominais expiratórios e contraíndo-os (Malheiros-Lima et al, 2020).

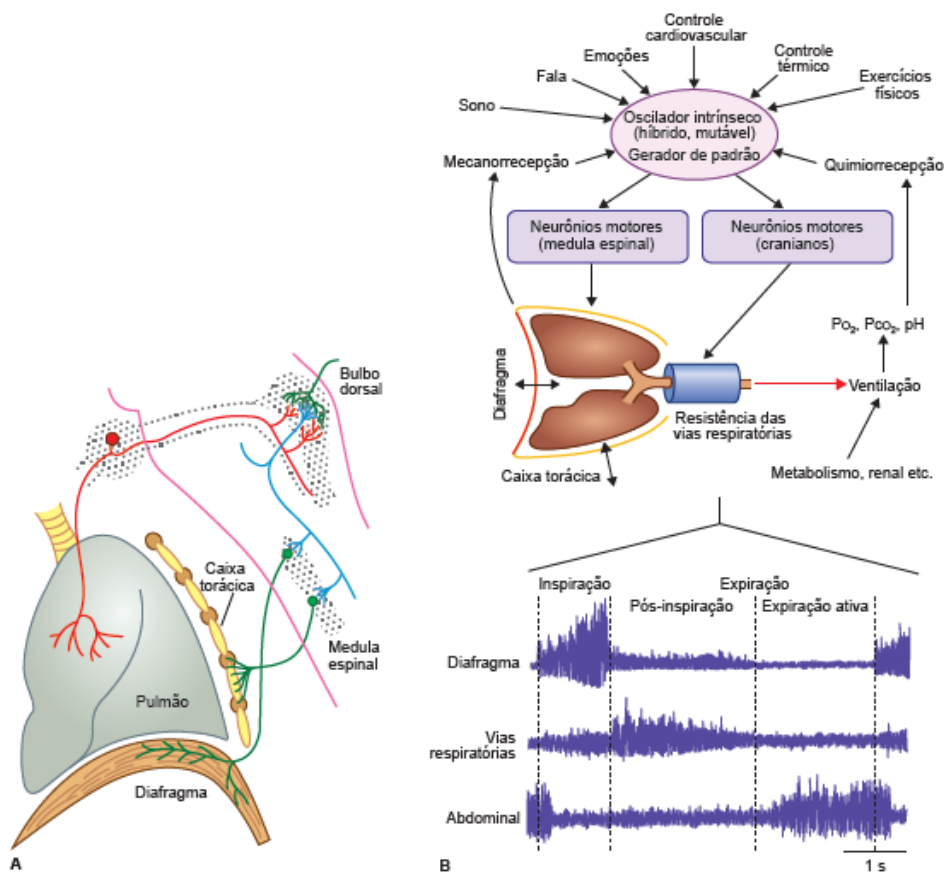


Figura 5: **A.** Desenho esquemático das vias aferentes e eferentes envolvidas no controle da respiração descritas por Santiago Ramon y Cajal no século XIX. **B.** Representação esquemática da rede respiratória na geração do padrão respiratório: inspiração, pós-inspiração e expiração ativa. Importante ressaltar que sono, fala, emoções, controles térmico e cardiovascular e exercício físico podem influenciar e modular o padrão respiratório. Há também sensores periféricos (quimiorreceptores e receptores mecânicos de distensão pulmonar) que promovem a modulação do gerador central da respiração na tentativa de ajustar o padrão respiratório (Fonte: Aires, 2018).

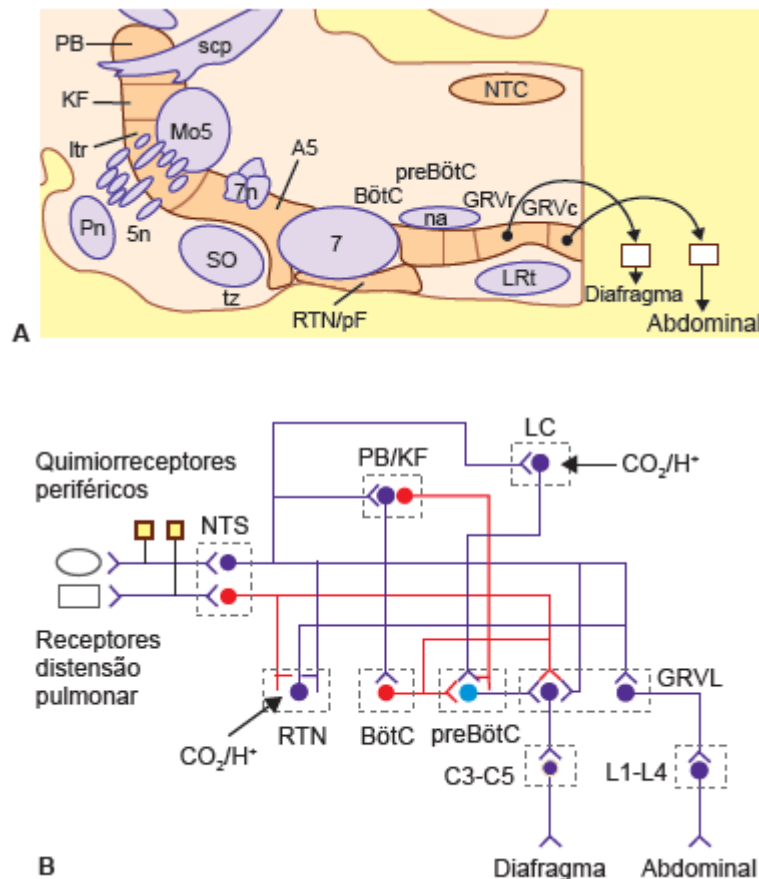


Figura 6: **A.** Esquema sagital do tronco encefálico ilustrando as regiões envolvidas no controle respiratório. **B.** Desenho esquemático ilustrando as conexões excitatórias (roxo) ou inibitórias (vermelho) entre as áreas de controle respiratório do tronco encefálico. A5, região pontina ventrolateral catecolaminérgica; BötC, complexo de Bötzinger; C3-C5, medula espinal cervical níveis 3-5; GRVc, grupamento respiratório ventrolateral caudal; GRVr, grupamento respiratório ventrolateral rostral; ltr, região intertrigeminal; KF, Kölliker-Fuse; LC, locus coeruleus; LRt, núcleo reticular lateral; L1-L4, medula espinal lombar níveis 1-4; Mo5, núcleo mesencefálico do trigêmeo; na, núcleo ambíguo; NTS, núcleo do trato solitário; PB: parabraquial; Pn, núcleo basilar pontino; preBötC, complexo de pré-Bötzinger; RTN/pF, núcleo retrotrapezoide/região parafacial; scp, pedúnculo cerebelar superior; SO, oliva superior; tz, corpo trapezoide; 7n, nervo facial (Fonte: Aires, 2018).

No complexo PB/KF, ou centro pneumotáxico pontino, existem neurônios inspiratórios e excitatórios, e parece estar envolvido no controle da frequência e amplitude respiratória, modulando o padrão respiratório gerado pelo bulbo. Já o LC (A6), composto por neurônios noradrenérgicos, recebe influências de várias áreas bulbares envolvidas com a respiração e, apesar de não enviar projeções diretas para a medula espinal, participa das vias neurais relacionadas, como o sistema de alerta e no processo da quimiorrecepção central e periférica (Gargaglioni et al, 2010). O NTS, por ser o alvo de estudo desta dissertação, será discutido mais adiante em um tópico específico.

Como vimos, o processo automático normal da respiração se origina no tronco encefálico, contudo, o córtex pode prevalecer caso seja desejado o controle voluntário

e, outras regiões, como o hipotálamo e sistema límbico, podem alterar o padrão respiratório em estados emocionais, por exemplo, medo e raiva (West, 2013). Também já foi demonstrado que a substância cinzenta periaquedutal (PAG), localizada no mesencéfalo, possa ter participação nas condições autônomas e respiratórias (Subramanian e Holstege, 2013) e no controle quimiossensorial da respiração (Lima et al., 2018).

1.2 Sensores da atividade respiratória: quimiorreceptores centrais e periféricos

Os sistemas nervoso autônomo e somático permitem ao organismo ajustar sua circulação e ventilação a fim de manter o aporte de O₂ aos tecidos e o equilíbrio é mantido pela complexa interação dos quimiorreflexos central e periférico, ergorreflexo e reflexo de estiramento pulmonar. O quimiorreflexo é o principal mecanismo de controle e regulação das respostas ventilatórias frente alterações de O₂ e CO₂ arterial, e mudanças no pH. Para isso, existem células especializadas e sensíveis às alterações químicas no sangue e/ou líquido cefalorraquidiano (LCR) que realizam monitoramento contínuo e informam ao SNC as pressões parciais de O₂ e CO₂ arteriais e pH plasmático, possibilitando os ajustes adequados, de forma a assegurar a homeostase gasométrica (Feldman et al., 2013; Aires, 2018).

Os quimiorreceptores centrais estão presentes em neurônios e astrócitos, que são sensíveis primariamente à queda do pH e aumento da pressão parcial de CO₂ arterial (PaCO₂) e no LCR. Respondem rapidamente à pequenas alterações, aumentando a resposta ventilatória. Localizam-se principalmente no RTN, complexo preBotC, NTS, LC, núcleo fastigial do cerebelo e região do hipotálamo contendo neurônios orexinérgicos (Li et al, 1999; Krause et al, 2009; Nattie et al, 2002; Biancardi et al, 2008; Elam et al, 1981; Martino et al, 2007; Sunanaga et al, 2009; Nattie et al, 2012). Os neurônios do RTN que têm os quimiorreceptores centrais apresentam fenótipo glutamatérgico e expressam o fator de transcrição Phox2b, o qual é responsável por regulação de genes envolvidos no desenvolvimento do controle autônomo. Dados anteriores sugerem que esses neurônios também expressam neuromedina B, contribuindo na produção do suspiro (Li et al, 2006). Neurônios Phox2b do RTN possuem receptor para neurocinina 1 (NK1R – Sustância P) e apresentam característica de quimiorrecepção central intrínseca, que depende de mecanismo envolvendo H⁺ com inibição de canais para K⁺ sensíveis ao ácido

relacionado a TWIK 2 (TASK2) e ativação do receptor 4 acoplado à proteína G (GPR4), e interdependência com a quimiorrecepção periférica. Os neurônios Phox2b do RTN respondem ao O₂ pela comunicação existente entre RTN e sinais de quimiorrecepção periférica vindos do NTS (Kumar et al 2015; Takakura et al 2006).

Os quimiorreceptores periféricos são células do tipo glomus 1 e 2. O tipo 1 são semelhantes a neurônios, com canais sensíveis à voltagem (TASK, NaV, CaV), contêm vesículas com diferentes neurotransmissores, como dopamina (DA), noradrenalina (NA), acetilcolina (Ach), substância P, ATP e 5-HT, os quais são liberados frente à despolarização celular e captados por seus respectivos receptores em aferentes próximos, enviando potenciais de ação via nervos vago e glossofaríngeo para o NTS (Coates et al, 1993; Greer e Funk, 2013; Aires, 2018). O tipo 2 são semelhantes às células gliais, com função de sustentação. Entretanto, estudos mostraram que a interação entre as células glomus 1 e 2 geram uma resposta de despolarização ainda maior, por meio de mecanismos purinérgicos (Murali e Nurse, 2016). Os quimiorreceptores periféricos estão localizados nos corpúsculos aórtico e carotídeos (Figura 7) e, apesar de também serem ativados diante do aumento da PaCO₂ e diminuição do pH, respondem principalmente à queda na PaO₂ como, por exemplo, em situações de hipóxia, em que são ativados e enviam sinais ao bulbo via nervos vago e glossofaríngeo, respectivamente, desencadeando respostas reflexas respiratórias (aumento da ventilação), parassimpática (redução da frequência cardíaca) e simpática (aumento da pressão arterial) (Sapru, 1996). Apesar desses sinais atingirem o SNC por meio do núcleo do trato solitário comissural (NTSc), ativando neurônios glutamatérgicos, outras regiões estão envolvidas nas respostas respiratórias à hipóxia, uma vez que os neurônios glutamatérgicos do NTSc inervam vários segmentos da CRV e estruturas pontinas, como KF e núcleos parabraquiais dorsolateral (Alheid et al., 2011). A conexão entre os neurônios ativados por hipóxia no NTSc e o RTN evidencia a existência de uma integração entre quimiorrecepção periférica e central (Takakura et al., 2006).

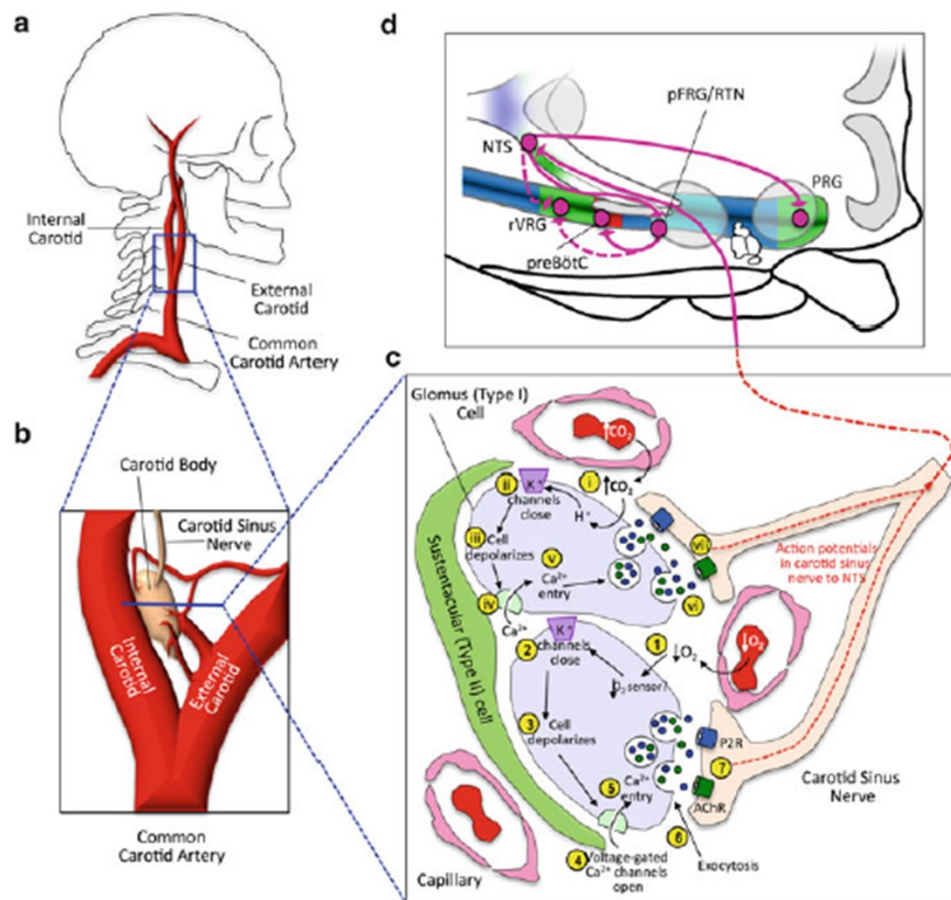


Figura 7: Quimiorreceptores do corpo carotídeo: localização, mecanismos de transdução e projeções centrais. **(a)** os corpos carotídeos localizados bilateralmente no pescoço **(b)** na bifurcação das carótidas interna e externa. **(c)** Visão ampliada de uma seção transversal do corpo carotídeo, mostrando o arranjo de glômicas (tipos I e II), capilares, carótidas e terminações nervosas sinusais. Vias de transdução de sinal para conversão de CO₂ aumentado (glomus superior [etapas i-vii] e diminuição do O₂ (célula glômica inferior [etapas 1-7]) na liberação de neurotransmissor e geração de potencial de ação no nervo do seio carotídeo. **(d)** Projeções centrais de fibras aferentes do nervo do seio carotídeo no bulbo. A sinapse excitatória de primeira ordem está no NTS, onde neurônios se projetam para o grupo respiratório pontino (PRG) para o pFRG/RTN, que por sua vez, envia projeções excitatórias para o preBotC e outras regiões da CRV (Fonte: Greer and Funk, 2013).

1.3 A doença de Parkinson

A Doença de Parkinson (DP) foi descrita pela primeira vez em 1817 por James Parkinson em ensaio intitulado: "An Essay on the Shaking Palsy". O médico acompanhou seis casos clínicos e percebeu que os pacientes apresentavam instabilidade postural, tremores em repouso, sendo o início da doença revelado por sinais discretos, como sensação de fraqueza e, posteriormente, tremores unilaterais. Parkinson observou que a progressão da doença foi muito lenta, citando como exemplo o paciente do caso seis, que apresentou um período de onze anos desde os

primeiros sintomas até um estado grave, no qual apresentava dificuldade para caminhar e executar atividades de rotina simples, além de tremores intensos. James Parkinson relatou que nenhum dos seis pacientes apresentou deficiência cognitiva, mas alguns tiveram dificuldade respiratória ou sono perturbado (Parkinson J., 2002).

A DP atinge cerca de 4 milhões de pessoas no mundo, com estimativas desse número dobrar até 2030 (Dorsey et al., 2007). No Brasil, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que cerca de 200 mil pessoas sofram com o problema, e esse número crescerá consideravelmente nos próximos 25 anos, tendo em vista o aumento da expectativa de vida. É uma doença crônica e de desordem neurodegenerativa progressiva, que acomete principalmente idosos, sem distinção de gênero, etnia e classe social, sendo responsável por 40 a 70% dos transtornos do movimento em seres humanos (Blandini et al., 2008; Seidel et al., 2015; Trotti & Bliwise, 2014).

A patogenia da DP é comumente associada aos sintomas motores clássicos, pelos quais a doença é clinicamente conhecida, como tremor, rigidez muscular, instabilidade postural e bradicinesia (Gazewood et al., 2013; Lee e Trojanowski., 2006), contudo, observações clínicas vêm demonstrando alguns sintomas não clássicos que surgem no decorrer da doença, em função de lesões de núcleos específicos do SNC (Fulceri et al., 2006; Loffler et al., 2015), como distúrbios do sono, déficits neuropsiquiátricos e cognitivos, disfunção sensorial e instabilidade respiratória, bem como disfunção cardiovascular (Bassetti, 2011; Chaudhuri et al., 2011; Dickson et al., 2009; Truong et al., 2008; Tuppy et al., 2015). Tanto os sintomas clássicos como os não clássicos, prejudicam substancialmente a qualidade de vida dos pacientes (Wolters, 2009). Algumas alterações patológicas podem ser detectadas até 20 anos antes do início dos sintomas clássicos e são acompanhadas por um antecedente clínico de sintomas inespecíficos, como hiposmia (diminuição do olfato), constipação e fadiga (Gazewood et al., 2013).

Trata-se de uma doença complexa e multifatorial, caracterizada fisiopatologicamente pela perda progressiva dos neurônios dopaminérgicos da parte compacta da substância negra (SNpc), neurônios noradrenérgicos do Locus Coeruleus (LC), com propagação de α -sinucleína e formação de Corpos de Lewy (CL). Os sintomas motores clássicos começam a aparecer quando já ocorreu redução de pelo menos 80% da dopamina no putâmen e 60% dos neurônios dopaminérgicos na SNpc (Schulz e Falkenburger, 2004). Análises pós-morte de encéfalos de pacientes

com DP revelaram que a maioria dos CL ocorrem no interior dos neurônios pigmentados da SNpc (Koziorowski et al. 2021). Sintomas motores, como bradicinesia e rigidez, ocorrem quando há grande perda dos neurônios dopaminérgicos dessa região (Connolly & Lang, 2014; Howell & Schenck, 2015). Entretanto, pesquisas têm mostrado que outras regiões do SNC podem também sofrer uma neurodegeneração e contribuir para os sintomas motores, ou ser a causa dos sintomas não motores. Estudos mostram que o tremor de repouso, por exemplo, está associado à extensa neurodegeneração dopaminérgica na área retrorubral (RRA) do mesencéfalo, com perda mais leve na SNpc (Deutch et al, 1986; German et al, 1988; Jellinger, 2012; Dirx e Helmich, 2017). O avanço da doença também implica em perda neuronal no prosencéfalo basal, amígdala, lobo temporal, áreas corticais (Koziorowski et al. 2021) e respiratórias, como veremos adiante.

Apesar de sua descrição há dois séculos, a etiologia da DP ainda é desconhecida. Pesquisas buscam associar essa neurodegeneração, tanto na SNpc como em outras regiões, a interações de fatores genéticos e ambientais que afetariam processos celulares fundamentais (Kalia e Lang, 2015; Capriotti e Terzakis, 2016).

Dentre os fatores genéticos, muitos estudos se concentraram em testes para identificar genes que possam estar envolvidos no desencadeamento da DP. Mutações em determinados genes, como VPS35, responsável pela produção de uma das subunidades do complexo retrómero envolvido no transporte retrógrado de proteínas para o complexo de Golgi, e o PINK1, gene que codifica uma proteína importante para proteção das células contra a disfunção mitocondrial durante o estresse oxidativo, podem estar relacionadas à doença, enquanto as alterações do gene da glicocerebrosidase (GBA; importante enzima envolvida na atividade lisossomal) são as mais comuns na população (SIDRANSKY et al., 2009). Além disso, mutações genéticas associadas ao sexo e diferentes taxas de exposição a fatores de risco entre homens e mulheres são possíveis explicações para a maior prevalência da DP na população masculina em idades mais jovens, e pesquisadores acreditam que o hormônio feminino estrogênio possa ter um efeito protetor contra a DP, mas seu papel ainda é controverso (Aquino et al., 2021).

Em relação aos fatores ambientais, já foi observado que a incidência de DP é maior em indivíduos descendentes de japoneses residentes no Havaí do que em indivíduos residentes no Japão (MORENS et al., 1996). Sabe-se, também, que pessoas que sofreram traumatismo craniano, expostas a agrotóxicos ou em uso de

antagonistas do receptor β por muitos anos, apresentam maior risco de desenvolver DP, enquanto pessoas com hábitos tabagistas, alto consumo de cafeína ou em uso de antiinflamatórios não esteroidais apresentam menor risco (ASCHERIO; SCHWARZSCHILD, 2016). Apesar disso, as relações específicas entre fatores ambientais/genéticos e progressão da doença não estão bem estabelecidas. Contudo, já foram descritos outros fatores que levam à morte de neurônios dopaminérgicos na SNpc como, ocorrência de disfunção mitocondrial que pode estar relacionada ao estresse oxidativo, neuroinflamação e ruptura da barreira hematoencefálica (BHE) (Bonifati et al. 2003; Minones-Moyano et al. 2011). Foi demonstrado que o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) ativam a função apoptótica mitocondrial em vias dopaminérgicas da SN em modelos animais da DP e, para contrabalancear esse estresse oxidativo, neurônios mobilizam uma rede complexa de eliminação de ROS (Choi et al. 2004 a,b). Além disso, já foi verificado que a regulação negativa do gene miR-34b/c é difundida nos cérebros de pacientes com DP e essa regulação ocorre no início da doença, sendo a causa do estresse oxidativo e disfunção mitocondrial (Minones-Moyano et al. 2011).

A SNpc está localizada na parte ventral do segmento mesencefálico e se interconecta, por meio de sinapses, com outros grupos de neurônios que também constituem os núcleos da base (Howell & Schenck, 2015). Estes conjuntos são de corpos neuronais localizados no interior do hemisfério cerebral, cujos principais componentes são: a SN, o núcleo caudado e o putâmen (CPu), o globo pálido e o núcleo subtalâmico, onde aqueles que constituem o corpo estriado (núcleo caudado, putâmen e globo pálido) estão intimamente interconectados entre si participando do controle da postura e do movimento (Connolly & Lang, 2014; Seidel et al., 2015). Durante a realização do movimento, o córtex sensório - motor envia informações para os gânglios da base e cerebelo e, ambos, enviam sinais para o tálamo, que libera a execução. No indivíduo normal, neurônios dopaminérgicos da SNpc liberam dopamina no estriado, a qual pode tanto estimular neurônios colinérgicos, ligando-se em receptores D1 (acoplados à proteína Gs), a fazer sinapses com neurônios GABAérgicos, freando, assim, o movimento; quanto inibir essa inibição, ligando-se em receptores D2 (acoplados à proteína Gi) e, com isso, liberar o movimento. Numa pessoa com DP, esse ajuste é perdido pela morte neuronal dopaminérgica na via nigro-estriatal, causando um desbalanço entre dopamina e acetilcolina, gerando

movimentos lentos, enrijecidos e, muitas vezes, desenfreados e incontroláveis (Katzung e Trevor, 2017; Capriotti, 2016).

A utilização de modelos animais em pesquisas científicas é de extrema importância, principalmente para os avanços correlacionados à compreensão das causas de uma doença, seus aspectos histológicos e bioquímicos, além do seu tratamento. No caso da DP, existem alguns modelos experimentais que almejam explicar mecanismos fisiopatológicos da degeneração dos neurônios dopaminérgicos da SNpc, uma característica marcante da doença, por meio do uso de toxinas em roedores, como: 1) Contaminantes da heroína sintética: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), que pode ser administrado pela via intranasal; 2) Reserpina: alcalóide responsável por inibir a captação de catecolaminas em vesículas de armazenamento, resultando em redução da quantidade delas em terminais de axônios, podendo ser administrada pela via subcutânea e 3) a 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que é uma análoga da dopamina e precisa ser injetada diretamente no SNC, porque não atravessa a barreira hematoencefálica. A injeção da 6-OHDA pode ser unilateral ou bilateral no CPu, a fim de produzir uma lesão retrógrada dos neurônios da SNpc; diretamente na SNpc ou no feixe prosencefálico medial, o que leva a uma lesão mais rápida e agressiva nesses dois últimos casos (Cruz, 2012; Gama, 2008), comprometendo a sinalização dopaminérgica, além de promover uma ampla resposta inflamatória (Blandini et al., 2008; Blandini et al., 2007).

No presente estudo, optamos por reproduzir o modelo de injeção bilateral de 6-OHDA no CPu de ratos, por ser de baixo custo, bem descrito na literatura e seguro, pois essa toxina não atravessa a BHE. Diversos trabalhos, inclusive do nosso grupo de pesquisa, comprovaram a redução significativa de neurônios dopaminérgicos na SNpc, após injeção de 6-OHDA no CPu (Chao et al., 2012; Falquetto et al., 2017; Guimarães et al., 2013; Pinto et al., 2014; Schwarting & Huston, 1996; Spillantini et al., 1998; Tuppy et al., 2015), além de já terem sido vistas alterações motoras nos animais (Nascimento et al, 2022), demonstrando que o modelo escolhido é capaz de reproduzir os aspectos fisiopatológicos da neuropatia em estudo e alguns dos seus sintomas. Além disso, a injeção da 6-OHDA no CPu promove degeneração retrógrada da via nigroestriatal, de forma lenta e gradativa (Cruz, 2012; Gama, 2008), comparada às injeções diretamente na SNpc ou no feixe prosencefálico medial, mimetizando melhor a DP, o que é importante para avaliar os parâmetros respiratórios em diversas fases do estudo e no desenvolvimento de ferramentas

farmacológicas, além de permitir o estudo de mecanismos de agentes antioxidantes e pró-inflamatórios. No entanto, vale destacar que este modelo não mimetiza de forma fidedigna a fisiopatologia da doença, uma vez que animais tratados com 6-OHDA apresentam uma progressão mais acelerada da patologia se comparada a humanos (KIN et al., 2019), e também não são observadas lesões de neurônios noradrenérgicos no LC e formação de corpos de Lewy.

Por sua similaridade estrutural com as catecolaminas, a 6-OHDA exibe alta afinidade pelo sistema de transporte das mesmas, apresentando seletividade por neurônios catecolaminérgicos. Assim, essa neurotoxina pode entrar nesses neurônios através dos transportadores de seus neurotransmissores, se acumulando no citosol e promovendo a formação de espécies reativas de oxigênio, como superóxidos, quinonas, radicais hidroxila, levando à citotoxicidade e consequente morte neuronal (Blum et al, 2001; Miller et al, 2009). Também pode se acumular dentro das mitocôndrias e bloquear o complexo I da cadeia respiratória, o que interrompe a transferência de elétrons, levando a subsequente inibição respiratória e intensificação do estresse oxidativo (Blandini et al, 2008). Injeções de 6-OHDA também são capazes de induzir processo inflamatório no local da lesão, o qual é caracterizado pelo aumento: dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL- β) (HAAS et al., 2016), da expressão da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), bem como de marcadores de apoptose como a caspase-3 (Hernandez-Baltazar et al, 2013).

No entanto, nem todos os neurônios dopaminérgicos da SNpc são lesados pela 6-OHDA. Estudo em ratos já demonstrou que proteínas de ligação ao cálcio, como a calretinina (CR) e calbindina (CB), exercem influência neuroprotetora a esses neurônios, e que as diferenças na distribuição dessas proteínas podem estar relacionadas às distintas vulnerabilidades dos neurônios e axônios dopaminérgicos à neurotoxina (Tsuboi et al, 2000). A presença dessas subpopulações de neurônios persistentes à 6-OHDA, talvez possa explicar o fato de alguns ratos desenvolverem lesões extensas de neurônios dopaminérgicos na SNpc, e outros não.

1.4 Alterações respiratórias na doença de Parkinson

Como já dito anteriormente, o padrão respiratório é coordenado pelo SNC, que controla ativamente os músculos envolvidos na respiração. Assim, a respiração é controlada por grupamentos neuronais complexos localizados no tronco encefálico,

mais precisamente na região da CRV (Abdala et al., 2009; Smith et al., 2009). Além disso, outras regiões se comunicam com a CRV, participando ativamente da resposta respiratória. Dentre elas podemos citar: áreas mesencefálicas, corticais e pontinas, o NTS, o RTN e os núcleos da rafe (Rioux & Joice, 1993).

Os distúrbios respiratórios que acometem pacientes com DP contribuem significativamente para a morbidade e mortalidade desses indivíduos (De Pandis et al., 2002). Entretanto, o estilo de vida sedentário adotado por esses pacientes, pelas limitações físicas, faz com que as queixas respiratórias sejam pouco frequentes nos primeiros estágios da doença, manifestando-se com a progressão da patologia (Parreira, 2003; Polatli, 2001).

Em geral, uma combinação de distúrbios respiratórios restritivo e obstrutivo está presente (Polatli, 2001; Sathyaprabha, 2005) e diversos aspectos motores da fisiopatologia da DP explicam o aparecimento dessas doenças respiratórias (Parreira, 2003), como a postura hipercifótica somada à rigidez da caixa torácica, que pode reduzir a complacência do tórax (Cardoso e Pereira, 2002; Tamaki et al., 2000). Diversos músculos torácicos precisam contrair e relaxar durante os ciclos respiratórios, porém, a força dos músculos da respiração e a capacidade de contraí-los de forma coordenada encontram-se reduzidas na DP (Tamaki et al., 2000). Dessa forma, a geração dos fluxos respiratórios fica reduzida (Cardoso e Pereira, 2002), levando a volumes e capacidades pulmonares com valores abaixo do esperado e aumento do trabalho respiratório (Inzelberg et al., 2005). Em relação aos aspectos centrais, podemos citar o envolvimento do tronco encefálico. Seccombe e colaboradores (2011) realizaram um estudo com pacientes diagnosticados com DP, sem outra doença neurodegenerativa, respiratória e cardiovascular, além de ausência de anormalidades estruturais da parede torácica ou doença do trato respiratório superior recente. Nesse estudo, eles mostraram que uma resposta ventilatória anormal ao CO₂ é uma característica da DP e independe da presença de fatores mecânicos. Os resultados demonstraram que houve uma diminuição da resposta à hipercapnia em 47% dos pacientes com DP, mas não à hipóxia. Sugeriram que o comprometimento respiratório observado poderia estar associado a uma disfunção de neurônios respiratórios no tronco encefálico, mais precisamente na CRV. Outros estudos demonstraram uma ventilação alveolar reduzida sob hipóxia grave em pacientes com DP, a qual não pôde ser atribuída à restrição mecânica da função pulmonar, sugerindo que a discrepância na reinalação hipóxica progressiva, sob

hipóxia leve e grave, resulte de disfunção na quimiorrecepção associada ao parkinsonismo (Serebrovskaya et al., 1998). Por fim, Benarroch e colaboradores (2003), ao analisarem o encéfalo pós-morte de pacientes que tinham a DP e compará-los ao de pessoas saudáveis, mostraram haver uma redução na densidade de NK1R em uma região que equivale ao preBotC, mostrando uma evidência de que existe neurodegeneração em regiões que controlam a respiração em pacientes que têm a DP.

Trabalhos do nosso grupo de pesquisa, que buscaram investigar alterações respiratórias no modelo experimental da DP induzido pela injeção bilateral de 6-OHDA no CPU, comprovaram a redução significativa de neurônios dopaminérgicos na SNpc (Falquetto et al., 2017; Tuppy et al., 2015), além de outras alterações neuroanatômicas, como diminuição de neurônios que expressam o fator de transcrição Phox2b, sendo de 55% no RTN, 40% no NTSi e 46% no NTSc, após 30 dias da indução do modelo. Após 40 dias, somou-se a essas regiões, a redução de 55% da densidade de NK1R no complexo preBotC e de 52% no GRVLr. Os dados também foram analisados aos 60 dias e, nesse período, observou-se um aumento na perda neuronal ainda maior nessas regiões (Falquetto et al., 2017; Fernandes-Júnior et al., 2018). Em relação às alterações funcionais, mostrou-se uma insuficiência respiratória em repouso e induzida por hipercapnia a partir de 40 dias da indução do modelo, a qual foi associada às reduções de neurônios no RTN, preBotC e GRVLr (Tuppy et al., 2015; Fernandes-Júnior et al., 2018). Também já foi demonstrado que nesse modelo de DP, a redução de neurônios Phox2b no NTSc e NTSi pode estar relacionada à perda de autonomia e função respiratória (Falquetto et al., 2017; Fernandes-Júnior et al., 2018). Assim, alterações neuroanatômicas ocorrem antes das alterações respiratórias funcionais num modelo de DP e existe uma correlação positiva entre esses conjuntos de mudanças (Fernandes-Júnior et al., 2018).

Falquetto e colaboradores (2020), investigaram possíveis causas da morte neuronal em núcleos respiratórios, no modelo experimental 6-OHDA em ratos, e demonstraram que não existe ruptura da BHE, mas ocorre um aumento do estresse oxidativo em neurônios desses núcleos, o qual pode estar relacionado com a desregulação gênica do miRNA-34c, ativando vias de sinalização moleculares pró-apoptóticas ou anti-apoptóticas, dependendo do núcleo respiratório analisado (NTS, GRVLr, preBotC ou RTN). Interessantemente, essas sinalizações pró-apoptóticas

foram vistas 10 dias antes da redução de neurônios envolvidos com a respiração e do aparecimento das alterações respiratórias basais e em resposta à hipercapnia.

Diante do que foi descrito até o momento, é evidente que no modelo experimental 6-OHDA da DP, com injeção da toxina no CPu, a neurodegeneração em mais de 70% ocorre primeiramente na SNpc, via mecanismo retrógrado da via nigroestriatal, 30 dias após a indução (Fernandes-Júnior et al, 2018), seguida de neurodegeneração em grupos respiratórios bulbares e alterações funcionais respiratórias, observadas a partir de 40 dias da injeção da 6-OHDA, devido não somente à disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e apoptose (Falquetto et al, 2020), mas também à deficiência nas projeções de neurônios dopaminérgicos da SNpc a essas regiões que controlam a respiração (Lima et al, 2018). Contudo, não podemos esquecer que de acordo com a teoria de Braak, em humanos, a DP iniciaria com agregados de α -sinucleína no bulbo olfatório e tronco encefálico (estágios 1 e 2, onde sintomas não motores inespecíficos já estariam presentes), os quais seriam causados por um patógeno capaz de atravessar a mucosa gastrointestinal e gerar acúmulo de α -sinucleína em plexos gastroentéricos autônomos, sendo propagado via nervo vago, para o SNC, atingindo tronco encefálico, LC na ponte e, posteriormente a SN no mesencéfalo (diagnóstico, estágios 3 e 4, onde a morte neuronal dopaminérgica na SN e sintomas motores são proeminentes), além de, nos estágios mais avançados (5 e 6) atingir regiões corticais, com prejuízos de memória, distúrbios do sono, dentre outros sintomas não motores (Braak et al, 2003a,b).

1.5 O núcleo do trato solitário (NTS)

O NTS é constituído por grupos heterogêneos de neurônios que estão dispostos dorsalmente no bulbo e que se estendem de forma rostro-caudal, como uma coluna bilateral, desde o nível do polo caudal do núcleo motor do nervo facial até o obex, onde as duas colunas se unem para formar uma única estrutura na linha média, que continua caudalmente até a parte caudal da decussação piramidal (Ciriello e cols, 1994; Ter Horst e Streefland, 1994).

Em relação ao seu aspecto ântero – posterior, o NTS pode ser dividido em 3 porções, dada sua proximidade com a área postrema: NTS rostral, NTSi (medial e lateral) e NTSc (Cottle, 1964). O NTSi e NTSc estão diretamente envolvidos com os controles cardiovascular e respiratório, pois todas as projeções aferentes vagais e

glossofaríngeas que conduzem informações cardio-respiratórias fazem sua primeira sinapse nessas duas porções do NTS. Sabe-se que a porção intermediária constitui o principal sítio de entrada das aferências dos barorreceptores, utilizando L-Glutamato como principal neurotransmissor (Talman et al., 1980; Weston et al., 2003). Já a porção comissural constitui o principal sítio do SNC para o qual se projetam as aferências dos quimiorreceptores periféricos carotídeos (Chitravanshi et al., 1994; Finley e Katz., 1992; Ciriello et al., 1994).

Os quimiorreflexos são os principais mecanismos de controle e regulação das respostas ventilatórias às mudanças de pressão parcial de O₂ e CO₂ arterial. Os quimiorreceptores periféricos, localizados nos corpúsculos carotídeos e aórtico, enviam projeções para o NTS e respondem à hipóxia e à hipercapnia (Wade et al., 1970; Lugliani et al., 1971). Um dos locais em que se encontram os quimiorreceptores centrais são os neurônios que expressam o fator de transcrição Phox2b do RTN que respondem primariamente à hipercapnia (Gelfand et al., 1973). Ambas as respostas às alterações das pressões parciais de O₂ e CO₂ aumentam a ventilação pulmonar.

Vários achados demonstram que o NTS pode desempenhar um papel importante no controle da respiração. Nele, existem neurônios com atividade inspiratória (de Castro et al., 1994; Takeda e Matsumoto, 1997; Tian e Duffin, 1998), neurônios quimiossensíveis (Chitravanshi e Sapru, 1995), neurônios que recebem a inervação resultante da ativação de receptores de adaptação rápida e lenta dos pulmões (Miyazaki et al., 1999; Ezure e Tanaka, 2000; Ezure et al., 2002) e de células sensíveis à inflação pulmonar (Ezure e Tanaka, 2000). Subramanian e colaboradores (2007), descobriram diferentes tipos de células com atividade respiratória distribuídas ao longo do eixo rostrocaudal e mediolateral do NTS, onde cada tipo foi definido baseado na relação temporal das células com a atividade elétrica do músculo diafragma e com seu padrão de disparo de frequência. As células foram divididas em três grupos: inspiratórias, expiratórias ou fásicas. Dos 138 neurônios registrados, a maioria tinha atividade inspiratória e estavam concentrados, principalmente, no NTS ventrolateral e rostral ao obex.

A partir do NTS, as informações provenientes dos receptores periféricos podem ser distribuídas para diversas áreas do SNC, dentre as quais iremos destacar o RTN e a CRV. A via entre os neurônios do NTS e do RTN pode ser excitatória ou inibitória, dependendo da sua aferência. Os neurônios do NTS que recebem inervação dos quimiorreceptores periféricos são excitatórios e inervam os neurônios que expressam

o fator de transcrição Phox2b quimiossensíveis do RTN (Takakura et al., 2006). Já os neurônios do NTS que recebem as aferências dos receptores de distensão pulmonar são inibitórios e também enviam projeções diretas para o RTN (Takakura et al., 2007). As aferências dos quimiorreceptores carotídeos e dos receptores de distensão pulmonar inervam principalmente o NTSc e NTSi, respectivamente (Blessing et al. 1999; Takakura et al., 2007). Além dessa conexão com o RTN, muitos desses neurônios do NTSc projetam-se para os neurônios envolvidos no controle cardiovascular do bulbo ventrolateral (Aicher et al. 1996), cujos neurônios, por sua vez, também podem se projetar para os neurônios da CRV (Dobbins e Feldman, 1994). Acredita-se, também, haver uma possível participação do NTS na modulação da atividade dos neurônios respiratórios dos grupamentos ventral e pontino (Aires, 2018).

Diante do que foi exposto até o momento, fica claro que o NTS é composto por grupos heterogêneos de neurônios que podem estar envolvidos com diferentes atividades respiratórias. No modelo experimental da DP estudado pelo nosso grupo até o momento, foi observada uma redução do número de neurônios Phox2b do NTSi e NTSc de ratos, mas ainda não se sabe qual a função desses neurônios. O que a literatura mostra, em ratos saudáveis, é que a grande maioria dos neurônios que transmitem informações de quimiorreceptores periféricos do NTSc para o RTN são Phox2b, mas esses neurônios representam uma pequena fração de todos os neurônios que expressam Phox2b presentes nessa região, ficando desconhecida a função dos demais (Stornetta et al., 2006).

8 CONCLUSÃO

A DP é uma doença neurodegenerativa progressiva complexa que apresenta distúrbios respiratórios como um dos mais marcantes sintomas não – clássicos. Concluimos que a resposta ventilatória à hipóxia está prejudicada no nosso modelo experimental e pode estar relacionada à redução de neurônios no NTS. Também mostramos que pode existir uma via indireta da SNpc para o NTSc, que passa pela PAG, justificando a perda neuronal observada no NTSc. Além disso, neurônios Phox2b reduzidos no NTS, podem ser os mesmos que são ativados por hipóxia e que se projetam para o RTN, o que seria mais uma explicação para a neurodegeneração do RTN e consequentes disfunções respiratórias em resposta à hipercapnia e hipóxia (Fig. 22). A melhor compreensão dos déficits respiratórios funcionais basais e em resposta à hipóxia, associando esse prejuízo respiratório à redução neuronal em regiões do tronco encefálico envolvidas com a respiração, como o NTS, torna possível testar ferramentas farmacológicas que previnam ou revertam essa neurodegeneração, a fim de desenvolver medicamentos para pacientes com DP que melhorem os déficits respiratórios.

REFERÊNCIAS*

Abdala, A.P. et al. Abdominal expiratory activity in the rat brainstem-spinal Cord in situ: patterns, origins and implications for respiratory rhythm generation. *J. Physiol.*, v. 587, pt.14, p.3539-3559, 2009.

Aicher SA, Saravay RH, Cravo S, Jeske I, Morrison SF, Reis DJ & Milner TA. Monosynaptic projections from the nucleus tractus solitarii to C1 adrenergic neurons in the rostral ventrolateral medulla: Comparison with input from the caudal ventrolateral medulla. *J Comp Neurol* **373**, 62–75, 1996.

AIRES M.D.M. Fisiologia G Elfanda. 5ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2018.

Alheid GF, Jiao W, McCrimmon DR. The caudal nuclei of the rat nucleus of the tractus solitarius differentially innervate the respiratory compartments within the ventrolateral medulla. *Neurosci.* 2011, 190: 207–227, 2011.

Aquino YC, Cabral LM, Miranda NC, Naccarato MC, Falchetto B, Moreira TS. Takakura AC. Respiratory disorders of Parkinson's Disease. *Journal of Neurophysiology*, 363, 2021.

ASCHERIO, A.; SCHWARZSCHILD, M.A. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *The Lancet Neurology*, [s. l.], v. 15, n. 12, 2016.

Bassetti, C.L. Nonmotor disturbances in Parkinson's disease. *Neurodegener. Dis.* 8, 95–108, 2011.

Benarroch E.E., Schmeichel A.M., Low P.A., Parisi J.E. Depletion of ventromedullary NK-1 receptor immunoreactive neurons in multiple system atrophy. *Brain*; 126:2183-2190, 2003.

Berquin P, Bodineau L, Gros F, Larnicol N. Brainstem and hypothalamic areas involved in respiratory chemoreflexes: a Fos study in adult rats. *Brain Res*; Feb 28;857(1-2):30-40, 2000.

Biancardi V, Bicego KC, Almeida MC, Gargaglioni LH. Locus coeruleus noradrenergic neurons and CO2 drive to breathing. *Pflugers Arch* 455: 1119-1128, 2008.

Blandini F, Armentero MT, Martignoni E. The 6-Hydroxydopamine model: new from the past. *Parkinsonism Relat Disord*; 14 Suppl 2:S124-129, 2008.

Blandini F, Levandis G, Bazzini E, et al. 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*; 25(2):397-405, 2007.

* De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

Blessing WW, Yu YH & Nalivaiko E. Medullary projections of rabbit carotid sinus nerve. *Brain Res* 816, 405–410, 1999.

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.*; 65(2):135-72; 2001.

Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, Dekker MC, Squitieri F, Ibanez P, Joesse M, van Dongen JW, Vanacore N, van Swieten JC, Brice A, Meco G, van Duijn CM, Oostra BA, Heutink P. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science*, Jan 10;299(5604):256-9, 2003.

Boscan P, Paton JF. Excitatory convergence of periaqueductal gray and somatic afferents in the solitary tract nucleus: role for neurokinin 1 receptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, Jan;288(1): 262-9, 2005.

Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.*, 24(2):197-211; 2003.

Braak H, Rüb U, Gai WP, Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna)*;110(5):517-36; 2003.

Canteras N.S., Chiavegatto S., do Valle L. E. R., Swanson L.W. Severe Reduction of Rat Defensive Behavior to a Predator by Discrete Hypothalamic Chemical Lesions. *Brain R.* 44, 297–305, 1997.

Capriotti, T., Terzakis, K. Parkinson Disease. *Home Healthcae Now*; 34(6):300–307, 2016.

Cardoso SRX, Pereira JS. Análise da função respiratória na doença de Parkinson. *Arq Neuropsiquiatr*; 60(1):91-5, 2002.

Carnicella S., de Vasconcelos A.P., Pain L., Majchrzak M., Oberling P. Fos immunolabelling evidence for brain regions involved in the Pavlovian degraded contingency effect and in its disruption by atropine. *Neuropharmacology* 51; 102 -111, 2006.

Carrive P. The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization. *Behav Brain Res.*, Dec 20;58(1-2):27-47, 1993.

Cezario A.F., Ribeiro-Barbosa E.R., Baldo M.V.C., Canteras N.S. Hypothalamic sites responding to predator threats – the role of the dorsal premammillary nucleus in unconditioned and conditioned antipredatory defensive behavior. *European Journal of Neuroscience* 28; 1003–1015, 2008.

Chao OU, Pum ME, Li JS, et al. The grid-walking test: assesment of sensorimotor déficits after moderate or severe dopamine depletion by 6-hydroxydopamine lesions in the dorsal striatum and medial forebrain bundle. *Neuroscience*; 202:318-325, 2012.

Chaudhuri, K.R., Odin, P., Antonini, A., Martinez-Martin, P. Parkinson's disease: the non-motor issues. *Parkinsonism Relat. Disord.* 17, 717–723, 2011.

Chitravanshi V.C., Kachroo A., Sapru H.N. A midline area in the nucleus commissuralis of NTS mediates the phrenic nerve responses to carotid chemoreceptor stimulation. *Brain Research.*, 662, 127-133, 1994.

Chitravanshi, V.C., Sapru, H.N. Chemoreceptor-sensitive neurons in commissural subnucleus of nucleus tractus solitarius of the rat. *Am. J. Physiol.* 37, R851–R858, 1995.

Choi D, Hwang S, Lee E, Yoon S, Yoon BK, Bae D. Expression of mitochondria-dependent apoptosis genes (p53, Bax, and Bcl-2) in rat granulosa cells during follicular development. *J Soc Gynecol Investig*, Jul;11(5):311-7, 2004a.

Choi HJ, Lee SY, Cho Y, Hwang O. JNK activation by tetrahydrobiopterin: implication for Parkinson's disease. *J Neurosci Res.*, Mar 1;75(5):715-21, 2004b.

Ciriello J., Hochstenbah S.L., Roder S. Central projections of baroreceptor and chemoreceptor afferents fibers in the rat. In: I.R.A Barraco (Ed.), *Nucleus of the solitary tract*. Boca Raton, FL, CRC Press, PP 35-50, 1994.

Coates EL, Li A, Nattie EE. Widespread sites of brain stem ventilatory chemoreceptors. *J Appl Physiol* 75: p 5-14, 1993.

Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*; 311(16):1670-1683, 2014.

Cottle MA. Degeneration studies of the primary afferents of the IXth cranial nerves in cat. *J. Comp. Neurol.* 122: 329-345, 1964.

CRUZ, L. H. S., Exercício forçado e prévio à lesão melhora parâmetros motores e produção de fatores neurotróficos em modelo experimental da doença de Parkinson. 127 f. Tese (Doutorado em Neurociências) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

De Castro, D., Lipski, J., Kanjhan, R. Electrophysiological study of dorsal respiratory neurons in the medulla oblongata of the rat. *Brain Res.* 639, 49–56, 1994.

De Pandis MF, Starace A, Stefanelli F, Marruzo P, Meoli I, De Simone G, Prati R, Stocchi f. Modification of respiratory function parameters in patients with severe Parkinson's disease. *Neurol Sci*; 23:69-70, 2002.

Deutch AY, Elsworth JD, Goldstein M, Fuxe K, Redmond DE Jr, Sladek JR Jr, Roth RH. Preferential vulnerability of A8 dopamine neurons in the primate to the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neurosci Lett*, Jul 11;68(1):51-6, 1986.

Dickson, D.W., Fujishiro, H., Orr, C., DelleDonne, A., Josephs, K.A., Frigerio, R., Burnett, M., Parisi, J.E., Klos, K.J., Ahlskog, J.E. Neuropathology of non-motor features of Parkinson disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 15 (Suppl. 3), S1–S5, 2009.

Dirkx, M., Helmich, R. Pathophysiology and Management of Parkinsonian Tremor. *Seminars in Neurology*, 37(02), 127–134, 2017.

Dobbins E.G., Feldman J.L. Brainstem Network Controlling Descending Drive to Phrenic Motoneurons in Rat. *The Journal of Comparative Neurology* 347, 64-86, 1994.

Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto G, Siderowf A, Tanner CM. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*. Jan 30;68(5):384-6, 2007.

Elam M, Yao T, Thoren P, Svensson TH. Hypercapnia and hypoxia: Chemoreceptor-mediated control of locus coeruleus neurons and splanchnic, sympathetic nerves. *Brain Res* 222: 373-381, 1981.

Erickson JT, Millhorn DE. Fos-like protein is induced in neurons of the medulla oblongata after stimulation of the carotid sinus nerve in awake and anesthetized rats. *Brain Res.*, Dec 13;567(1):11-24, 1991.

Ezure, K., Tanaka, I. Identification of deflation-sensitive inspiratory neurons in the dorsal respiratory group of the rat. *Brain Res.* 883, 22–30, 2000.

Ezure, K., Tanaka, I., Saito, Y., Otake, K. Axonal projections of pulmonary slowly adapting receptor relay neurons in the rat. *J. Comp. Neurol.* 446, 81–94, 2002.

Falquetto B, Thieme K, Malta MB, E Rocha KC, Tuppy M, Potje SR, Antoniali C, Rodrigues AC, Munhoz CD, Moreira TS, Takakura AC. Oxidative stress in the medullary respiratory neurons contributes to respiratory dysfunction in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. *J Physiol.*;598(22):5271-5293; 2020.

Falquetto, B., Tuppy, M., Potje, R. S., Moreira, T. S., Antoniali, C., & Takakura, AC. Cardiovascular dysfunction associated with neurodegeneration in an experimental model of Parkinson's disease. *Brain Research*, 1657(15), 156–166, 2017.

FELDMAN JL, DEL NEGRO CA, GRAY PA. Understanding the rhythm of breathing: so near, yet so far. *Annu Rev Physiol*, 75:p 423-542, 2013.

Fernandes-Junior SA, Oliveira LM, Czeisler CM, Mo X, Roy S, Somogyi A, Zhang L, Moreira TS, Otero JJ, Takakura AC. Stimulation of retrotrapezoid nucleus Phox2b-expressing neurons rescues breathing dysfunction in an experimental Parkinson's disease rat model. *Brain Pathol.*; 30(5):926-944; 2020.

Fernandes-Junior, S. A., Carvalho, K. S., Moreira, T. S., & Takakura, A.C. Correlation between neuroanatomical and functional respiratory changes observed in an

experimental model of Parkinson's disease. *Experimental Physiology*, 103, 1377–1389, 2018.

Finley, J.C.W. and Katz, D.M., The central organization of carotid body afferent projections to the brainstem of the rat. *Brain Research.*, 572, 108-116,1992.

Flor KC, Barnett WH, Karlen-Amarante M, Molkov YI, Zoccal DB. Inhibitory control of active expiration by the Bötzing complex in rats. *J Physiol.*, Nov;598(21):4969-4994., 2020.

Fulceri F, Biagioni F, Lenzi P, et al. Nigrostriatal damage with 6-OHDA: validation of routinely applied procedures. *Ann N Y Acad Sci*; 1074:344-348, 2006.

GAMA, M. C., Investigação do potencial terapêutico da cafeína em um modelo experimental da doença de Parkinson. 74f. Dissertação (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2008.

GARGAGLIONI LH, HARTZLER LK, PUTNAM RW. The locus coeruleus and central chemosensitivity. *Respir Physiol Neurobiol*, 173(3): p 264-723, 2010.

Gasparini S., Howland J.M., Thatcher A.J., Geerling J.C. Central afferents to the nucleus of the solitary tract in rats and mice. *Journal of Comparative Neurology*; Nov 1; 528(16):2708-2728, 2020.

Gazewood, J. D., Richards, V. D. R., Clebak, M. D. K. Parkinson Disease: An Update. *American Family Physician*. 87:4, 2013.

Gelfand R, Lambertsen CJ. Dynamic respiratory response to abrupt change of inspired CO₂ at normal and high PO₂. *J Appl Physiol*; 35 (6): 903-13, 1973.

German DC, Dubach M, Askari S, Speciale SG, Bowden DM. 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonian syndrome in *Macaca fascicularis*: which midbrain dopaminergic neurons are lost? *Neuroscience*, Jan;24(1):161-74, 1988.

GREER J.J, FUNK G.D. Respiration. In: *Neuroscience in the 21st Century*, Volkow NDPlaff, DW. 1^a ed. Springer, 2013. Cap 45. P 1423-1461

Guimarães J, Moura E, Silva E, et al. Locus coeruleus is involved in weight loss in a rat model of Parkinson's disease: an effect reversed by deep brain stimulation. *Brain Stimul*; 6(6):845-855, 2013.

HAAS, S. J. P. et al. Expression of *tgfb1* and inflammatory markers in the 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 9, n. FEB, 3 fev. 2016.

Hernandez-Baltazar D, Mendoza-Garrido ME, Martinez-Fong D. Activation of GSK-3 β and caspase-3 occurs in Nigral dopamine neurons during the development of apoptosis activated by a striatal injection of 6-hydroxydopamine. *PLoS One.*; 5;8(8): e70951; 2013.

Holstege G. Anatomical study of the final common pathway for vocalization in the cat. *J Comp Neurol.*, Jun 8;284(2):242-52., 1989.

Holstege G. The emotional motor system and micturition control. *Neurourol Urodyn.*; 29(1):42-8, 2010.

Howell MJ, Schenck CH. Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder and Neurodegenerative Disease. *JAMA. Neurol*, 2015.

Inzelberg R, Peleg N, Nisipeanu P, Nagdle R, Carasso RL, Weiner P. Inspiratory muscle training and the perception of dyspnea in Parkinson's disease. *Can. J. Neurol. Sci*, 32:213-17, 2005.

Jellinger KA. Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: evaluation and changes of concepts. *Mov Disord*, Jan;27(1):8-30, 2012.

Kalia, L. V., & Lang, A. E. Parkinson's disease. *The Lancet*, 386, 896–912, 2015.

KATZUNG B.G., TREVOR A.J. *Farmacologia Básica e Clínica*. 13ª edição. Porto Alegre: AMGH. 2017.

Kawai Y. Differential Ascending Projections From the Male Rat Caudal Nucleus of the Tractus Solitarius: An Interface Between Local Microcircuits and Global Macrocircuits. *Front Neuroanat*, Jul 24;12:63, 2018.

Kin K, Yasuhara T, Kameda M, Date I. Animal Models for Parkinson's Disease Research: Trends in the 2000s. *Int J Mol Sci*; 30;20(21):5402, 2019.

Koziorowski D, Figura M, Milanowski ŁM, Szlufik S, Alster P, Madetko N, Friedman A. Mechanisms of Neurodegeneration in Various Forms of Parkinsonism-Similarities and Differences. *Cells*, Mar 16;10(3):656, 2021.

Krause KL, Forster HV, Davis SE, Kiner T, Bonis JM, Pan LG, Qian B. Focal acidosis in the pre-Botzinger complex area of awake goats induces a mild tachypnea. *J Appl Physiol* 106: 241-250, 2009.

Krukoff TL, Harris KH, Jhamandas JH. Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Brain Res Bull.*;30(1-2):163-72, 1993.

Kumar NK, Velic A, Soliz J, Shi Y, Li K, Wang S, Weaver JL, Sen J, Abbott SB, Lazarenko RM, Ludwig MG, Perez-Reyes E, Mohebbi N, Bettoni C, Gassmann M, Suply T, Seuwen K, Guyenet PG, Wagner CA, Bayliss DA. Regulation of breathing by CO₂ requires the proton-activated receptor GPR4 in retrotrapezoid nucleus neurons. *Science* 348: p 1255–1260, 2015.

Lee VM, Trojanowski JQ. Mechanisms of Parkinson's disease linked to pathological alpha-synuclein: new targets for drug discovery. *Neuron* 52:33– 38, 2006.

Li A, Randall M, Nattie EE. CO₂ microdialysis in retrotrapezoid nucleus of the rat increases breathing in wakefulness but not in sleep. *J Appl Physiol* 87: 910-919, 1999.

Li P, Janczewski WA, Yackle K, Kam K, Pagliardini S, Krasnow MA, Feldman JL. The peptidergic control circuit for sighing. *Nature* n° 530: p 293–297, 2016.

Lima J.C., Oliveira L.M., Botelho M.T., Moreira T.S., Takakura A.C. The involvement of the pathway connecting the substantia nigra, the periaqueductal gray matter and the retrotrapezoid nucleus in breathing control in a rat model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 302: p 46-56, 2018.

Loffler LA, Radke S, Morawetz C, et al. Emotional dysfunctions in neurodegenerative diseases. *J Comp Neurol*. 2015.

Ita, R.L. et al. Expression of Phox2b by brainstem neurons involved in Chemosensory integration in the adult rat. *J. Neurosci.*, v. 26, n. 40, p. 10305-10314, 2006.

Lugliani RB, Whipp BJ, Seard C, Wasserman K. Effect of bilateral carotid-body resection on ventilatory control at rest and during exercise in man. *N Engl J Med*; 285 (20): 1105-11, 1971.

Malan A. Ventilation measured by body plethysmography in hibernating mammals and in poikilotherms. *Respir Physiol.*, Jan;17(1):32-44, 1973.

Malheiros Lima MR, Silva JN, Souza FC, Takakura AC, Moreira TS. C1 neurons are part of the circuitry that recruits active expiration in response to the activation of peripheral chemoreceptors. *Elife* 23;9: p 525-72, 2020.

Martino PF, Davis S, Opansky C, Krause K, Bonis JM, Pan LG, Qian B, Forster HV. The cerebellar fastigial nucleus contributes to CO₂-H⁺ ventilatory sensitivity in awake goats. *Respir Physiol Neurobiol* 157: 242-251, 2007.

Miller RL, James-Kracke M, Sun GY, Sun AY. Oxidative and inflammatory pathways in Parkinson's disease. *Neurochem Res.*; 34(1):55-65; 2009.

Miñones-Moyano E, Porta S, Escaramís G, Rabionet R, Iraola S, Kagerbauer B, Espinosa-Parrilla Y, Ferrer I, Estivill X, Martí E. MicroRNA profiling of Parkinson's disease brains identifies early downregulation of miR-34b/c which modulate mitochondrial function. *Hum Mol Genet*, Aug 1;20(15):3067-78, 2011.

Miyazaki, M., Tanaka, I., Ezure, K. Excitatory and inhibitory synaptic inputs shape the discharge pattern of pump neurons of the nucleus tractus solitari in the rat. *Exp. Brain Res*. 129,191–200, 1999.

Moreira TS, Sobrinho CR, Falquetto B, Oliveira LM, Lima JD, Mulkey DK, Takakura AC. The retrotrapezoid nucleus and the neuromodulation of breathing. *Journal of Neurophysiology* n° 497: dez-2020.

MORENS, D.M. *et al.* Epidemiologic observations on Parkinson's disease: Incidence and mortality in a prospective study of middle-aged men. *Neurology*, [s. l.], v. 46, n. 4, 1996.

Murali S, Nurse AC. Purinergic signalling mediates bidirectional crosstalk between chemoreceptor type I and glial-like type II cells of the rat carotid body. *J Physiol* 15;594(2): p 391-406, Jan 2016.

Nascimento ALF, Medeiros POS, Pedrão LFAT, Queiroz VC, Oliveira LM, Novaes LS, Caetano AL, Munhoz CD, Takakura AC, Falquetto B. Oxidative Stress Inhibition Via Apocynin Prevents Medullary Respiratory Neurodegeneration and Respiratory Pattern Dysfunction in a 6-Hydroxydopamine Animal Model of Parkinson's Disease. *Neuroscience*; 15(502):91-106, 2022.

Nattie E, Li A. Central chemoreceptors: locations and functions. *Compr Physiol* 2(1): p 221-54, Jan 2012.

Nattie E, Li A. Retrotrapezoid nucleus lesions decrease phrenic activity and CO₂ sensitivity in rats. *Respir Physiol* 97: 63-77, 1994.

Nattie EE, Li A. CO₂ dialysis in nucleus tractus solitarius region of rat increases ventilation in sleep and wakefulness. *J Appl Physiol* 92: 2119-2130, 2002.

Oliveira L.M., Tuppy M., Moreira T.S., Takakura A.C. Role of the locus coeruleus catecholaminergic neurons in the chemosensory control of breathing in a Parkinson's disease model. *Experimental Neurology* 293, 172–180, 2017.

Parkinson J. An Essay on the Shaking Palsy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 14: 830, 223–236, 2002.

Parreira VF, Guedes LU, Quintão DG, Silveira EP, Tomich GM, Sampaio RF. Padrão respiratório em pacientes portadores da doença de Parkinson e em idosos assintomáticos. *Acta Fisiátrica*;10(2):61-6, 2003.

Pinto S, ferraye M, Espesser R, et al. Simulation of the pedunculo pontine nucleus área in Parkinson's disease: effects on speech na intelligibility. *Brain*;137(Pt 10):2759-2772, 2014.

Polatli M, Akyol A, Cildag O, Bayulkem K. Pulmonary function tests in Parkinson's disease. *Eur J Neurol*;8(4):341-5, 2001.

Rinaman L. Ascending projections from the caudal visceral nucleus of the solitary tract to brain regions involved in food intake and energy expenditure. *Brain Res.Sep* 2;1350:18-34., 2010.

Rioux L, Joyce JN. Substance P receptors are differentially affected in Parkinson's and Alzheimer's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect*;6(3):199-210, 1993.

Sapru HN. Quimiorreflexo carotídeo. Vias neurais e transmissoras. *Adv. Exp. Med. Biol.* 410, p 357–364, 1996.

Sathyaprabha TN, Kapavarapu PK, Pal PK, Thennarasu K, Raju TR. Pulmonary functions in Parkinson's disease. *Indian J Chest Dis Allied Sci*;47:251-257, 2005.

Schaffar N, Kessler JP, Bosler O, Jean A. Central serotonergic projections to the nucleus tractus solitary: evidence from a double labeling study in the rat. *Neuroscience*, Sep;26(3):951-8, 1988.

Schreihöfer A.M., Guyenet P.G. Identification of C1 Presympathetic Neurons in Rat Rostral Ventrolateral Medulla by Juxtacellular Labeling In Vivo. *The Journal of Comparative Neurology* 387; 524–536, 1997.

Schulz JB, Falkenburger BH. Neuronal pathology in Parkinson's disease. *Cell Tissue Res.* Oct;318(1):135-47, 2004.

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

Secombe, L. M., Giddings, H. L., Rogers, P. G., Corbett, A. J., Hayes, M. W., Peters, M. J., & Veitch, E. M. Abnormal ventilatory control in Parkinson's disease—further evidence for non-motor dysfunction. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 179(2–3), 300–304, 2011.

Seidel, K, Mahlke J, Siswanto S, et al. The brainstem pathologies of Parkinson's disease and Dementia with Lewy Bodies; 25: 121-135, 2015.

Serebrovskaya T., Karaban I., Mankovskaya I., Bernardi L., Passino C., Appenzeller O. Hypoxic ventilatory responses and gas exchange in Parkinson's disease patients. *Respiration*; 65: 28–33, 1998.

Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, Bar-Shira A, Berg D, Bras J, Brice A, Chen CM, Clark LN, Condroyer C, De Marco EV, Dürr A, Eblan MJ, Fahn S, Farrer MJ, Fung HC, Gan-Or Z, Gasser T, Gershoni-Baruch R, Giladi N, Griffith A, Gurevich T, Januario C, Kropp P, Lang AE, Lee-Chen GJ, Lesage S, Marder K, Mata IF, Mirelman A, Mitsui J, Mizuta I, Nicoletti G, Oliveira C, Ottman R, Orr-Urtreger A, Pereira LV, Quattrone A, Rogaeva E, Rolfs A, Rosenbaum H, Rozenberg R, Samii A, Samadpour T, Schulte C, Sharma M, Singleton A, Spitz M, Tan EK, Tayebi N, Toda T, Troiano AR, Tsuji S, Wittstock M, Wolfsberg TG, Wu YR, Zabetian CP, Zhao Y, Ziegler SG. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med.*, Oct 22;361(17):1651-61, 2009.

Silva JN, Oliveira LM, Souza FC, Moreira TS, Takakura AC. Distinct pathways to the parafacial respiratory group to trigger active expiration in adult rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, Sep 1;317(3):L402-L413, 2019.

Smith, J.C. et al. Structural and functional architecture of respiratory networks in the mammalian brainstem. *Philos Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, v. 364, n. 1529, p.2577-2587, 2009.

Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, et al. Alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci USA*; 95(11):6469-6473, 1998.

Stone E, Coote JH, Allard J, Lovick TA. GABAergic control of micturition within the periaqueductal grey matter of the male rat. *J Physiol.*, Apr 15;589(Pt 8):2065-78, 2011.

Subramanian HH, Balnave RJ, Holstege G. The midbrain periaqueductal gray control of respiration. *J Neurosci.*, Nov 19;28(47):12274-83, 2008.

Subramanian HH, Holstege G. Periaqueductal gray control of breathing. *Adv Exp Med Biol.*; 669:353-8, 2010.

Subramanian HH. 2013. Descending control of the respiratory neuronal network by the midbrain periaqueductal gray in the rat in vivo. *J Physiol* 591: p 109–122, 2013.

Subramanian HH., Chin Moi Chowb., Ron J. Balnavea. Identification of different types of respiratory neurones in the dorsal brainstem nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res.* 141, 1 1 9 – 1 3 2, 2007.

Sunanaga J, Deng BS, Zhang W, Kanmura Y, Kuwaki T. CO₂ activates orexin-containing neurons in mice. *Respir Physiol Neurobiol* 166: 184-186, 2009.

Takakura A.C., Moreira T.S., Colombari E., West G.H., Stornetta R.L., Guyenet P.G. Peripheral chemoreceptor inputs to retrotrapezoid nucleus (RTN) CO₂-sensitive neurons in rats. *J Physiol.* 572.2, 503–523, 2006.

Takakura A.C., Moreira T.S., Stornetta R.L., West G.H., Gwilt J.M., Guyenet P.G. Selective lesion of retrotrapezoid Phox2b-expressing neurons raises the apnoeic threshold in rats. *J Physiol* 586.12: p 2975–2991, 2008.

Takakura A.C., Moreira T.S., West G.H., Gwilt J.M., Colombari E., Stornetta R.L., Guyenet P.G. GABAergic Pump Cells of Solitary Tract Nucleus Innervate Retrotrapezoid Nucleus Chemoreceptors. *J Physiol.* 98, 374–391, 2007.

Takeda, M., Matsumoto, S. Discharge patterns of dorsal and ventral respiratory group neurons during spontaneous augmented breaths observed in pentobarbital anaesthetised rats. *Brain Res.* 749, 95–100, 1997.

Talman WT, Perrone MH, Reis DJ. Evidence for L- glutamate as a neurotransmitter of primary baroreceptor afferent nerve fibers. *Science* 209: 813-815, 1980.

Tamaki A, Matsuo Y, Yanagiharan T, Abe K. Influence of thoracoabdominal movement on pulmonary function in patients with Parkinson's disease: comparison with healthy subjects. *Neurorehabil Neural Repair*;14(1):43-7, 2000.

Ter Horst G.J., Streefland C. Ascending projections of the solitary tract nucleus. In: Robin I., Barroco A. *Nucleus of the solitary tract*. Boca Raton, FL, CRC Press, PP 93-103, 1994.

Tian, G.F., Duffin, J. The role of dorsal respiratory group neurons studied with cross-correlation in the decerebrate rat. *Exp. Brain Res.* 121, 29–34, 1998.

Trotti LM, Bliwise DL. Treatment of the sleep disorders associated With Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*;11(1):68-77, 2014.

Truong, D.D., Bhidayasiri, R., Wolters, E. Management of non-motor symptoms in advanced Parkinson disease. *J. Neurol. Sci.* 266, 216–228, 2008.

TSUBOI, K.; KIMBER, T. A.; SHULTS, C. W. Calretinin-containing axons and neurons are resistant to an intrastriatal 6-hydroxydopamine lesion. *Brain Research*, v. 866, n. 1–2, p. 55–64, jun. 2000.

Tuppy M.; Barna BF.; Alves-Dos-Santos L.; Britto LR.; Chiavegatto S.; Moreira TS.; Takakura AC. Respiratory deficits in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience*, v.297, p.194-204, 2015.

Wade JG, Larson CP Jr, Hickey RF, Ehrenfeld WK, Severinghaus JW. Effect of carotid endarterectomy on carotid chemoreceptor and baroreceptor function in man. *N Engl J Med*; 282 (15): 823-9, 1970.

Weiss, P., Hiscoe, HB. Experiments on the mechanism of nerve growth. *Journal of Experimental Zoology*; 107(3): 315–395, 1948.

WEST J.B. *Fisiologia Respiratória: princípios básicos*. 9ª edição. São Paulo: Artmed. 2013

Weston M, Wang H, Stornetta RL, Sevigny CP & Guyenet PG. Fos expression by glutamatergic neurons of the solitary tract nucleus after phenylephrine-induced hypertension in rats. *J Comp Neurol* 460: 525-541, 2003.

Wolters, E.C.h. Non-motor extranigral signs and symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 15 (Suppl. 3), S6–S12, 2009.

Zhang SP, Bandler R, Carrive P. Flight and immobility evoked by excitatory amino acid microinjection within distinct parts of the subtentorial midbrain periaqueductal gray of the cat. *Brain Res.*, Jun 18;520(1-2):73-82, 1990.

Zhang SP, Davis PJ, Bandler R, Carrive P. Brain stem integration of vocalization: role of the midbrain periaqueductal gray. *J Neurophysiol.*, Sep;72(3):1337-56, 1994.

ZOCCAL D.B; AMARANTE M.K. *Mecânica Respiratória*. In: *Tratado de Fisiologia Médica*, Sato, MK. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2019. Cap.31, parte 5. P 1-11

