PRISCILA CRESPO GARCIA

O IMPACTO DO EXERCÍCIO FÍSICO A CURTO E A LONGO PRAZO NA EVOLUÇÃO DA DOENÇA DE PARKINSON EM RATOS

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

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto G. Britto

Versão Original

São Paulo
2016

RESUMO

GARCIA, P.C. **O impacto do exercício físico a curto e a longo prazo na evolução da doença de Parkinson em ratos.** 2016. 77 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra (SN) é típica na doença de Parkinson (DP) e esta é responsável pela hiperexcitabilidade dos neurônios espinais médios resultante de uma neurotransmissão glutamatérgica corticoestriatal anormal, que pode provocar dentre outros danos, déficits motores característicos da doença. Considerando os efeitos neuroprotetores promovidos pelo exercício físico, o objetivo deste estudo foi observar o impacto do exercício realizado a curto e a longo prazo durante a evolução da lesão por 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) em ratos. Para isso, foram utilizados ratos Wistar, divididos em grupos sedentário/exercitado, com/sem lesão por 6-OHDA, acompanhados por um período máximo de 4 meses. Animais dos grupos exercitados foram submetidos ao exercício em esteira de intensidade moderada, 3xsemana. Foram mensurados por imuno-histoquímica e *immunoblotting* as proteínas tirosina hidroxilase (TH), proteína do citoesqueleto regulada por atividade (Arc), receptores glutamatérgicos tipo AMPA GluA1 e GluA2/3, proteína associada ao microtúbulo 2 (MAP2), neurofilamentos e fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) nas regiões da SN, estriado (CPu) e córtex motor (CxM). Nossos resultados mostraram maior redução da expressão de TH em todos os grupos sedentários em comparação aos grupos exercitados, indiferentemente do tempo de treinamento. Entre as proteínas estruturais (MAP2 e neurofilamentos) observamos um aumento crescente de MAP2 no CPu, que evolui desde o primeiro até o último mês de treinamento, e ocorre apenas nos animais exercitados. Já na SN, essa diferença entre grupos ocorreu apenas no último mês no grupo treinado. Porém, quando se observou apenas as ramificações dopaminérgicas na SN, notou-se que a maior diferença entre grupos está no grupo treinado por 1 mês, que mostrou menor perda da arborização quando comparado aos animais sedentários. Para os receptores AMPA, e Arc, em geral, as maiores alterações ocorreram no CPu, no primeiro e terceiro mês de exercício. Enquanto após 1 mês de exercício, há aumento de expressão de GluA2/3, a expressão de GluA1 e Arc parecem reduzidas, e após 3 meses de treinamento essa relação se inverte, mostrando redução da expressão de GluA2/3 e aumento de Arc nos animais exercitados. Essa relação não foi bem evidente nos animais sedentários. Resultados similares foram visualizados no CxM dos animais exercitados. Por último, a resposta do BDNF frente ao exercício foi observada com aumento da expressão principalmente no primeiro mês de treinamento. No segundo mês de treinamento ocorreu uma redução da expressão, que volta a aumentar mais acentuadamente no último mês de treinamento.

Essas modificações podem ser relevantes para o circuito corticoestriatal, uma vez que a plasticidade dependente do exercício é capaz de modular a excitabilidade neuronal, reduzindo a hiperexcitabilidade glutamatérgica encontrada na DP. Além disso, nossos resultados conseguem deixar claro que diferentes tempos de exercício físico podem orquestrar alterações nos níveis de

expressão de proteínas promovendo um balanço homeostático, e assim modular a hiperexcitabilidade cortical. De forma geral, estes resultados suportam os potenciais efeitos do exercício físico em alterar a conectividade sináptica dos circuitos corticoestriatal e nigroestriatal em uma situação de depleção dopaminérgica, e assim, possivelmente modificar a progressão da doença em indivíduos com DP.

Palavras-chave: Doença de Parkinson. 6-OHDA. Exercício físico. Receptores glutamatérgicos AMPA. Arc.

ABSTRACT

GARCIA, P.C. **The impact of short and long-term exercise during evolution of the Parkinson's disease in rats.** 2016. 77 p. Ph.D. thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

The loss of nigral dopaminergic neurons characteristic of Parkinson's disease (PD) is responsible for hyperexcitability of medium spinal neurons resulting in abnormal corticostriatal glutamatergic neurotransmission, which can cause, among other alterations, motor deficits typical of that disease. Considering the neuroprotective effects of exercise, the aim of this study was to observe the impact of short and long-term exercise during evolution of the 6-hydroxy-dopamine (6-OHDA) animal model of PD. Wistar rats were divided into sedentary and exercised groups, with and without lesion by 6-OHDA and followed up to 4 months. The exercise groups were subjected to a moderate treadmill exercise protocol 3 times a week. We measured the proteins tyrosine hydroxylase (TH), activity-regulated cytoskeleton-associated protein (ARC), glutamatergic receptors AMPA type GluA1 and GluA2/3, microtubule-associated protein 2 (MAP2), neurofilaments and brain derived neurotrophic factor (BDNF) in the substantia nigra (SN), striatum and motor cortex (CxM) by immunohistochemistry and *immunoblotting*. Our results showed a higher reduction of TH expression in all sedentary groups when compared to all exercised groups, in striatum and SN, independent of protocol duration. For the structural proteins (MAP2 and neurofilaments), we observed an increase of MAP2 expression in striatum, which occurs from the first to the last month of training only in the exercised animal groups. In the SN, the difference between groups occurred only in the last month in the exercised groups. However, when analyzed only the dopaminergic dendritic branches in SN, we found that the higher difference between groups occurred in the exercised group for one month, showing less loss of branches when compared to sedentary animals. For AMPA receptors and Arc, in general, larger changes occurred in the striatum in the first and third month after training. While after one month of exercise there was a significant increase of GluA2/3, the GluA1 and Arc expression was reduced, and after 3 months of training this relationship was reversed, showing reduced expression of GluA2/3 and increase of Arc in exercised animals. This relationship is not well seen in the sedentary animals. Similar results were observed in the CxM of the exercised animals. Finally, the response of BDNF to exercise was observed with increase of expression especially in the first month of training. In the second month of training there was a reduction in the expression, that returns to an increase in the last month of training. These modifications may be relevant for corticostriatal circuits, since the exercise-dependent plasticity can modulate neuronal excitability by reducing glutamatergic hyperexcitability found in PD. In addition, our results showed that different times of exercise can generate changes in protein expression possibly promoting a homeostatic balance, and thus modulating cortical hyperexcitability. Overall, these results reinforce the potential effects of exercise to change synaptic connectivity of corticostriatal and nigrostriatal circuits in a dopaminergic depletion state, and to possibly modify the progression of the disease in patients with PD.

Keywords: Parkinson’s disease. 6-OHDA. Exercise. AMPA glutamatergic receptors. Arc.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) e seus distúrbios foram descritos pela primeira vez em 1817, por James Parkinson (PARKINSON, 2002) e essa atualmente é a doença crônica neurodegenerativa mais prevalente após a Doença de Alzheimer (ALVAREZ-FISCHER et al., 2008). A DP é uma doença neurodegenerativa, progressiva, caracterizada histologicamente pela diminuição de neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo, especialmente na substância negra parte compacta (SNc), resultando em uma diminuição da produção de dopamina (DA) e consequente perda dopaminérgica estriatal (BURCH; SHEERIN, 2005; STOTT; BARKER, 2014; WIRDEFELDT et al., 2011). Outra característica histológica da DP é o acúmulo de proteínas insolúveis como a alfa-sinucleína em inclusões citoplasmáticas (corpos de Lewy) nos neurônios dopaminérgios da SNc e, em alguns casos, em neurônios não-dopaminérgicos (BLANDINI; ARMENTERO, 2012). Devido o envolvimento da DA na modulação dos movimentos voluntários, a DP é clinicamente caracterizada pelos sintomas motores: bradicinesia/acinesia, tremor de repouso, rigidez muscular e instabilidade postural (AIRAVAARA et al., 2012; BURCH; SHEERIN, 2005). Além dos sintomas motores, um outro fator importante envolvido na DP é a presença de alterações cognitivas. O quadro demencial na DP geralmente instala-se em fases mais adiantadas da evolução da doença e tem como principais características a lentidão de pensamentos, apatia, comprometimento da memória e depressão (AARSLAND et al., 2003). Em um estudo longitudinal mostrando a relação de demência e DP registra-se que é alta a prevalência do desenvolvimento da demência na DP, acometendo 78% de uma base populacional e representativa de pacientes com a doença (AARSLAND et al., 2003). A presença da demência na DP está entre os preditores do aumento da taxa de mortalidade, que inclui também a gravidade da doença (medida pela escala de Hoehn e Yarh) e o acometimento da doença com idade precoce (WIRDEFELDT et al., 2011).

A etiologia da DP ainda não é bem esclarecida, porém estudos epidemiológicos indicam alguns fatores que podem contribuir para o

desenvolvimento da doença. Entre esses fatores, está a exposição a pesticidas, herbicidas, produtos químicos industriais, além de alguns metais, solventes orgânicos e monóxido de carbono (OLANOW; TATTON, 1999; WIRDEFELDT et al., 2011). Além disso, estudos mostram que fatores genéticos podem estar envolvidos na etiologia. Aproximadamente 5-10% dos pacientes com DP têm uma forma familiar de parkinsonismo com um padrão autossômico dominante de herança (GOLBE, 1990). Além desses fatores que podem contribuir para a patogênese da doença, há alguns processos subjacentes à degeneração dos neurônios dopaminérgicos que ocorrem na DP, tais como disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, toxicidade por glutamato e apoptose (BLANDINI et al., 2000; BLUM et al., 2001). A disfunção na fosforilação oxidativa tem um papel importante na patogênese da DP. Essa disfunção ocorre por anormalidades na atividade do complexo I da mitocôndria, que expõe as células ao estresse oxidativo e produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), provocando danos e/ou morte celular. Vários marcadores biológicos de danos oxidativos estão elevados nos cérebros de pacientes parkinsonianos. Além disso, consistente com o aumento de EROs, o nível de glutationa (antioxidante) está reduzida nos cérebros desses pacientes (DAUER; PRZEDBORSKI, 2003). Apesar da existência de morte dos neurônios dopaminérgicos, estudos mostram que a eficiência dopaminérgica é mantida, principalmente durante o período que antecede os primeiros sintomas clínicos da DP. O aparecimento dos primeiros sintomas motores característicos da doença ocorre quando há perda de aproximadamente 30% dos neurônios dopaminérgicos da SNc junto a um déficit de aproximadamente 80% do nível de dopamina estriatal (BEZARD; GROSS, 1998; NANDHAGOPAL et al., 2011). Esse retardo do aparecimento dos sintomas motores ocorrem devido a existência de mecanismos compensatórios que são capazes de mascarar essa perda dopaminérgica. Vários fatores estão envolvidos nesses mecanismos de compensação; entre eles está o processo de plasticidade neuronal, aumento da síntese e da atividade dopaminérgica, a transferência da função dopaminérgica para outros sistemas não dopaminérgicos, entre outros (BEZARD; GROSS, 1998; CALNE; ZIGMOND, 1991; ZIGMOND et al., 1990).

1.2 Núcleos da Base

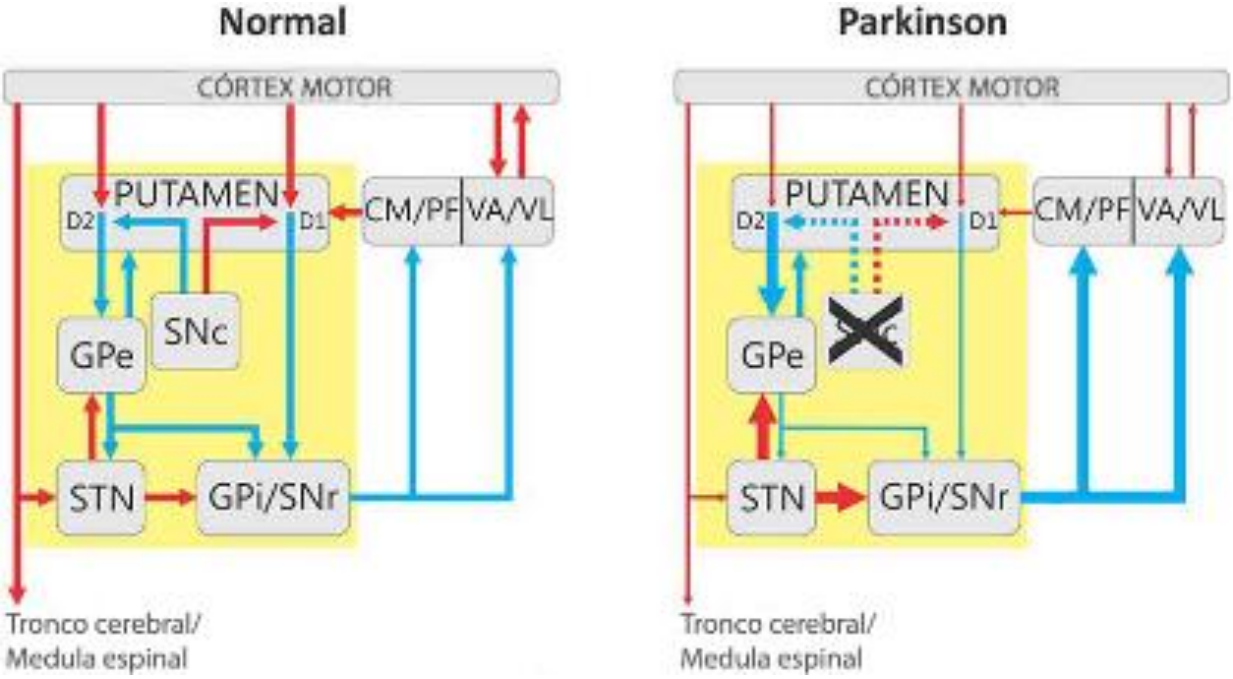
A SN é uma das estruturas que compõem os núcleos da base (NB) que são responsáveis pela maioria dos programas motores de rotina, além de participarem da formação de memória e aprendizado (CALNE; ZIGMOND, 1991). A SN é dividida em duas partes, a parte reticular (SNr) composta principalmente por neurônios GABAérgicos e a parte compacta (SNc) que contem neuromelanina e neurônios dopaminérgicos. A SNc é responsável pelas principais conexões eferentes desta estrutura (ALEXI et al., 2000). A SN tem importantes funções dentro do circuito dos NB, com maior participação através de grandes projeções recíprocas com seu tecido alvo, o estriado (CPu) (SMITH et al., 1998).

As conexões dos NB são baseadas em duas vias estriado-palidais distintas. Uma via direta formada por neurônios espinais médios (MSN) contendo receptores dopaminérgicos do tipo D1 que envia seus axônios para os núcleos de saída GABAérgicos dos núcleos da base, para o globo pálido interno (GPi) e dele para os núcleos motores do tálamo. E a via indireta formada por MSNs contendo receptores dopaminérgicos do tipo D2 que envia seus axônios para o globo pálido externo (GPe), projeta para os neurônios glutamatérgicos do núcleo subtalâmico (STN) e envia seus axônios para os núcleos de saída dos NB, GPi e tálamo, onde formam sinapses excitatórias nos neurônios de saída inibitórios (KREITZER; MALENKA, 2008) (Figura 1). A ativação da via direta desinibe o tálamo, aumentando a atividade talamocortical, enquanto que a ativação da via indireta inibe os neurônios talamocorticais. Assim, a via direta facilita o movimento e a via indireta inibe o movimento. Ao agir sobre os receptores D1 ou D2, a DA atua como um neuromodulador, modulando de forma diferente a atividade da via direta e da via indireta, porém a resposta final será a mesma, reduzindo a inibição dos neurônios talamocorticais e facilitando os movimentos iniciados pelo comando do córtex, através do controle da excitabilidade dos MSNs no CPu, regulando a plasticidade sináptica em diferentes entradas glutamatérgicas (DELONG, 2003; GARDONI; BELLONE, 2015).

Na DP, com a morte dos neurônios dopaminérgicos da SNc há um déficit de DA nesse sistema provocando então uma redução da ativação da via direta e

hiperatividade da via indireta e assim, como consequência dessa depleção dopaminérgica, os sintomas motores característicos da DP são evidenciados (Figura 1). Além disso, estudos mostram uma assimetria do efeito da depleção de DA sobre os MSNs estriatopalidais e estriatonigrais, onde há uma intensa diminuição de espinhos dendriticos e sinapses glutamatérgicas nos MSNs estriatopalidais mas não nos MSNs estriatonigrais (DAY et al., 2006).

Figura 1 - Conexões dos núcleos da base: via direta e indireta.



A caixa amarela indica as interligações dos núcleos da base que recebem as conexões extrínsecas das regiões corticais e tálamo. Para simplificar, algumas conexões foram omitidas neste diagrama. O painel esquerdo indica os circuitos no estado "normal" e o da direita mostra as mudanças globais nas atividades associadas à doença de Parkinson. Setas azuis e vermelhas indicam conexões inibitórias e excitatórias, respectivamente. A espessura das setas corresponde à atividade exacerbada ou comprometida das conexões.

Abreviações: D1 e D2: receptores dopaminérgicos; GPe: globo pálido externo; STN: núcleo subtalâmico; GPi: globo pálido interno; SNr: substância negra parte reticular; VA: núcleo subtalâmico ventral anterior; VL: núcleo subtalâmico ventrolateral; CM: núcleo talâmico centromedial; PF: núcleo talâmico parafascicular.

Fonte: modificado de Galvan; Devergnas; Wichamann, 2015

1.3 Agentes Neurotóxicos

O desenvolvimento de modelos animais de DP é essencial para uma melhor compreensão da patogênese e progressão da DP, além de testar agentes terapêuticos para o tratamento da doença. Assim, os modelos de toxinas têm o objetivo de reproduzir as alterações patológicas e comportamentais da doença humana em roedores ou primatas, onde após a administração sistêmica ou local (intracerebral) essas neurotoxinas são capazes de induzir a degeneração do sistema nigroestriatal. Entre as neurotoxinas mais utilizadas estão aquelas que afetam ou destroem seletivamente o sistema catecolaminérgico, tais como 6-hidroxidopamina (6-OHDA), 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetra-hidropiridina (MPTP) e lipopolissacarídeo (LPS) (BLESA et al., 2012; JACKSON-LEWIS; BLESA; PRZEDBORSKI, 2012; SACHS; JONSSON, 1975). Além disso, produtos químicos agrícolas tais como rotenona, manebe e paraquat, quando administrados sistemicamente, podem também induzir características específicas da DP (BETARBET; SHERER; GREENAMYRE, 2002; SCHOBER, 2004). Uma característica comum de todos os modelos que são induzidos por neurotoxina é que todos eles afetam as mitocôndrias, quer por inibição do complexo I ou do complexo III mitocondrial (BLESA et al., 2012; SCHOBER, 2004).

1.3.1 6-OHDA

A neurotoxina 6-OHDA é estruturalmente semelhante à DA e norepinefrina e tem uma elevada afinidade com o transportador dopaminérgico permitindo a entrada da toxina para dentro dos neurônios dopaminérgicos (BLANDINI; ARMENTERO, 2012; BLANDINI; ARMENTERO; MARTIGNONI, 2008). Uma vez dentro dos neurônios, a 6-OHDA se acumula no citosol e é facilmente oxidada, provocando a formação de radicais livres, principalmente de peróxido de hidrogênio e paraquinona (altamente tóxicos à célula) (BLANDINI; ARMENTERO, 2012). Como um mecanismo adicional a 6-OHDA pode se acumular nas mitocôndrias, inibindo a atividade da cadeia de transporte de elétrons, bloqueando o complexo I (BLANDINI et al., 2008). A 6-OHDA não atravessa a barreira hemato-encefálica e deve ser injetada diretamente no cérebro. É administrada geralmente de forma unilateral na SN, no feixe

prosencefálico medial ou no CPu. A injeção intraestriatal de 6-OHDA induz rapidamente danos nos terminais dopaminérgicos estriatais seguido de danos progressivos nos neurônios dopaminérgicos da SNc, que são afetados através de um mecanismo retrógrado. O grau de perda de neurônios DA e dos seus terminais no estriado dependem da localização da injeção, da dose da toxina, assim como o tempo de sobrevivência após a lesão (BLANDINI; ARMENTERO, 2012). Sabe-se que altas doses de 6-OHDA administradas no CPu são capazes de provocar lesões nos terminais dopaminérgicos, expressas pela redução da imunorreatividade de tirosina hidroxilase (TH), e lentamente, ao longo de semanas, destrói os neurônios da SN, atingindo o máximo de morte neuronal 3 semanas pós lesão (SCHOBER, 2004). O modelo de 6-OHDA não reproduz todos os aspectos patológicos e clínicos de parkinsonismo humano, por exemplo, neste modelo, não há formação de inclusões citoplasmáticas (corpos de Lewy). Além disso, são raros os relatos dos tremores característicos da doença provocados pela neurotoxina, porém outros sintomas como acinesia e rigidez são geralmente relatados (SCHOBER, 2004).

Vários estudos utilizam testes motores alguns dias após a administração de 6-OHDA para mensurar a magnitude da perda nigroestriatal (REAL et al., 2013; TAJIRI et al., 2010; TUON et al., 2012). Para esses testes são injetadas doses de apomorfina (agonista dopaminérgico) ou anfetamina (inibidor da captação de DA) nos animais e é contado o número de rotações que o animal realiza. Observa-se rotações ipsolaterais quando a anfetamina é administrada e rotações contralaterais quando a apomorfina é injetada. Esses testes somente são possíveis quando a lesão por 6-OHDA é realizada de forma unilateral, evidenciando assim a assimetria motora dos animais (BLANDINI; ARMENTERO, 2012).

1.4 Exercício Físico

Neuroplasticidade refere-se à capacidade do sistema nervoso de mudar, adaptar-se e moldar-se a nível estrutural e funcional ao longo do desenvolvimento neuronal e quando exposto a mudanças no comportamento ou no ambiente (MORA; SEGOVIA; DEL ARCO, 2007). Esta capacidade de modificar redes neurais existentes por adição ou modificação de sinapses ocorre na base da formação de memórias e da aprendizagem bem como na adaptação a lesões e eventos traumáticos ao longo da vida adulta (PETZINGER et al., 2013). A literatura tem mostrado vários mecanismos pelos quais o exercício físico pode facilitar a neuroplasticidade. Dentre esses está a capacidade de promover neurogênese (VAN PRAAG; KEMPERMANN; GAGE, 1999), angiogênese (AL-JARRAH et al., 2010; KLEIM; COOPER; VANDENBERG, 2002), alterações na expressão de fatores neurotróficos endógenos (KLINTSOVA et al., 2004; REAL et al., 2013; TUON et al., 2012), de neurotransmissores e receptores (KINTZ et al., 2013; REAL et al., 2010), e em proteínas sinápticas e estruturais (FERREIRA et al., 2010; GARCIA et al., 2012). Além disso, as adaptações que o exercício causa no sistema nervoso também têm implicações na prevenção de distúrbios neurológicos, tais como a DP (ALONSO-FRECH; SANAHUJA; RODRIGUEZ, 2011; Xu et al.,2010), doença de Alzheimer (ARCHER, 2011; PEREZ; CANCELA CARRAL, 2008; RADAK et al., 2010), acidente vascular isquêmico (GRIESBACH; HOVDA; GOMEZ-PINILLA, 2009) e lesões medulares (YING et al., 2005). Vários estudos mostram uma relação inversa entre a DP e a prática de exercício físico (ALONSO-FRECH; SANAHUJA; RODRIGUEZ, 2011) (40% menor risco quando comparado a pessoas inativas), sendo que o efeito protetor promovido parece ser maior quando este é praticado ainda na fase adulto-jovem (aproximadamente 35 anos) (XU et al., 2010). Estudos clínicos mostraram que a realização de exercício físico na fase inicial da DP em humanos resulta em melhor desempenho na realização de atividades de vida diária, melhora na qualidade de vida, força, equilíbrio, melhor desempenho locomotor e independência funcional (MIYAI et al., 2000; SUNVISSON et al., 1997).

Para elucidar os mecanismos subjacentes da melhora funcional em humanos com DP promovida pelo exercício fisico muitos estudos têm utilizado os modelos

de DP em animais e desenvolvendo diversos procolos de exercício. Esses protocolos diversos incluem diferentes modalidades de exercício com frequencias e intensidades distintas. Porém, independentemente do tipo de exercício físico, estes são capazes de promover melhoras no aprendizado, memória e plasticidade (ARIDA et al., 2011).

Em ratos induzidos à DP por 6-OHDA, MPTP e LPS, a utilização de exercício voluntário e/ou exercício realizado em esteira mostra que essas manobras são capazes de atenuar a perda de DA no CPu e de neurônios dopaminérgicos na SNc (REAL et al., 2013; TAJIRI et al., 2010; TUON et al., 2012; WU et al., 2011) e promover ou não alterações significativas nos déficits comportamentais (REAL et al., 2013; TILLERSON et al., 2003; TUON et al., 2012). Além disso, há estudos mostrando que o exercício é capaz de aumentar marcadores de neurogênese (bromodeoxyuridine - BrdU e doublecourtin - DCX) na área estriatal subventricular, demonstrando aumento na proliferação e migração neural de células progenitoras (TAJIRI et al., 2010). Uma das formas pelos quais o exercício é capaz de proteger os neurônios dopaminérgicos contra o estresse oxidativo, a disfunção mitocondrial e outros processos inflamatórios e apoptóticos é através da regulação de fatores neurotróficos. Vários estudos têm relatado a capacidade do exercício em aumentar os níveis de fator neurotrófico derivado do encéfalo (BNDF), fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (AL-JARRAH et al., 2010; LAU et al., 2011; REAL et al., 2013; TAJIRI et al., 2010). Animais modelos de DP expostos a diferentes protocolos de exercício (3 vezes por semana durante 4 semanas; 3 vezes por semana durante 8 semanas; 5 vezes por semana durante 4 semamas) mostraram aumento nos níveis de BDNF no CPu. Para reforçar a idéia da participação do BDNF na neuroproteção dopaminérgica na DP um estudo mostra que quando há bloqueio dos receptores de BDNF (Trkb) em modelo animal por 6-OHDA, os efeitos benéficos promovidos pelo exercício ao sistema dopaminérgico são inibidos (REAL et al., 2013).

Além da regulação de fatores neurotróficos, há um mecanismo pelo qual o exercício pode conduzir a neuroplasticidade dependente da experiência na DP, promovendo melhora comportamental. Esse mecanismo ocorre através da redução da hiperatividade corticoestriatal mediada pelos receptores

glutamatérgicos tipo α-amino-3-hydroxil-5-metil-4-isoxazolpropiônico (AMPA). Estudos mostram que a melhora no desempenho motor de ratos induzidos a DP por MPTP está relacionado ao aumento nos níveis de GluA2 (subunidade dos receptores AMPA) no CPu que ocorre apenas em animais submetidos a exercício físico (VANLEEUWEN et al., 2010). Em paralelo com esse dado, nesses animais modelos de DP, quando o exercício não é realizado (sedentários), há um aumento na amplitude de correntes excitatórias pós-sinápticas, o que caracteriza a hiperatividade glutamatérgica. O mesmo não é observado nos animais treinados. A alteração nos níveis de receptores AMPA (GluA2) e da sua fosforilação na serina 880 promovida pelo exercício pode conduzir a uma internalização do receptor levando a diminuição da força sináptica (depressão a longo prazo) atenuando assim a hiperativação do circuito corticoestriatal (PETZINGER et al., 2010; VANLEEUWEN et al., 2010).

São inúmeros os estudos que mostram que o exercício físico leva a melhora no desempenho motor em modelos animais de DP. Independentemente do tipo de exercício, esteira ou voluntário (roda), ou então o tempo total da realização do exercício, curto e longo prazo, ou ainda, se o exercício é realizado apenas antes da cirurgia de indução da doença, somente depois da cirurgia, antes ou depois da cirurgia, todos esses estudos revelam que o exercício promove uma redução da assimetria rotacional causada pela depleção dopaminérgica (testes rotacionais realizados com a administração de apomorfina ou anfetamina) (MABANDLA et al., 2004; REAL et al., 2013; TUON et al., 2012; YOON et al., 2007). Além do teste rotacional, outros testes comportamentais são realizados a fim de observar as respostas promovidas pelo exercício, como o teste do campo aberto e o teste no aparelho RotaRod® (PETZINGER et al., 2007; REAL et al., 2013); os resultados mostram que os efeitos benéficos do exercício evidenciados nas técnicas celulares acompanham o benefício funcional evidenciado nesses testes de desempenho motor.

1.5 Plasticidade Sináptica

1.5.1 Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo – BDNF

Os fatores neurotróficos (FNs) fazem parte de uma família de proteínas que funcionam como fatores de crescimento necessários para a manutenção, sobrevivência e maturação de populações neuronais distintas (DOMANSKYI; SAARMA; AIRAVAARA, 2015; HEGARTY; O'KEEFFE; SULLIVAN, 2014; SIEGEL; CHAUHAN, 2000). Além de estarem envolvidos na proliferação, ramificação de neuritos e no crescimento celular, os FNs também são importantes para a modificação de disfunções neuronais, ativação astrocitária e reações inflamatórias em condições patológicas. Muitos estudos vêm mostrando evidências de que os FNs sob determinadas condições, também podem modular a plasticidade neuronal através da ligação e ativação de seus receptores cognatos (DOMANSKYI et al., 2015; LI; KEIFER, 2009; SIEGEL; CHAUHAN, 2000). Várias proteínas são classificadas como FNs, tais como o BDNF, GDNF, fator de crescimento semelhante a insulina (IGF) e VEGF (SIEGEL; CHAUHAN, 2000).

O BDNF é um fator neurotrófico que desempenha um papel central na maturação neuronal, na formação de circuitos, e na plasticidade dependente de atividade, tais como a potenciação a longo prazo (LTP). Além disso, no sistema nervoso adulto, o BDNF endógeno é capaz de instruir a expressão de genes e a síntese de proteínas subjacentes à LTP e à formação da memória (KUIPERS et al., 2016; PARK; POO, 2013). Devido a estas importantes propriedades do BDNF vários estudos mostram interesse em observar a expressão deste fator em doenças neurodegenerativas tais como a doença de Alzheimer, DP e doença de Huntington. Estudos mostram que há redução do nível de expressão de BDNF na SNc e no estriado de pacientes com DP. Embora essa redução seja esperada devido a depleção de neurônios dopaminérgicos característica da doença, aqueles neurônios dopaminérgicos remanescentes ainda expressam menos BDNF quando comparados ao grupo controle (HOWELLS et al., 2000). O BDNF parece estar envolvido com a sobrevivência e manutenção dos neurônios dopaminérgicos devido sua afinidade específica para os receptores de tirosina-quinase (particularmente com o receptor TrkB). A ativação do receptor de

tirosina-quinase é responsável pela ativação da CREB. CREB é um fator de transcrição celular que se liga a uma sequência de DNA específica conhecida como um elemento de resposta a AMP cíclico (AMPc), podendo regular a transcrição do gene TH (DA SILVA et al., 2016). Vários estudos mostram que o exercício físico é capaz de promover aumento nos níveis de expressão de BDNF (REAL et al., 2013; TUON et al., 2012; WU et al., 2011) e a neuroplasticidade induzida pelo exercício pode ocorrer através do aumento da atividade enzimática de TH que modula a síntese de dopamina pelos neurônios dopaminérgicos (COTMAN; BERCHTOLD, 2002; DA SILVA et al., 2016). Em adição, esse efeito neuroprotetor promovido pelo exercício é dependente de BDNF. Isso foi observado no estudo do nosso grupo, que ao expor animais submetidos ao modeloda DP por 6-OHDA ao exercicio físico em esteira por 1 mês observou um efeito neuroprotetor, ou seja, menor perda de neurônios dopaminérgicos quando comparados aos animais sedentários. Porém, quando o receptor TrKb foi bloqueado (através do K252a), esta neuroproteção não ocorreu (REAL et al., 2013). Resultados semelhantes foram observados por Wu e colaboradores, que mesmo usando um outro modelo de DP (LPS) e outro protocolo de exercício físico mostrou que a proteção induzida pelo exercício atenuando a perda dopaminérgica não ocorre quando é utilizado um antagonista do receptor TrkB, bloqueando a ação do BDNF (WU et al., 2011). Esses resultados em conjunto sugere que a neuroproteção que o exercício pode promover frente a DP ocorre através da via de sinalização BDNF-TrkB.

1.5.2 Proteínas Estruturais: proteína associada ao microtúbulo 2 (MAP2) e neurofilamentos

O citoesqueleto neuronal é uma complexa rede de proteínas, altamente dinâmica, que participa dos processos de plasticidade, transporte e sinalização celular, além de ser o principal determinante da morfologia celular (PERROT et al., 2008). É composto por três estruturas interligadas – microfilamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários. Os neurofilamentos são filamentos intermediários neurônio-específicos que representam um dos principais componentes do citoesqueleto, encontrados em maior proporção em axônios mielinizados (GOTOW, 2000; LIU et al., 2011; SZARO; STRONG, 2010). Os neurofilamentos são conhecidos por serem estruturas altamente dinâmicas, cuja principal função é o controle do calibre axonal. Uma vez que a

velocidade da condução de um impulso é em parte, proporcional ao calibre do axônio, torna o papel dos neurofilamentos de grande importância (AL-CHALABI; MILLER, 2003; PERROT et al., 2008; SZARO; STRONG, 2010). Além disso, os neurofilamentos também contribuem na diferenciação neuronal, crescimento, regeneração e orientação axonal (PERROT et al., 2008). Análises de amostras de SN de pacientes com DP apresentam redução dos níveis de neurofilamentos, bem como do seu RNAmensageiro, estando estes correlacionados com a gravidade da doença (BASSO et al., 2004; HILL et al., 1993).

Os microtúbulos são estruturas constituídas por moléculas de tubulina e uma série de outras proteínas associadas (MAPs), que fazem parte do citoesqueleto das células neurais. A proteína associada ao microtúbulo 2 (MAP2) é uma das MAP's mais abundantes no encéfalo, predominantemente expressa nos dendritos (SANCHEZ; DIAZ-NIDO; AVILA, 2000; TUCKER; GARNER; MATUS, 1989). Podem desempenhar múltiplas funções, tais como, a estabilização de microtúbulos e possíveis microfilamentos, regulação da extensão dos neuritos, transporte de organelas dentro de axônios e dendritos, fixação de proteínas reguladoras como proteínas quinases, entre outras. A MAP2 é considerada um marcador da integridade estrutural, além de estar envolvida na estabilização morfológica dos processos dendríticos, no remodelamento e crescimento da arborização dendrítica, desempenhando um papel no processo de plasticidade neuronal (DERKSEN et al., 2007; GONZALEZ-BILLAULT et al., 2002; MANDELKOW; MANDELKOW, 1995).

Estudos mostram que proteínas do citoesqueleto, como MAP2, neurofilamentos e Tau, quando estão alteradas morfologicamente, podem estar relacionadas com a morte neuronal presente em diversas doenças neurodegenerativas (D'ANDREA; ILYIN; PLATA-SALAMAN, 2001; MELROSE et al., 2010; MURAMATSU et al., 2003). Na DP foi observado, além de alterações na morfologia, alterações na distribuição de MAP2. Essas alterações podem provocar um transporte neuronal deficiente o que contribui para a progressão da perda neuronal em pacientes com DP (D'ANDREA et al., 2001).

1.5.3 Proteína do citoesqueleto regulada por atividade - Arc

Vários são os mecanismos que controlam as alterações plásticas que ocorrem no sistema nervoso central. A expressão de “genes precoces imediatos” (IEG’s) tem sido postulada com um dos mecanismos que controlam essas alterações que são guiadas por reestruturação morfológica, sinaptogênese e “força” sináptica” (PINAUD et al., 2001). Arc é um IEG e a expressão de seu gene é amplamente responsiva à ativação neuronal por mecanismos dopamino-dependentes do CPu (GUZOWSKI et al., 2000), por aprendizagem, pelo BDNF, por LTP e LTD (depressão a longo prazo), além de outros estímulos (KORB; FINKBEINER, 2011). A proteína Arc não é encontrada nos terminais pré-sinápticos ou axônios, mas é muito expressa nos dendritos e núcleos (KORB; FINKBEINER, 2011). Seu RNAmensageiro é distribuído rapidamente em dendritos de áreas com intensa ativação sináptica de forma dependente do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). A proteína é traduzida localmente e, em virtude de sua capacidade de se ligar a actina, podem participar na reconfiguração de sinapses para estabilizar alterações de eficácia sináptica (YIN; EDELMAN; VANDERKLISH, 2002). Estudos mostram que Arc pode estar envolvido com a modificação estrutural da arquitetura sináptica já existente e possivelmente, com a formação de novas sinapses (BAILEY; KANDEL, 1993). Assim, devido a sua localização nos dendritos, autores sugerem uma interação funcional com o citoesqueleto e sabe-se que a atividade sináptica promove remodelação dendrítica e isso é a base estrutural para a plasticidade sináptica (FUJIMOTO et al., 2004). Vários estudos tem mostrado que um aumento da expressão de Arc pode regular a força sináptica principalmente através do aumento da endocitose de receptores tipo AMPA nas regiões pós sinápticas (RIAL VERDE et al., 2006; SHEPHERD et al., 2006; WAUNG et al., 2008). Especificamente, na região do hipocampo, a Arc reduz o número de receptores GluA2/3 (subunidade dos receptores glutamatérgicos tipo AMPA) inseridos na membrana por endocitose, e consequentemente ocorre uma diminuição na amplitude das correntes sinápticas mediadas por esses receptores (RIAL VERDE et al., 2006). Esses dados mostram a participação de Arc no papel de regulação da força sináptica, sugerindo uma função homeostática ao sistema.

Ainda são escassos os estudos que mostram relação entre a proteína Arc e o exercício físico e ainda a expressão desta proteína na SN e CPu.

1.5.4 Receptores Glutamatérgicos tipo AMPA

O glutamato é o mais abundante neurotransmissor no sistema nervoso central, e ao ativar seus receptores pode causar potencial influxo de Ca^{2+} no neurônio pós-sináptico (SEGOVIA et al., 2001; WRIGHT; VISSEL, 2012). Os recetores glutamatérgicos (GluRs) podem ser divididos em 2 grandes grupos: receptores glutamatérgicos ionotrópicos (iGluRs) e receptores glutamatérgicos metabotrópicos (mGluRs). Os iGluRs são subdivididos em 3 grupos: AMPA (GluA), NMDA (GluN) e receptores cainato (KA) (SEGOVIA et al., 2001).

Estruturalmente, os receptores AMPA formam um composto tetramérico de com diferentes combinações de quatro subunidades: GluA1-GluA4 (DINGLEDINE et al., 1999; FLEMING; ENGLAND, 2010). Todas as proteínas das subunidades dos receptores AMPA tem um terminal N extracelular, um terminal C intracelular, e quatro domínios hidrofóbicos associados a membrana (M1-4), um dos quais (M2) forma um laço reentrante (ISAAC; ASHBY; MCBAIN, 2007; SEGOVIA et al., 2001). Receptores AMPA são amplamente expressos no sistema nervoso central, tanto em neurônios como em células gliais (BELACHEW; GALLO, 2004; WISDEN; SEEBURG, 1993). A grande maioria dos receptores AMPA no sistema nervoso central existem como heterômeros contendo GluA2, sendo que a maior população de neurônios, as células piramidais, expressam receptores AMPA compostos principalmente de heterotetrâmeros de GluA1 e GluA2 (SANS et al., 2003). Os receptores AMPA podem circular dentro e fora da membrana pós-sináptica, e a regulação do tráfego destes receptores é um fator chave na modulação da força sináptica (FLEMING; ENGLAND, 2010). Estas subunidades apresentam características funcionais que podem variar de acordo com sua constituição e arranjo proteico (TANAKA; OGAWA; ASANUMA, 2006). Funcionalmente, os receptores AMPA podem mediar a grande maioria das transmissões sinápticas excitatórias rápidas, assegurando respostas rápidas para o glutamato. Ao ocorrer a ligação do glutamato ao receptor AMPA, ocorre o influxo de sódio (Na^{+}) (ocasionalmente de Ca^{2+} também e o efluxo de potássio (K^{+}). Desta forma, o canal formado pelos

receptores AMPA é o principal condutor de corrente, mesmo que em uma situação de repouso (SOMMER et al., 1990; WRIGHT; VISSEL, 2012). GluA2 é uma subunidade chave na determinação da função dos receptores AMPA em mamíferos, sendo envolvidas na cinética do receptor, na condutância do canal, na permeabilidade ao Ca^{2+}, entre outras propriedades biofísicas (ISAAC et al., 2007). A subunidade GluA2 possui uma forma editada e uma não editada. A forma editada se diferencia por possuir um resíduo de arginina (R) na região M2 no lugar de glutamina (Q). Esta edição Q/R é específica para a subunidade GluA2, e ocorre em mais de 95% do RNAmensageiro transcrito de GluA2 (ISAAC et al., 2007). Essas subunidades editadas de GluA2 são impermeáveis ao Ca^{2+} e exibem uma condutividade relativamente baixa enquanto a forma editada são Ca^{2+}-permeáveis, permitindo maior condutância (BOWIE; MAYER, 1995). Logo, canais AMPA sem a subunidade GluA2 (GluA2-lacking), também apresentam alta permeabilidade ao Ca^{2+} e retificação nos potenciais de membrana despolarizada (KINTZ et al., 2013).

Embora o receptor tipo NMDA seja considerado o principal receptor de glutamato envolvido na plasticidade sináptica e na morte celular mediada por excitotoxicidade por Ca^{2+} , os receptores AMPA permeáveis ao íon Ca^{2+} também podem estar envolvidos na plasticidade sináptica, desempenhando um importante papel para a memória e aprendizagem, e contribuir para morte celular por excitotoxicidade em algumas doenças (WRIGHT; VISSEL, 2012). Alterações na expressão de receptores AMPA têm sido observadas em doenças neurológicas, incluindo a doença de Alzheimer, DP, depressão, entre outras, provocando uma neurotransmissão glutamatérgica anormal (ALT et al., 2006; CHANG; VERBICH; MCKINNEY, 2012; KINTZ et al., 2013). Estudos mostram que as alterações induzidas pelo exercício ocorrem seletivamente nos receptores D2 dos MSNs estriatopalidais. Particularmente, nos animais modelos de DP por MPTP há um aumento da expressão de receptores AMPA sem a subunidade GluA2 (GluA2-lacking), o que leva a um aumento da permeabilidade ao Ca^{2+}, aumentando assim a condutância pelo canal. O exercício físico é capaz de restaurar a expressão de receptores AMPA contendo GluA2 promovendo assim uma relação linear corrente/voltagem nos MSNs que contêm receptores D2 (KINTZ et al., 2013). Além de aumentar a expressão de receptores AMPA

GluA2 positivos, o exercício também é capaz de promover aumento do estado de fosforilação dessa subunidade (serina 880) (VANLEEUWEN et al., 2010). Assim, muitos estudos sugerem que o exercício pode ser um potencial mecanismo de mitigação da hiperatividade corticoestriatal que ocorre na DP, podendo reduzir os sintomas motores característicos da DP.

2 CONCLUSÃO

Todos esses achados sugerem que essas alterações adaptativas na expressão de proteínas é um potencial mecanismo pelo qual o exercício pode conduzir neuroplasticidade dependente da experiência na DP. Esse reforço na neuroplasticidade através do exercício pode levar a mecanismos que compensem a alteração da disponibilidade dopaminérgica da DP a fim de retardar ou reverter a progressão da doença. Esperamos que nossos dados tragam informações que possam ajudar a identificar esses mecanismos compensatórios importantes para talvez modificar o curso da doença.

REFERÊNCIAS*

AARSLAND, D. et al. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study. **Arch Neurol.,** v. 60, n. 3, p. 387-392, Mar 2003.

AIRAVAARA, M. et al. Neurorestoration. **Parkinsonism Relat Disord.,** v. 18 Suppl 1, p. S143-146, Jan 2012.

AL-CHALABI, A.; MILLER, C. C. Neurofilaments and neurological disease. **Bioessays.,** v. 25, n. 4, p. 346-355, Apr 2003.

AL-JARRAH, M. et al. Endurance exercise training promotes angiogenesis in the brain of chronic/progressive mouse model of Parkinson's Disease. **NeuroRehabilitation.,** v. 26, n. 4, p. 369-373, 2010.

ALEXI, T. et al. Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. **Prog Neurobiol.,** v. 60, n. 5, p. 409-470, Apr 2000.

ALONSO-FRECH, F.; SANAHUJA, J. J.; RODRIGUEZ, A. M. Exercise and physical therapy in early management of Parkinson disease. **Neurologist.,** v. 17, n. 6 Suppl 1, p. S47-53, Nov 2011.

ALT, A. et al. A role for AMPA receptors in mood disorders. **Biochem Pharmacol.,** v. 71, n. 9, p. 1273-1288, Apr 28 2006.

ALVAREZ-FISCHER, D. et al. Characterization of the striatal 6-OHDA model of Parkinson's disease in wild type and alpha-synuclein-deleted mice. **Exp Neurol.,** v. 210, n. 1, p. 182-193, Mar 2008.

ARCHER, T. Physical exercise alleviates debilities of normal aging and Alzheimer's disease. **Acta Neurol Scand.,** v. 123, n. 4, p. 221-238, Apr 2011.

ARIDA, R. M. et al. Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. **Am J Phys Med Rehabil.,** v. 90, n. 6, p. 452-465, Jun 2011.

BAILEY, C. H.; KANDEL, E. R. Structural changes accompanying memory storage. **Annu Rev Physiol.,** v. 55, p. 397-426, 1993.

BASSO, M. et al. Proteome analysis of human substantia nigra in Parkinson's disease. **Proteomics.,** v. 4, n. 12, p. 3943-3952, Dec 2004.

BELACHEW, S.; GALLO, V. Synaptic and extrasynaptic neurotransmitter receptors in glial precursors' quest for identity. **Glia.,** v. 48, n. 3, p. 185-196, Nov 15 2004.

BETARBET, R.; SHERER, T. B.; GREENAMYRE, J. T. Animal models of Parkinson's disease. **Bioessays.,** v. 24, n. 4, p. 308-318, Apr 2002.

BEZARD, E.; GROSS, C. E. Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism: towards a dynamic approach. **Prog Neurobiol.,** v. 55, n. 2, p. 93-116, Jun 1998.

BLANDINI, F.; ARMENTERO, M. T. Animal models of Parkinson's disease. **FEBS J.,** v. 279, n. 7, p. 1156-1166, Apr 2012.

*De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BLANDINI, F.; ARMENTERO, M. T.; MARTIGNONI, E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. **Parkinsonism Relat Disord.,** v. 14 Suppl 2, p. S124-129, 2008.

BLANDINI, F. et al. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. **Prog Neurobiol.,** v. 62, n. 1, p. 63-88, Sep 2000.

BLESA, J. et al. Classic and new animal models of Parkinson's disease. **J Biomed Biotechnol.,** v. 2012, p. 1-10, 2012.

BLUM, D. et al. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. **Prog Neurobiol.,** v. 65, n. 2, p. 135-172, Oct 2001.

BOWIE, D.; MAYER, M. L. Inward rectification of both AMPA and kainate subtype glutamate receptors generated by polyamine-mediated ion channel block. **Neuron.,** v. 15, n. 2, p. 453-462, Aug 1995.

BURCH, D.; SHEERIN, F. Parkinson's disease. **Lancet.,** v. 365, n. 9459, p. 622-627, Feb 12-18 2005.

CALABRESI, P. et al. Dopamine-mediated regulation of corticostriatal synaptic plasticity. **Trends Neurosci.,** v. 30, n. 5, p. 211-219, May 2007.

CALNE, D. B.; ZIGMOND, M. J. Compensatory mechanisms in degenerative neurologic diseases. Insights from parkinsonism. **Arch Neurol.,** v. 48, n. 4, p. 361-363, Apr 1991.

CHANG, P. K.; VERBICH, D.; MCKINNEY, R. A. AMPA receptors as drug targets in neurological disease--advantages, caveats, and future outlook. **Eur J Neurosci.,** v. 35, n. 12, p. 1908-1916, Jun 2012.

CHOWDHURY, S. et al. Arc/Arg3.1 interacts with the endocytic machinery to regulate AMPA receptor trafficking. **Neuron.,** v. 52, n. 3, p. 445-459, Nov 9 2006.

COHEN, A. D.; ZIGMOND, M. J.; SMITH, A. D. Effects of intrastriatal GDNF on the response of dopamine neurons to 6-hydroxydopamine: time course of protection and neurorestoration. **Brain Res.,** v. 1370, p. 80-88, Jan 25 2011.

COMERY, T. A.; SHAH, R.; GREENOUGH, W. T. Differential rearing alters spine density on medium-sized spiny neurons in the rat corpus striatum: evidence for association of morphological plasticity with early response gene expression. **Neurobiol Learn Mem.,** v. 63, n. 3, p. 217-219, May 1995.

COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. **Trends Neurosci.,** v. 25, n. 6, p. 295-301, Jun 2002.

D'ANDREA, M. R.; ILYIN, S.; PLATA-SALAMAN, C. R. Abnormal patterns of microtubule-associated protein-2 (MAP-2) immunolabeling in neuronal nuclei and Lewy bodies in Parkinson's disease substantia nigra brain tissues. **Neurosci Lett.,** v. 306, n. 3, p. 137-140, Jun 29 2001.

DA SILVA, P. G. et al. Neurotrophic factors in Parkinson's disease are regulated by exercise: Evidence-based practice. **J Neurol Sci,** v. 363, p. 5-15, Apr 15 2016.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. **Neuron.,** v. 39, n. 6, p. 889-909, Sep 11 2003.

DAY, M. et al. Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. **Nat Neurosci.,** v. 9, n. 2, p. 251-259, Feb 2006.

DELONG, M. Os Núcleos da Base. In: Kandel, E. (ed.) **Princípios da Neurociência.** Baureri, SP: Manole, 2003. p.853-867.

DERKSEN, M. J. et al. MAP2 and synaptophysin protein expression following motor learning suggests dynamic regulation and distinct alterations coinciding with synaptogenesis. **Neurobiol Learn Mem.,** v. 87, n. 3, p. 404-415, Mar 2007.

DEUMENS, R.; BLOKLAND, A.; PRICKAERTS, J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. **Exp Neurol.,** v. 175, n. 2, p. 303-317, Jun 2002.

DINGLEDINE, R. et al. The glutamate receptor ion channels. **Pharmacol Ver.,** v. 51, n. 1, p. 7-61, Mar 1999.

DOMANSKYI, A.; SAARMA, M.; AIRAVAARA, M. Prospects of Neurotrophic Factors for Parkinson's Disease: Comparison of Protein and Gene Therapy. **Hum Gene Ther.,** v. 26, n. 8, p. 550-559, Aug 2015.

FELIX, J. V.; MICHELINI, L. C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. **Hypertension.,** v. 50, n. 4, p. 780-785, Oct 2007.

FERREIRA, A. F. et al. Moderate exercise changes synaptic and cytoskeletal proteins in motor regions of the rat brain. **Brain Res.,** v. 1361, p. 31-42, Nov 18 2010.

FLEMING, J. J.; ENGLAND, P. M. AMPA receptors and synaptic plasticity: a chemist's perspective. **Nat Chem Biol.,** v. 6, n. 2, p. 89-97, Feb 2010.

FUJIMOTO, T. et al. Arc interacts with microtubules/microtubule-associated protein 2 and attenuates microtubule-associated protein 2 immunoreactivity in the dendrites. **J Neurosci Res.,** v. 76, n. 1, p. 51-63, Apr 1 2004.

GALVAN, A.; DEVERGNAS, A.; WICHMANN, T. Alterations in neuronal activity in basal ganglia-thalamocortical circuits in the parkinsonian state. **Frontiers in Neuroanatomy.,** v. 9, p. 01-21, 2015.

GARCIA, P. C. et al. Different protocols of physical exercise produce different effects on synaptic and structural proteins in motor areas of the rat brain. **Brain Res.,** v. 1456, p. 36-48, May 25 2012.

GARDONI, F.; BELLONE, C. Modulation of the glutamatergic transmission by Dopamine: a focus on Parkinson, Huntington and Addiction diseases. **Front Cell Neurosci.,** v. 9, p. 1-11, 2015.

GOLBE, L. I. The genetics of Parkinson's disease: a reconsideration. **Neurology.,** v. 40, n. 10 Suppl 3, p. suppl 7-14; discussion 14-6, Oct 1990.

GONZALEZ-BILLAULT, C. et al. Participation of structural microtubule-associated proteins (MAPs) in the development of neuronal polarity. **J Neurosci Res.,** v. 67, n. 6, p. 713-719, Mar 15 2002.

GOTOW, T. Neurofilaments in health and disease. **Med Electron Microsc.,** v. 33, n. 4, p. 173-199, 2000.

GRIESBACH, G. S.; HOVDA, D. A.; GOMEZ-PINILLA, F. Exercise-induced improvement in cognitive performance after traumatic brain injury in rats is dependent on BDNF activation. **Brain Res.,** v. 1288, p. 105-115, Sep 8 2009.

GUZOWSKI, J. F. et al. Inhibition of activity-dependent arc protein expression in the rat hippocampus impairs the maintenance of long-term potentiation and the consolidation of long-term memory. **J Neurosci.,** v. 20, n. 11, p. 3993-4001, Jun 1 2000.

HEGARTY, S. V.; O'KEEFFE, G. W.; SULLIVAN, A. M. Neurotrophic factors: from neurodevelopmental regulators to novel therapies for Parkinson's disease. **Neural Regen Res.,** v. 9, n. 19, p. 1708-1711, Oct 1 2014.

HERMAN, T. et al. Six weeks of intensive treadmill training improves gait and quality of life in patients with Parkinson's disease: a pilot study. **Arch Phys Med Rehabil.,** v. 88, n. 9, p. 1154-1158, Sep 2007.

HILL, W. D. et al. Neurofilament mRNA is reduced in Parkinson's disease substantia nigra pars compacta neurons. **J Comp Neurol.,** v. 329, n. 3, p. 328-336, Mar 15 1993.

HOFFMAN, P. N. et al. Neurofilament gene expression: a major determinant of axonal caliber. **Proc Natl Acad Sci U S A.,** v. 84, n. 10, p. 3472-3476, May 1987.

HOWELLS, D. W. et al. Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. **Exp Neurol.,** v. 166, n. 1, p. 127-135, Nov 2000.

ISAAC, J. T.; ASHBY, M. C.; MCBAIN, C. J. The role of the GluR2 subunit in AMPA receptor function and synaptic plasticity. **Neuron.,** v. 54, n. 6, p. 859-871, Jun 21 2007.

JACKSON-LEWIS, V.; BLESA, J.; PRZEDBORSKI, S. Animal models of Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord.,** v. 18 Suppl 1, p. S183-185, Jan 2012.

KINTZ, N. et al. Exercise modifies alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor expression in striatopallidal neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse. **J Neurosci Res.,** v. 91, n. 11, p. 1492-1507, Nov 2013.

KLEIM, J. A.; COOPER, N. R.; VANDENBERG, P. M. Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex. **Brain Res.,** v. 934, n. 1, p. 1-6, Apr 26 2002.

KLINTSOVA, A. Y. et al. Altered expression of BDNF and its high-affinity receptor TrkB in response to complex motor learning and moderate exercise. **Brain Res.,** v. 1028, n. 1, p. 92-104, Nov 26 2004.

KORB, E.; FINKBEINER, S. Arc in synaptic plasticity: from gene to behavior. **Trends Neurosci.,** v. 34, n. 11, p. 591-598, Nov 2011.

KREITZER, A. C.; MALENKA, R. C. Striatal plasticity and basal ganglia circuit function. **Neuron.,** v. 60, n. 4, p. 543-554, Nov 26 2008.

KUIPERS, S. D. et al. BDNF-induced LTP is associated with rapid Arc/Arg3.1-dependent enhancement in adult hippocampal neurogenesis. **Sci Rep.,** v. 6, p. 212-222, 2016.

LAU, Y. S. et al. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. **Eur J Neurosci.,** v. 33, n. 7, p. 1264-1274, Apr 2011.

LI, W.; KEIFER, J. BDNF-induced synaptic delivery of AMPAR subunits is differentially dependent on NMDA receptors and requires ERK. **Neurobiol Learn Mem.,** v. 91, n. 3, p. 243-249, Mar 2009.

LIU, Q. et al. Neurofilamentopathy in neurodegenerative diseases. **Open Neurol J.,** v. 5, p. 58-62, 2011.

MABANDLA, M. et al. Voluntary running provides neuroprotection in rats after 6-hydroxydopamine injection into the medial forebrain bundle. **Metab Brain Dis.,** v. 19, n. 1-2, p. 43-50, Jun 2004.

MANDELKOW, E.; MANDELKOW, E. M. Microtubules and microtubule-associated proteins. **Curr Opin Cell Biol.,** v. 7, n. 1, p. 72-81, Feb 1995.

MELROSE, H. L. et al. Impaired dopaminergic neurotransmission and microtubule-associated protein tau alterations in human LRRK2 transgenic mice. **Neurobiol Dis.,** v. 40, n. 3, p. 503-517, Dec 2010.

MIYAI, I. et al. Treadmill training with body weight support: its effect on Parkinson's disease. **Arch Phys Med Rehabil.,** v. 81, n. 7, p. 849-852, Jul 2000.

MORA, F.; SEGOVIA, G.; DEL ARCO, A. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. **Brain Res Rev.,** v. 55, n. 1, p. 78-88, Aug 2007.

MURAMATSU, Y. et al. Cerebral alterations in a MPTP-mouse model of Parkinson's disease--an immunocytochemical study. **J Neural Transm (Vienna).,** v. 110, n. 10, p. 1129-1144, Oct 2003.

NANDHAGOPAL, R. et al. Longitudinal evolution of compensatory changes in striatal dopamine processing in Parkinson's disease. **Brain.,** v. 134, n. Pt 11, p. 3290-3298, Nov 2011.

OLANOW, C. W.; TATTON, W. G. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. **Annu Rev Neurosci.,** v. 22, p. 123-144, 1999.

PARK, H.; POO, M. M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. **Nat Rev Neurosci.,** v. 14, n. 1, p. 7-23, Jan 2013.

PARKINSON, J. An essay on the shaking palsy. 1817. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci.,** v. 14, n. 2, p. 223-236, 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. (Ed.). San Diego: Academic Press, 2005. 456 p.

PEREZ, C. A.; CANCELA CARRAL, J. M. Benefits of physical exercise for older adults with Alzheimer's disease. **Geriatr Nurs.,** v. 29, n. 6, p. 384-391, Nov-Dec 2008.

PERROT, R. et al. Review of the multiple aspects of neurofilament functions, and their possible contribution to neurodegeneration. **Mol Neurobiol.,** v. 38, n. 1, p. 27-65, Aug 2008.

PETZINGER, G. M. et al. Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease. **Lancet Neurol.,** v. 12, n. 7, p. 716-726, Jul 2013.

PETZINGER, G. M. et al. Enhancing neuroplasticity in the basal ganglia: the role of exercise in Parkinson's disease. **Mov Disord.,** v. 25 Suppl 1, p. S141-5, 2010.

PETZINGER, G. M. et al. Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. **J Neurosci.,** v. 27, n. 20, p. 5291-5300, May 16 2007.

PINAUD, R. et al. Upregulation of the immediate early gene arc in the brains of rats exposed to environmental enrichment: implications for molecular plasticity. **Brain Res Mol Brain Res.,** v. 91, n. 1-2, p. 50-56, Jul 13 2001.

PLANT, K. et al. Transient incorporation of native GluR2-lacking AMPA receptors during hippocampal long-term potentiation. **Nat Neurosci.,** v. 9, n. 5, p. 602-604, May 2006.

RADAK, Z. et al. Exercise plays a preventive role against Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis.,** v. 20, n. 3, p. 777-783, 2010.

RAO, V. R. et al. AMPA receptors regulate transcription of the plasticity-related immediate-early gene Arc. **Nat Neurosci.,** v. 9, n. 7, p. 887-895, Jul 2006.

REAL, C. C. et al. BDNF receptor blockade hinders the beneficial effects of exercise in a rat model of Parkinson's disease. **Neuroscience.,** v. 237, p. 118-129, May 1 2013.

REAL, C. C. et al. Exercise-induced plasticity of AMPA-type glutamate receptor subunits in the rat brain. **Brain Res.,** v. 1363, p. 63-71, Dec 2 2010.

REAL, C. C. et al. Different protocols of treadmill exercise induce distinct neuroplastic effects in rat brain motor areas. **Brain Res.,** v. 1624, p. 188-198, Oct 22 2015.

RIAL VERDE, E. M. et al. Increased expression of the immediate-early gene arc/arg3.1 reduces AMPA receptor-mediated synaptic transmission. **Neuron.,** v. 52, n. 3, p. 461-474, Nov 9 2006.

SACHS, C.; JONSSON, G. Mechanisms of action of 6-hydroxydopamine. **Biochem Pharmacol.,** v. 24, n. 1, p. 1-8, Jan 1 1975.

SALGADO-DELGADO, R. et al. Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats. **Neuroscience.,** v. 154, n. 3, p. 922-931, Jun 26 2008.

SANCHEZ, C.; DIAZ-NIDO, J.; AVILA, J. Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function. **Prog Neurobiol.,** v. 61, n. 2, p. 133-168, Jun 2000.

SANS, N. et al. NMDA receptor trafficking through an interaction between PDZ proteins and the exocyst complex. **Nat Cell Biol.,** v. 5, n. 6, p. 520-530, Jun 2003.

SCHOBER, A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. **Cell Tissue Res.,** v. 318, n. 1, p. 215-224, Oct 2004.

SEGOVIA, G. et al. Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. **Mech Ageing Dev.,** v. 122, n. 1, p. 1-29, Jan 2001.

SHEPHERD, J. D. et al. Arc/Arg3.1 mediates homeostatic synaptic scaling of AMPA receptors. **Neuron.,** v. 52, n. 3, p. 475-484, Nov 9 2006.

SIEGEL, G. J.; CHAUHAN, N. B. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. **Brain Res Brain Res Rev.,** v. 33, n. 2-3, p. 199-227, Sep 2000.

SMITH, Y. et al. Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. **Neuroscience.,** v. 86, n. 2, p. 353-387, Sep 1998.

SOMMER, B. et al. Flip and flop: a cell-specific functional switch in glutamate-operated channels of the CNS. **Science.,** v. 249, n. 4976, p. 1580-1585, Sep 28 1990.

STEWARD, O. et al. Synaptic activation causes the mRNA for the IEG Arc to localize selectively near activated postsynaptic sites on dendrites. **Neuron.,** v. 21, n. 4, p. 741-751, Oct 1998.

STOTT, S. R.; BARKER, R. A. Time course of dopamine neuron loss and glial response in the 6-OHDA striatal mouse model of Parkinson's disease. **Eur J Neurosci.,** v. 39, n. 6, p. 1042-1056, Mar 2014.

SUNVISSON, H. et al. Changes in motor performance in persons with Parkinson's disease after exercise in a mountain area. **J Neurosci Nurs.,** v. 29, n. 4, p. 255-260, Aug 1997.

SZARO, B. G.; STRONG, M. J. Post-transcriptional control of neurofilaments: New roles in development, regeneration and neurodegenerative disease. **Trends Neurosci.,** v. 33, n. 1, p. 27-37, Jan 2010.

TAJIRI, N. et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats. **Brain Res.,** v. 1310, p. 200-207, Jan 15 2010.

TANAKA, K.; OGAWA, N.; ASANUMA, M. Molecular basis of 6-hydroxydopamine-induced caspase activations due to increases in oxidative stress in the mouse striatum. **Neurosci Lett.,** v. 410, n. 2, p. 85-89, Dec 20 2006.

TILLERSON, J. L. et al. Exercise induces behavioral recovery and attenuates neurochemical deficits in rodent models of Parkinson's disease. **Neuroscience.,** v. 119, n. 3, p. 899-911, 2003.

TOY, W. A. et al. Treadmill exercise reverses dendritic spine loss in direct and indirect striatal medium spiny neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse model of Parkinson's disease. **Neurobiol Dis.,** v. 63, p. 201-209, Mar 2014.

TUCKER, R. P.; GARNER, C. C.; MATUS, A. In situ localization of microtubule-associated protein mRNA in the developing and adult rat brain. **Neuron.,** v. 2, n. 3, p. 1245-1256, Mar 1989.

TUON, T. et al. Physical training exerts neuroprotective effects in the regulation of neurochemical factors in an animal model of Parkinson's disease. **Neuroscience.,** v. 227, p. 305-312, Dec 27 2012.

VAN PRAAG, H.; KEMPERMANN, G.; GAGE, F. H. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. **Nat Neurosci.,** v. 2, n. 3, p. 266-70, Mar 1999.

VANLEEUWEN, J. E. et al. Altered AMPA receptor expression with treadmill exercise in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. **J Neurosci Res.,** v. 88, n. 3, p. 650-668, Feb 15 2010.

WAUNG, M. W. et al. Rapid translation of Arc/Arg3.1 selectively mediates mGluR-dependent LTD through persistent increases in AMPAR endocytosis rate. **Neuron.,** v. 59, n. 1, p. 84-97, Jul 10 2008.

WAYNFORTH, H. B.; FLECKNELL, P. A. **Experimental and surgical technique in the rat.** (Ed.). San Diego: Academic Press, 1992. 382 p

WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. **Eur J Epidemiol.,** v. 26 Suppl 1, p. S1-5-8, Jun 2011.

WISDEN, W.; SEEBURG, P. H. Mammalian ionotropic glutamate receptors. **Curr Opin Neurobiol.,** v. 3, n. 3, p. 291-298, Jun 1993.

WRIGHT, A.; VISSEL, B. The essential role of AMPA receptor GluR2 subunit RNA editing in the normal and diseased brain. **Front Mol Neurosci.,** v. 5, p. 1-13, 2012.

WU, S. Y. et al. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. **Brain Behav Immun.,** v. 25, n. 1, p. 135-146, Jan 2011.

XU, Q. et al. Physical activities and future risk of Parkinson disease. **Neurology.,** v. 75, n. 4, p. 341-348, Jul 27 2010.

YIN, Y.; EDELMAN, G. M.; VANDERKLISH, P. W. The brain-derived neurotrophic factor enhances synthesis of Arc in synaptoneurosomes. **Proc Natl Acad Sci U S A.,** v. 99, n. 4, p. 2368-2373, Feb 19 2002.

YING, Z. et al. Exercise restores levels of neurotrophins and synaptic plasticity following spinal cord injury. **Exp Neurol.,** v. 193, n. 2, p. 411-419, Jun 2005.

YOON, M. C. et al. Treadmill exercise suppresses nigrostriatal dopaminergic neuronal loss in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's rats. **Neurosci Lett.,** v. 423, n. 1, p. 12-17, Aug 9 2007.

ZIGMOND, M. J. et al. Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. **Trends Neurosci.,** v. 13, n. 7, p. 290-296, Jul 1990.