



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS (DCNat)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS (PPGCM)

SILVANA VENANCIO DA SILVA

**O EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE NA DENSIDADE
NEURONAL E EXPRESSÃO DE ASTRÓCITOS ANTES E DEPOIS DA INDUÇÃO DA
DOENÇA DE PARKINSON EM RATOS**

São João del-Rei

2022



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS (DCNat)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS (PPGCM)

O EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE NA DENSIDADE NEURONAL E EXPRESSÃO DE ASTRÓCITOS ANTES E DEPOIS DA INDUÇÃO DA DOENÇA DE PARKINSON EM RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais, da Universidade Federal de São João Del Rei, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Morfofuncionais.

Orientadora: Dr^a Laila Cristina Moreira Damázio

Co-orientador: Dr^a Paulo Henrique de Almeida Campos-Júnior

São João del-Rei

2022

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586e Silva, Silvana Venâncio da .
O EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE
NA DENSIDADE NEURONAL E EXPRESSÃO DE ASTRÓCITOS ANTES
E DEPOIS DA INDUÇÃO DA DOENÇA DE PARKINSON EM RATOS
/ Silvana Venâncio da Silva ; orientadora Laila
Cristina Moreira Damázio; coorientador Paulo
Henrique de Almeida Campos-Júnior . -- São João
del-Rei, 2022.
55 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Ciências Morfofuncionais) -- Universidade Federal de
São João del-Rei, 2022.

1. Doença de Parkinson. 2. Astrócitos. 3. Exercício
físico. 4. Neuroproteção. 5. Substância negra. I.
Moreira Damázio, Laila Cristina , orient. II.
Almeida Campos-Júnior , Paulo Henrique de , co
orient. III. Título.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL - REI / UFSJ
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO - M.Sc.

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO PARA CONCESSÃO DO
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS**

Aos 29 dias do mês de julho do ano de dois mil e vinte e dois, às 14h, pela plataforma RNP (<https://conferenciaweb.rnp.br/webconf/laila-cristina-moreira-damazio>), foi instalada a banca examinadora de dissertação de mestrado da discente **Silvana Venâncio da Silva**. A banca examinadora foi composta pela professora Dra. Ita de Oliveira e Silva, (UFSB), examinadora externa, pela professora Dra. Etel Rocha Vieira (UFVJM), examinadora interna, pelo professor Dr. Paulo Henrique de Almeida Campos-Júnior (UFSJ), coorientador, e pela professora Dra. Laila Cristina Moreira Damázio. A professora Dra. Laila Cristina Moreira Damázio, Presidente da Banca, fez a abertura dos trabalhos e, após apresentar os membros da banca examinadora e esclarecer a tramitação da defesa, solicitou à candidata que iniciasse a apresentação da dissertação, intitulada **“O efeito do exercício físico de alta intensidade na densidade neuronal e expressão de astrócitos antes e depois da indução da doença de Parkinson em ratos”**, marcando um tempo de até sessenta minutos para a apresentação. Concluída a exposição, a Profa. Laila Cristina Moreira Damázio, presidente, passou a palavra à examinadora externa, Profa. Ita de Oliveira e Silva, para arguir a candidata, e, em seguida, à examinadora interna, Profa. Etel Rocha Vieira, e ao coorientador, Prof. Paulo Henrique de Almeida Campos-Júnior, para que fizessem o mesmo. Concluídos os trabalhos de apresentação e arguição, o resultado da avaliação da banca, conforme as normas vigentes na Universidade Federal de São João del-Rei, foi: **aprovada sem alterações na dissertação**. A versão final da dissertação deverá ser entregue ao programa no prazo de 90 (noventa) dias, a contar a partir da data da defesa (Resolução Consu N° 062, de 07 de novembro de 2011, modificada pela Resolução CONSU N° 005, de 29 de fevereiro de 2016). A candidata não terá o título senão cumprir as exigências acima descritas.



Emitido em 29/07/2022

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 3/2022 - PPGCM (13.43)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/08/2022 12:03)

LAILA CRISTINA MOREIRA DAMAZIO

PROFESSOR DO MAGISTÉRIO SUPERIOR

DEMED (12.23)

Matrícula: 1811013

(Assinado digitalmente em 03/08/2022 20:09)

PAULO HENRIQUE DE ALMEIDA CAMPOS JUNIOR

PROFESSOR DO MAGISTÉRIO SUPERIOR

NUCAL (13.46)

Matrícula: 2141553

(Assinado digitalmente em 03/08/2022 11:53)

ETEL ROCHA VIEIRA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 027.818.286-02

(Assinado digitalmente em 03/08/2022 11:24)

ITA DE OLIVEIRA E SILVA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 806.375.661-49

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufsj.edu.br/public/documentos/> informando seu número: **3**, ano: **2022**, tipo: **ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**, data de emissão: **03/08/2022** e o código de verificação: **ed76178ff5**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho com todo o meu amor e gratidão:

A minha amiga e Orientadora **Dra. Laila Cristina Moreira Damázio**, pela amizade, confiança, por entender que trabalhar integralmente e ainda fazer mestrado, não é uma tarefa fácil e ainda assim respeitar o meu tempo. Pelo exemplo sem par, pela suprema maestria na orientação e em tudo que se propõe a fazer. Sou muito grata a você por todos os ensinamentos. “Quando eu crescer, quero ser igual a você!”

Ao co-orientador **Paulo Henrique de Almeida Campos-Júnior**, por toda ajuda durante o processo, pela paciência, disponibilidade e ensinamentos compartilhados. Sou muito grata por tudo.

Ao meu amado filho **Matheus**, o dia mais importante da minha vida, foi o dia em que você chegou para mim.... calminho, cabeludo, de choro manso, olhinhos atentos e brilhantes... Tão perfeito. Tão lindo. E assim que te olhei o amor me arrebatou pela primeira vez ! Avassalador. Incondicional. E tudo em minha vida mudou por você. Com você descobri que eu poderia amar alguém, mais do que a mim mesma. Mesmo distante se faz presente em todos os momentos. Obrigada por ser a melhor parte de mim. Meu amigo, meu conselheiro, meu confidente, meu anjo, meu menino, meu príncipe. Muito mais que um filho. Ter você ao meu lado me incentivando, faz toda a diferença. Você me impulsiona na busca de querer ser mais e melhor. Te amo muito!

Ao meu amado sobrinho, **Thiago**, meu maior incentivador nesta caminhada, meu amigo, meu confidente, aquele a quem eu posso ser eu mesma sem julgamentos (como somos parecidos...), que acredita em mim de olhos fechados e que me impulsiona na busca de querer ser mais e melhor.

A minha mãe **Lêda**, mulher de uma fé inabalável, humilde, exemplo de força, coragem e determinação, que me ensinou a realizar pelo exemplo de luta e obstinação. Por me apoiar, escutar minhas lamentações, entender meu cansaço, ter sempre uma palavra de sabedoria nos momentos mais difíceis.

Ao meu cachorrinho **Theo**, meu companheiro de todas as horas, com seu olhar fixo, penetrante e seu amor incondicional. Sem dizer uma palavra, me dizia tudo. Sua presença me ajudou a manter minhas forças e sanidade mental.

Aos meus irmãos **Sergio e Sandra** pelo apoio e torcida.

AGRADECIMENTO

Poucas são as pessoas que tiveram a chance que tive.... Nem por isso me considero apenas privilegiada, mais que isso "iluminada". O mérito desta conquista não é meu e sim dessas pessoas luz que acenderam e ascenderam em mim o que tenho de melhor. Sem elas em meu caminho, nem todo esforço - que confesso, não foi pouco- e competência me fariam chegar onde estou. Mais que amigos nessa luta tive pais, pessoas que acreditaram e que terão para sempre minha gratidão.

Agradeço a **Deus**, fonte inesgotável de sabedoria, amor e misericórdia, que me concedeu o dom da vida e me proporciona tantas oportunidades. Obrigada pela imensas bênçãos derramadas, pela presença constante em minha vida, por caminhar ao meu lado e quando já me encontro sem forças me carregar no colo.

A **Nossa Senhora Aparecida** ("minha Mãezinha do céu", Rainha do Céu e da Terra) pela intercessão contínua, amparo constante diante de todas as minhas aflições e por guiar todos os passos da minha vida e me surpreender com tantas bênçãos.

A minha amiga **Márcia Reimol**, sem você não teria conseguido. Obrigada por ser meu porto seguro nesse mestrado, mais que um grande apoio ganhei uma grande amiga, que me ensinou muito, que mesmo ocupada tirava um tempo para me ajudar ou tirar uma dúvida, que me motivou a seguir em frente, sem me importar com a opinião alheia, das inúmeras conversas durante horas ao telefone, por ouvir todas as minhas ladainhas e pelas inúmeras risadas, por abrir as portas da sua casa e da sua família. Seu apoio foi fundamental e sou muito grata a você.

A minha amiga **Graziele Moreira**, caminhamos juntas durante todo processo, aprendemos juntas o manejo com os animais e choramos juntas a perda deles ... Obrigada pela amizade, companheirismo, cumplicidade, conversas durante horas ao telefone (quantas ladainhas, desabafos, indignações e risadas). Eu coração e você razão, e ao longo da jornada acabamos invertendo os papéis rsrs). Amiga formamos uma bela dupla! Muito obrigada!

Ao **Luan**, pela paciência, companhia, disponibilidade, pelas palavras amigas e sacudidas quando necessárias, por todo o conhecimento compartilhado e por toda ajuda tanto na pesquisa. Gratidão eterna!

Ao meu amigo **Alisson Kennedy** ("gatão" para os íntimos) por toda paciência, companheirismo, conversas, por me socorrer sempre (Alisson me socorre aqui rsrs). Meu muito obrigada!

A todos os anjos e amigos que fizeram parte dessa caminhada (**Luana, Augusto, Isabela, Ismael, Duda, Luna, Zenaide**) vocês foram essenciais. Tantas pessoas, tanto apoio, tantas conversas, agradeço imensamente.

A todos do **PPGCM**, por todo o conhecimento compartilhado. Minha eterna gratidão.

RESUMO

A Doença de Parkinson (DP) acomete os neurônios dopaminérgicos localizados na parte compacta da substância negra. A prática do exercício físico de resistência é uma intervenção não farmacológica que vem sendo testada no tratamento da DP. Assim, o presente projeto tem como objetivo investigar os efeitos dos exercícios de alta intensidade na escada na densidade neuronal e expressão de astrócitos no encéfalo de ratos com DP que exercitaram antes e depois da indução da doença. Foram utilizados 80 ratos, Wistar, sendo distribuídos da seguinte forma: 10 animais treinados antes da indução da DP (DP-Exa), 10 treinados depois da indução da DP (DP-Exd); 10 treinados antes e depois da indução da DP (DP-Exad) e 10 animais sedentários (DP-Sed). Os mesmos grupos foram distribuídos para o grupo sem DP (Sham). O treinamento físico de alta intensidade foi realizado na escada vertical antes e/ou após a indução da DP. Foi realizado durante 5 dias/semana, 30 a 45 minutos, por 4 semanas. A indução da DP foi realizada pelo modelo de lesão eletrolítica nas coordenadas: AP igual a -4,9, ML igual a 1,7 e DV igual a 8,1. O desempenho motor dos animais foi avaliado no início e no final do treinamento com os testes passo em falso, barras paralelas e campo aberto. No final do experimento, o encéfalo foi retirado para histoquímica, através da coloração pelo método de *Nissl*, e imunohistoquímica para a expressão da Proteína Ácida Fibrilar Glial (GFAP) dos astrócitos da substância negra e estriado. O estudo histomorfométrico foi realizado com o programa Image J para contagem dos neurônios e dos astrócitos (GFAP). Utilizou-se o programa GraphPad Prism 9.3, teste ANOVA one-way, seguido do *post-hoc* de Tukey ($p < 0,05$). A análise demonstrou melhor desempenho dos animais que treinaram em comparação ao grupo sedentário, nos testes de barras paralelas e campo aberto. Os dados da contagem de neurônio no *striatum*, na substância negra e GFAP, nos animais dos grupos DP-Exa, Sham-Exa, DP-Exad e Sham-Exad apresentaram maior quantidade de neurônios e maior expressão de GFAP, quando comparados aos grupos DP-Exd, Sham-Exd, DP-Sed e Sham-Sed. Dessa forma foi possível concluir que os animais que realizaram o treinamento de alta intensidade antes, e antes e depois da indução da DP apresentaram maiores densidades de neurônios e astrócitos.

Palavras-Chaves: Doença de Parkinson, astrócitos, exercício físico, neuroproteção, substância negra, corpo estriado.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) affects dopaminergic neurons located in the pars compacta of the substantia nigra. The practice of resistance physical exercise is a non-pharmacological intervention that has been tested in the treatment of PD. Thus, the present project aimed to investigate the effects of high-intensity exercise on neuronal density and astrocyte expression in the brain of rats with PD that exercised before and after disease induction. Eighty Wistar rats were used, distributed as follows: 10 animals trained before PD induction (DP-Exa), 10 trained after PD induction (DP-Exd); 10 trained before and after PD induction (DP-Exad) and 10 sedentary animals (DP-Sed). The same groups were distributed to the group without PD (Sham). High-intensity physical training was performed on the vertical ladder before and/or after PD induction. It was performed for 5 days/week, 30 to 45 minutes, for 4 weeks. PD induction was performed using the electrolytic lesion model in the coordinates: AP equal to -4.9, ML equal to 1.7 and DV equal to 8.1. The animals' motor performance was evaluated at the beginning and at the end of training with false step the test, parallel bars test and open field tests. At the end of the experiment, the brain was removed for histochemistry, staining by the Nissl method, and immunohistochemistry for expression of Glial Fibrillary Acid Protein (GFAP) from the substantia nigra and striatum. The histomorphometric study was performed with the Image J program for counting neurons and astrocytes (GFAP). The GraphPad Prism 9.3 program was used, one-way ANOVA test, followed by Tukey's post-hoc ($p < 0.05$). The analysis showed better performance of the animals that trained compared to the sedentary group, in the parallel bars and open field tests. Data on neuron counts in the striatum, substantia nigra and GFAP in the animals of the DP-Exa, Sham-Exa, DP-Exad and Sham-Exad groups showed a greater number of neurons and greater expression of GFAP, when compared to the groups DP-Exd, Sham-Exd, DP-Sed and Sham-Sed. In conclusion, the groups of animals that performed high-intensity training before, before and after PD induction had higher densities of neurons and astrocytes.

Key-words: Parkinson Disease, astrocytes, exercise, neuroprotection, substantia nigra, corpus striatum.

Sumário:

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Doença de Parkinson	16
2.2	Fisiopatologia da Doença de Parkinson.....	17
2.3	Formas de Indução da DP em modelos experimentais.....	20
2.4	Intervenções não farmacológicas no tratamento da DP.....	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	Objetivo Geral.....	23
3.2	Objetivos Específicos.....	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	Animais.....	24
4.2	Treinamento Físico.....	25
4.3	Cirurgia de Indução da DP.....	27
4.4	Histoquímica do tecido nervoso.....	28
4.5	Imunohistoquímica dos astrócitos.....	29
4.6	Desempenho Motor.....	30
4.7	Análise Estatística.....	32
5	RESULTADOS	33
5.1	Lesão na Substância Negra do Mesencéfalo.....	33
5.2	Massa corporal	33
5.3	Desempenho funcional.....	34
5.4	Quantificação de neurônios na substância negra.....	37
5.5	Quantificação de neurônios no estriado.....	39
5.6	Quantificação de expressão de GFAP em astrócitos.....	40
6	DISCUSSÃO	42
7	CONCLUSÃO	46
8	REFERÊNCIAS	47

Lista de figuras:

Figura 1. Síntese de dopamina na DP.....	16
Figura 2. Núcleos da Base - corte coronal do encéfalo.....	18
Figura 3. Vias diretas e indiretas dos núcleos da base.....	19
Figura 4. Esquema dos experimentos.....	25
Figura 5. Modelo de treinamento de alta intensidade na escada vertical..	27
Figura 6. Modelo de indução da DP na mesa estereotáxica.....	28
Figura 7. Coloração de Nissl do estriado do cérebro de ratos.....	29
Figura 8. Expressão de GFAP nos astrócitos dos cérebros dos ratos.....	30
Figura 9. Teste de passo em falso.....	31
Figura 10. Teste de barras paralelas.....	31
Figura 11. Teste de campo aberto.....	32
Figura 12. Fotomicrografia da substância negra do mesencéfalo no aumento de 4X.....	33
Figura 13. Média de subidas e quadrantes no teste de campo aberto antes da cirurgia de indução da DP e Sham.....	35
Figura 14. Média de subidas e quadrantes no teste de campo aberto depois da cirurgia de indução da DP e Sham.....	36
Figura 15. Média de neurônios na substância negra do mesencéfalo esquerdo e direito, no aumento de 100X.....	38
Figura 16. Média de neurônios no estriado esquerdo e direito.....	39
Figura 17. Astrócitos que expressaram GFAP na substância negra do mesencéfalo do lado esquerdo e direito, no aumento de 100X.....	40

Lista de tabelas:

Tabela 1.	Dados da massa corporal dos grupos de animais.....	34
Tabela 2.	Número de erros no teste de barras paralelas no início e no final dos experimentos.....	34
Tabela 3.	Número de erros no teste de passo em falso na pata dianteira direita (D) e esquerda (E) no início e no final dos experimentos.....	35
Tabela 4.	Médias de subidas e quadrantes visitados no teste de campo aberto após treinamento e/ou antes da cirurgia entre os grupos de animais.....	36
Tabela 5.	Médias de subidas e quadrantes visitados no teste de campo aberto após a cirurgia entre os grupos de animais.....	37
Tabela 6.	Média de neurônios na substância negra do lado esquerdo e direito.	38
Tabela 7.	Média de neurônios no estriado do lado esquerdo e direito.....	39
Tabela 8.	Média de astrócitos com expressão de GFAP do lado esquerdo e direito da substância negra do mesencéfalo.....	41

Lista de abreviaturas:

DP – Doença de Parkinson
OMS – Organização Mundial da Saúde
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
SNpc - Substância negra em sua porção compacta
DA- Dopamina
CPU – Putâmen
GPI– Globo pálido interno
GPE– Globo pálido externo
SNr– Substância negra pars reticulada
NST– Núcleo subtalâmico
SNC – sistema nervoso central
GFAP– Proteína Ácida Fibrilar Glial
6-OHDA– 6-hidroxidopamina
MPTP – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
LPS – Lipopolissacarídeo
SN – Sistema Nervoso
Sham – Grupo sem lesão eletrolítica
DP-Exa – Grupo doença de parkinson treinados antes da indução
DP-Exd – Grupo doença de parkinson treinados depois da indução
DP-Exad – Grupo doença de parkinson treinados antes e depois da indução
DP-Sed– Grupo doença de parkinson sedentários
Sham-Exa – Grupo Sham treinados antes da indução
Sham-Exd – Grupo Sham treinados depois da indução
Sham-Exad – Grupo Sham treinados antes e depois da indução
Sham-Sed – Grupo Sham sedentários
SatO2 – saturação de oxigênio
Fcmáx. – frequência máxima
EF – Exercício físico
EFV – Exercício físico voluntário
BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro
OACCB – Oclusão da Artéria Carótida Comum Bilateral

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa progressiva, definida pela presença de sintomas motores debilitantes como a bradicinesia, tremores, rigidez muscular e sintomas não motores que incluem disfunção intestinal, depressão, declínio cognitivo, distúrbios do sono e perda do sentido do olfato (LEES, HARDV, J. REVESZ, T., 2009 ; FREIRE, 2015). Sua etiologia é idiopática, mas acredita-se que a mesma surge a partir de fatores ambientais, genéticos, com alterações da microbiota intestinal e com o processo de envelhecimento, que é o principal fator de risco, devido à aceleração da perda de neurônios dopaminérgicos com o passar dos anos (SOUZA *et al*, 2011; SAMPSON, *et al*, 2016).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) a DP afeta mais de 1% da população acima de 65 anos (IBGE, 2008). No Brasil, há estimativas de que cerca de 200 mil pessoas estejam acometidas por essa doença (SANTOS, 2015). A mesma é caracterizada pela degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra *pars compacta*, onde ocorre o rompimento da rede dos núcleos basais do mesencéfalo, estriado e córtex (COOKSON, 2009; BYERS, 2010).

Considerando o envelhecimento populacional e o impacto da doença na economia e na sociedade, é de extrema importância o desenvolvimento de tratamentos mais baratos e eficazes no seu enfrentamento (MIN.SAÚDE, 2014; SANTOS, 2015). Dessa forma, estudos na área de saúde estão voltados para criação de métodos e estratégias que estimulem a plasticidade neuronal, por meio de treinamento físico, proporcionando melhora da capacidade funcional e da qualidade de vida (PONDÉ *et al.*, 2019; SCORZA *et al.*, 2020).

Muitas pesquisas têm utilizado modelos de animais com Parkinson, a fim de verificar as adaptações musculoesqueléticas com o exercício físico, bem como compreender as alterações fisiológicas, bioquímicas e morfofuncionais na doença (DAMIANI *et al.*, 2020). O benefício do exercício físico regular e sistematizado tem sido associado aos efeitos neuroprotetores e ativadores do sistema dopaminérgico *nigroestriatal* (YANG *et al.*, 2015; MELO *et al.*, 2019). A prática do exercício físico de resistência é uma intervenção não farmacológica que vem sendo testada no tratamento da DP (SCHENKMAN, *et al.*, 2018).

O exercício físico é reconhecido por ser uma alternativa preventiva e

terapêutica, para diversas doenças (AHLKOG, 2011; PETZINGER *et al.*, 2013). Há indícios de que o exercício físico regular sistematizado tenha papel neuroprotetor na DP. (YANG *et al.*, 2015; MELO *et al.*, 2019). Estudos com exercícios físicos de leve e média intensidade já foram comprovados como eficazes nesse sentido, bem como na melhora das condições musculoesqueléticas desses indivíduos (RUBERT, *et al.*, 2007), no entanto, os exercícios de alta intensidade ainda não foram testados em animais com DP, sendo necessário pesquisar seu efeito neuroprotetor (YANG, *et al.*, 2015).

Há também uma escassez de referências científicas em relação aos efeitos do exercício de alta intensidade para recuperação do desempenho motor e da densidade neuronal, no encéfalo de ratos com DP. Assim, o estudo torna-se relevante como estratégia de intervenção clínica e motora nesses animais, além de apresentar resultados que poderão orientar para realização de estratégias preventivas e terapêuticas nesta doença.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Doença de Parkinson

Os primeiros estudos sobre DP foi realizado em 1817, pelo médico britânico James Parkinson, cuja monografia foi intitulada “Um ensaio sobre a paralisia trepidante”, na qual a descreveu como uma "paralisia agitante" (BLOEM; OKUN, 2021).

Posteriormente Jean Charcot (1872), deu nome “La maladie de Parkinson”, em homenagem e reconhecimento ao trabalho de James Parkinson, e ainda acrescentou ao quadro clínico da doença que fora descrito inicialmente, características como a micrografia (caligrafia com letras pequenas que se reduzem progressivamente), presença de alteração postural, rigidez muscular, comprometimento da memória e disfunções cognitivas, acompanhada também por uma série de manifestações não motoras, como a ansiedade, depressão, demência e distúrbios autonômicos (TEIVE, 1998; DAWSON; DAWSON, 2003; MISHRA; DIXIT, 2022).

Cem anos depois, determinou-se que a DP está relacionada a perda de neurônios na substância negra em sua porção compacta (SNpc) e da diminuição da concentração de dopamina (DA) no estriado (área de projeção dos neurônios), como demonstrado na figura 1 (KANDELL, 2012), acarretando além dos sintomas descritos, alterações generalizadas em diferentes áreas do cérebro, determinado pela inclusão de corpos de Lewy (tálamo, hipotálamo, bulbo olfatório ou do tronco encefálico) ou alterações no sistema nervoso autônomo, assinalando que a DP não é apenas uma alteração motora, mas um distúrbio sensorial, cognitivo, psiquiátrico e autônomo (GIRÁLDEZ-PÉREZ *et al.*, 2014; ARIZA-SERRANO, 2016).

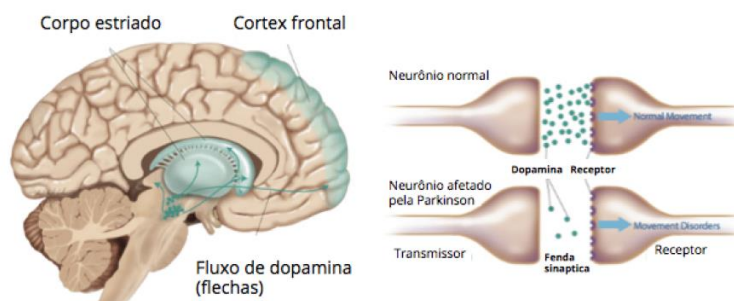


Figura 1. Síntese de dopamina na DP. **Fonte:** Adaptado de KANDEL (2012).

As alterações fisiológicas que a DP desencadeia comprometem as funções e o equilíbrio do organismo, além de produzir alterações no sistema estomatoglossognático (ALBUQUERQUE; SILVA, 2016).

2.2. Fisiopatologia da Doença de Parkinson

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, afetando mais de 1% da população mundial acima de 65 anos (ASCHERIO; SCHWARZSCHILD, 2016). No Brasil, foi relatada uma prevalência de 3% na população acima de 65 anos. Com o aumento da expectativa de vida, há uma tendência de aumento na prevalência desta doença (PETERNELLA; MARCON, 2009).

Atualmente é definida como uma doença neurodegenerativa progressiva, devido à presença de sintomas motores debilitantes como a bradicinesia, tremores, rigidez muscular e sintomas não motores que incluem disfunção intestinal, depressão, declínio cognitivo, distúrbios do sono e perda do sentido do olfato, visto que, neurodegenerações além da SNpc estão presentes (LEES; HARDV; REVEZ, 2009; FREIRE, 2015; BLOEM; OKUN, 2021).

Sua etiologia é idiopática, mas acredita-se que ela surge a partir de fatores ambientais, genéticos, com alterações da microbiota intestinal e com o processo de envelhecimento, que é o principal fator de risco, devido à aceleração da perda de neurônios dopaminérgicos com o passar dos anos (SOUZA *et al.*, 2011; SAMPSON *et al.*, 2016).

A DP acomete os neurônios dopaminérgicos da parte compacta da substância negra do mesencéfalo (SNpc) e as suas conexões com os núcleos da base. Eles por sua vez formam um circuito extremamente organizado, onde diferentes regiões podem ser ativadas para a realização das funções e circunstâncias específicas (CAI *et al.*, 2015; BOUÇA-MACHADO, 2018).

O circuito é composto por quatro núcleos: estriado (núcleo *accumbens*, caudado e putâmen (CPu); globo pálido interno (GPi) e externo (GPe); substância negra pars compacta (SNcp) e pars reticulada (SNr) e núcleo subtalâmico (NST); e apesar de não se comunicarem diretamente com a medula espinhal, recebem informações do córtex, tálamo e regiões do tronco encefálico, efetuando as correções necessárias do movimento e enviam sinais de volta ao córtex através do tálamo ou

núcleo pedúnculo-pontino (KANDEL *et al.*, 2012), como evidenciado na figura 2.

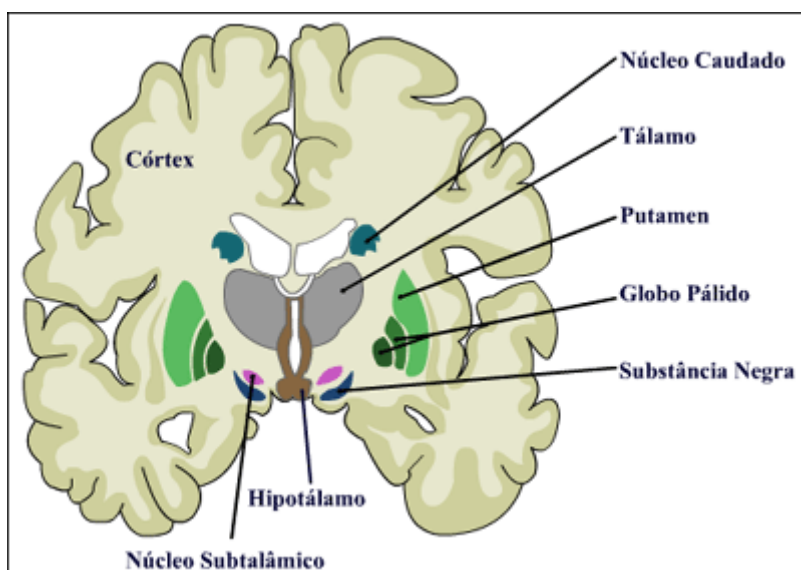


Figura 2. Núcleos da Base - corte coronal do encéfalo.

Fonte: ARRUDA; MENESES (1996)

Esses núcleos pertencem ao sistema motor extrapiramidal, desempenhando um papel fundamental no controle, planejamento, aprendizado, execução de habilidades motoras e movimentos automáticos, realizados através de duas vias: via direta e indireta. (DOYON *et al.*, 2009; KANDEL *et al.*, 2012; ROLINSKI *et al.*, 2015).

A via indireta é responsável pela iniciação e finalização do movimento e a via direta responsável pelo auxílio e manutenção do movimento motor durante sua execução, evitando movimentos indesejáveis e disparos inibitórios. Para isso é necessário que haja uma perfeita comunicação entre o tálamo e córtex cerebral (LENT, 2010; BELIN, *et al.*, 2015). A interrupção da via dos núcleos basais ocasiona uma diminuição da atividade do tálamo, que deixa de exercer o controle da função cortical, por meio da ativação glutamatérgica. Conseqüentemente, ocorre uma diminuição gradual da atividade do córtex motor, em especial no córtex motor primário e na área motora suplementar (FREIRE, 2015).

Na figura 3 é possível evidenciar a relação entre o córtex cerebral, os núcleos da base e o tálamo. As vias excitatórias e inibitórias estão representadas em esquema de condução nervosa entre as estruturas que regulam o movimento motor. O resultado final da via indireta é a inibição, enquanto o da via direta é a excitação.

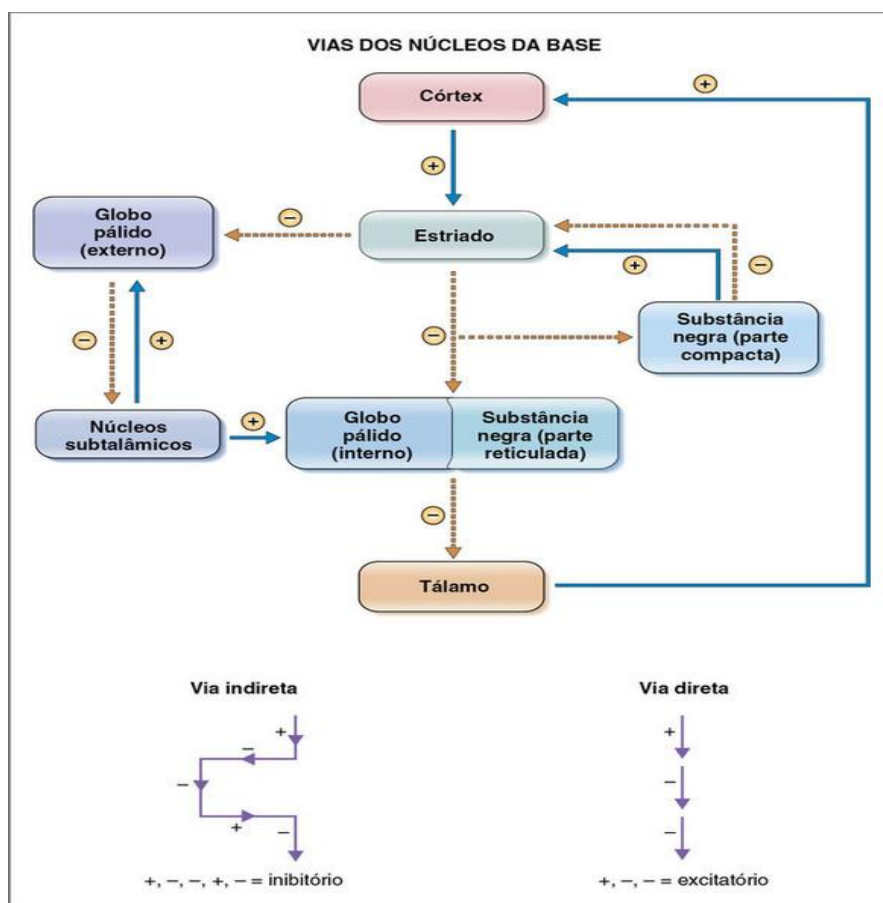


Figura 3. Vias diretas e indiretas dos núcleos da base.
Fonte: Costanzo (2019).

Na DP, há evidências da ocorrência no *locus ceruleus*, núcleo basal de Meynert e no núcleo dorsal do nervo vago, de diminuição da dopamina na via *nigroestriatal*. Como consequência, ocorrem problemas na capacidade funcional do indivíduo acometido. A presença de contração muscular constante é decorrente do excesso de acetilcolina na fenda sináptica, o que desencadeia sintomas característicos de lesão extrapiramidal, alteração do tônus muscular e diminuição dos movimentos posturais e involuntários (RIZZO, *et al.*, 2016; LEANDRO; TEIVE, 2017).

A via *nigroestriatal* é uma via dopaminérgica de projeção importante, tendo início nos neurônios da substância negra compacta do mesencéfalo e término nos espinhos dos dendritos dos neurônios de projeção médios do núcleo estriado. A dopamina proveniente do mesencéfalo é capaz de modular a atividade da circuitaria neuronal (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

A microglia também está relacionada com a fisiopatologia da DP onde a variação dos fagócitos é responsável pelo remodelamento e maturação cerebral, pois fagocita as células em apoptose ou mortas. (WOJTERA *et al.*, 2005). Esta célula funciona como um sensor de eventos patológicos do sistema nervoso central (SNC),

pois está envolvida em diversas doenças neurodegenerativas. Há uma interação entre microglia e o desenvolvimento da DP, tendo em vista que a ativação microglial precede a perda de neurônios dopaminérgicos. Um dos mecanismos sugeridos para esta interação é a grande quantidade de microglia presente na substância negra em sua porção compacta (RODRIGUEZ-PALLARES *et al.*, 2007). A presença e ativação destas células (microgliose) pode ser verificada por um marcador de microglia e de astrócito, o CD11b. Este marcador é o receptor de C3bi, que é encontrado em monócitos, macrófagos e microglia. O anticorpo reconhece o marcador, que pode estar presente nas formas ativa e inativa da micróglia (MARINOVA-MUTAFCHIEVA *et al.*, 2009).

Os astrócitos são subtipos de células gliais e são classificadas como macroglia do SNC, também conhecidas como astroglia. Para evidenciá-las em análise histológica, utiliza-se uma proteína marcadora, a Proteína Ácida Fibrilar Glial (GFAP), que tem papel modulador na mobilidade e na forma do astrócito. A GFAP é expressa em todo o SNC, principalmente em áreas de lesões encefálicas (DUTRA *et al.*, 2012).

Na DP ocorre aumento da ativação dos astrócitos, que ficam reativos e respondem de forma típica. Este fenômeno é conhecido como astrogliose, se caracteriza por rápida síntese de filamentos de GFAP, próximo ao local da lesão. Deste modo, esta proteína funciona como um biomarcador sensível e precoce da neurotoxicidade (DUTRA *et al.*, 2012). A diminuição da expressão da GFAP pode estar relacionada com a melhora motora, e o exercício físico pode ser uma opção preventiva e terapêutica para diversas doenças (AHLSSKOG, 2011; PETZINGER *et al.*, 2013).

2.3. Formas de Indução da Doença de Parkinson em modelos experimentais

Algumas substâncias denominadas neurotoxinas, são utilizadas, nos estudos de modelos de animais, para indução da DP e apresentam particularidades capazes de produzir a mesma lesão nos neurônios dopaminérgicos da SNpc, acompanhada de sintomas semelhantes ao parkinsonismo (SMEYNE *et al.*, 2005; PURISAI *et al.*, 2007).

Entre as neurotoxinas utilizadas para indução da DP estão: 1) 6-hidroxidopamina (6-OHDA), presente no encéfalo de pacientes com DP; 2) contaminantes da heroína sintética - 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP); 3) herbicidas e pesticidas como a rotenona, paraquat e maneb; 4) metais como manganês; 5) lipopolissacarídeo (LPS) (JELLINGER *et al.*, 1995).

Um grande avanço surgiu com o uso da 6-OHDA na indução da DP, visto que

esta molécula é transportada para os corpos celulares e para as fibras de neurônios dopaminérgicos e noradrenérgicos, causando degeneração dos terminais nervosos, afetando regiões do corpo celular. A microinjeção de 6-OHDA causa destruição total dos neurônios da SNpc (GOMES; DEL BEL, 2003).

Além das neurotoxinas, outra forma de indução da DP, que tem sido objeto de estudo é a lesão eletrolítica da substância negra, sendo um mecanismo preciso que induz a destruição inespecífica de células neuronais e gliais, bem como do tecido conjuntivo, nas proximidades da ponta do eletrodo, sendo capaz de destruir outras vias neuronais do trato *nigroestriatal* (GOMES; DEL BEL, 2003).

Ambos os modelos mais utilizados na indução da DP, acima citados, são eficazes e comprometem a via *nigroestriatal* (GOMES; DEL BEL, 2003).

2.4. Intervenções não farmacológicas no tratamento da DP

As doenças degenerativas do Sistema Nervoso (SN) comprometem o equilíbrio funcional do indivíduo (FERNANDEZ *et al.*, 2016). A DP ainda não tem cura e o tratamento atualmente realizado é medicamentoso e têm como finalidade a melhora dos sinais e sintomas motores e não motores, proporcionando mais qualidade de vida aos portadores da doença (ARMSTRONG e OKUN, 2020; MONTI *et al.*, 2022).

Diante das limitações da terapia farmacológica convencional, um grande número de terapias não farmacológicas experimentais tem surgido nas últimas décadas com resultados promissores para o tratamento e prevenção da DP (HILARIO *et al.*, 2016; MORAES *et al.*, 2016).

Muitas pesquisas têm utilizado modelos de animais com DP, a fim de verificar as adaptações musculoesqueléticas através do exercício físico, bem como compreender as alterações fisiológicas, bioquímicas e morfofuncionais na doença (DAMIANI *et al.*, 2020). O benefício do exercício físico regular e sistematizado tem sido associado aos efeitos neuroprotetores e ativadores do sistema dopaminérgico *nigroestriatal* (YANG *et al.*, 2015; MELO *et al.*, 2019).

O exercício físico é capaz de ativar cascatas moleculares e celulares responsáveis pelo suporte e manutenção da plasticidade além de ser uma opção preventiva e terapêutica para diversas doenças (AHLISKOG, 2011, PETZINGER *et al.*, 2013).

O benefício do exercício físico regular e sistematizado tem sido associado aos

efeitos neuroprotetores e ativadores do sistema dopaminérgico *nigroestriatal* e a prática do exercício físico de resistência é uma intervenção não farmacológica que está sendo testada no tratamento da DP (YANG *et al.*, 2015; SCHENKMAN, *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2019). Estudos com exercícios físicos de leve e média intensidade já foram comprovados como sendo eficazes na melhora das condições musculoesqueléticas de pacientes com DP, bem como seu efeito neuroprotetor (RUBERT *et al.*, 2007); no entanto os exercícios de alta intensidade ainda não foram testados em animais com DP (YANG *et al.*, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Investigar os efeitos do treinamento de alta intensidade na densidade neuronal e expressão de astrócitos antes e depois da indução da DP em ratos, por lesão eletrolítica da substância negra do mesencéfalo.

3.2. Objetivos Específicos

- Investigar o efeito neuroprotetor dos exercícios de alta intensidade.
- Analisar a eficácia dos exercícios de alta intensidade, realizados depois da DP, na promoção da diminuição da lesão na substância negra do mesencéfalo, como na melhora do desempenho motor dos animais.
- Correlacionar os efeitos dos exercícios antes e depois da indução da DP, no encéfalo com o desempenho motor de ratos.
- Avaliar a densidade de neurônios na substância negra, *striatum* e córtex cerebral dos ratos com DP, que realizaram o protocolo de exercício físico de alta intensidade, confrontando com os ratos sedentários.
- Avaliar a expressão de GFAP nos astrócitos na substância negra do mesencéfalo de ratos que realizaram o exercício físico de alta intensidade, confrontando com os ratos sedentários.
- Avaliar o desempenho motor antes e depois do treinamento de alta intensidade e a indução da DP.

4. MATERIALE MÉTODOS

Os procedimentos seguiram as normas éticas brasileiras, recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos animais e do Código Brasileiro de Experimentação Animal. O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética Envolvendo o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de São João Del-Rei, apresentando como número de protocolo 9049140321 (BRASIL, Lei 11794/08).

4.1. Animais

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Reabilitação, do Departamento de Medicina, da UFSJ.

Para o cálculo amostral foi considerado como referência o estudo de ARZUZA *et al.*,(2017), que também utilizou o modelo de indução da DP com lesão da substância negra do mesencéfalo na mesa estereotáxica e grupos com 10 animais.

Foram utilizados 80 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus, var. albinus*), com 40 dias de vida e massa corporal entre 250 e 450 g, provenientes do Núcleo de Criação de Animais de Laboratório (NUCAL). Foram mantidos em gaiolas de polipropileno, com acesso livre a água e ração, fotoperíodo claro/escuro de 12 horas, temperatura ambiente entre 21 e 22°C e umidade relativa do ar de 60-70%.

A distribuição da amostra foi em dois grupos experimentais: Grupo indução da DP através do modelo de lesão eletrolítica da substância negra do mesencéfalo (DP) e Grupo Sham (sem lesão eletrolítica/ falsa cirurgia), pesados no início do experimento, após a cirurgia de indução da DP (GOMES; DEL BEL, 2003) ou falsa cirurgia e no final do experimento com 80 dias. Os 2 grupos foram subdivididos em 4 grupos cada um, como descrito abaixo.

Quarenta animais (n=40) foram submetidos à cirurgia de indução da DP por lesão eletrolítica e foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes subgrupos:

DP-Exa - 10 animais treinados antes da indução da DP;

DP-Exd - 10 animais treinados depois da indução da DP;

DP-Exad -10 animais treinados antes e depois da indução da DP;

DP-Sed - 10 animais sedentários com indução da DP.

Quarenta (n=40) animais (controle/sham) foram submetidos ao acesso cirúrgico, mas não à lesão eletrolítica (*Sham*) da DP, e foram distribuídos nos seguintes

subgrupos:

Sham-Exa - 10 animais treinados antes da falsa cirurgia/*sham*;

Sham-Exd - 10 animais treinados depois da falsa cirurgia/*sham*;

Sham-Exad - 10 animais treinados antes e depois da falsa cirurgia/*sham*;

Sham-Sed - 10 animais sedentários com falsa cirurgia/*sham*

A representação esquemática dos experimentos está ilustrada na figura 4 abaixo.

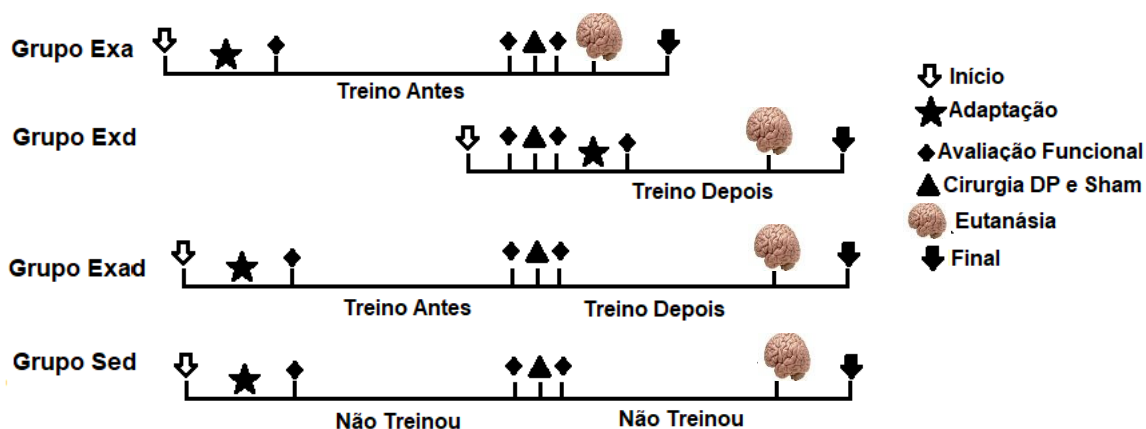


Figura 4. Esquema dos experimentos. Grupo Exa – Animais exercitados antes da DP e Sham; Grupo Exd – Animais exercitados depois da DP e Sham; Grupo Exad – Animais exercitados antes e depois da DP e Sham; Grupo Sed – Animais sedentários com DP e Sham. **Fonte:** autora.

4.2. Treinamento Físico

Os animais foram adaptados à escada vertical por três dias que antecederam o início do treinamento, realizando três tentativas por dia, sem nenhuma sobrecarga. Os animais foram posicionados na câmara de alojamento por 60 segundos para a familiarização com o ambiente seguro. Na primeira tentativa os animais permaneceram a uma distância de 35 cm da câmara; na segunda tentativa a uma distância de 55 cm e na terceira tentativa a uma distância de 110 cm da câmara.

A escada vertical foi modificada no estudo de Peixinho- Pena *et al.*, (2012) e possui 110 cm de comprimento, 18 cm de largura e 80° de inclinação. A caixa de alojamento na extremidade superior da escada possui 20 cm de altura, 20 cm de largura

e 20 cm de setores de habitação.

Após o período de adaptação, os ratos pertencentes ao grupo treinado baseado no protocolo de treinamento de alta intensidade, foram submetidos ao exercício na escada vertical durante 4 semanas, 5 dias por semana, com uma duração média de 30 a 45 minutos para cada sessão, com 8 sessões de 8 escaladas, sendo a primeira e segunda escalada com 50% da massa corporal do animal, 3ª e 4ª escalada com 75% da massa corporal do animal, 5ª e 6ª escaladas com 90% da massa corporal e a 7ª e 8ª escalada com 100% da massa corporal do animal (HORNBERGER *et al.*, 2004; PEIXINHO- PENA *et al.* 2012).

Os intervalos entre as séries foram de 60 segundos para que o animal tivesse um descanso na câmara de alojamento.

Os animais foram pesados diariamente antes do exercício físico, a fim de realizar o cálculo da carga (através da porcentagem do peso corporal), que o animal usaria durante a realização do exercício físico. A frequência cardíaca máxima (FCmáx.) e a saturação de oxigênio (SatO₂) do animal foram monitoradas, através do oxímetro de pulso (Contec®), com o objetivo de confirmar que, o exercício físico realizado atingisse 80 a 95% da FCmáx. do animal, comprovando assim que o exercício físico realizado era um exercício físico de alta intensidade.

O peso utilizado foi fixado na porção proximal da cauda do animal a 3 cm da sua raiz caudal contendo um formato cilíndrico que totaliza 16 cm de comprimento (Figura 5), preso com uma linha de lã envolvida por uma fita de borracha adesiva ajustado de forma a proteger a pele do animal (HORNBERGER, 2004; PEIXINHO-PENA *et al.*, 2012; CASSILHAS *et al.*, 2013).

O protocolo de exercício físico de alta intensidade foi realizado antes, após e antes e após a cirurgia de indução da DP (pelo modelo de estimulação eletrolítica) e /ou cirurgia *Sham* (falsa cirurgia). (GOMES; DEL BEL, 2003).

Os animais do grupo sedentário não realizaram nenhum tipo de exercício, permaneceram dentro das caixas durante quatro semanas antes da cirurgia e quatro semanas após a cirurgia, sendo apenas retirados da caixa para controle de peso, limpeza e higienização.



Figura 5. Modelo de treinamento de alta intensidade na escada vertical. Animal com peso na cauda durante o treinamento. **Fonte:** autora

4.3. Cirurgia de Indução da DP

Os ratos passaram por anestesia intraperitoneal com Cetamina (75mg/Kg) e Xilazina (10mg/Kg), seguido do posicionamento da cabeça do animal na mesa esterotóxica. Foi realizada tricotomia e limpeza com álcool iodado da região onde foi realizado o procedimento cirúrgico, retirando o periósteo até chegar à região entre o Lambda e o Bregma, seguido da aplicação de um eletrodo para estimulação eletrolítica (Figura 6). As coordenadas para a aplicação do eletrodo foram na região AP (anteroposterior) igual a - 4,9, ML (médialateral) igual a 1,7 e DV (dorsoventral) a 8,1 (LEZCANO *et al.*, 2010). No grupo DP o eletrodo fez uma lesão na substância negra a partir de uma carga de corrente de 1mA por 10 segundos e permaneceu no local após a lesão por cerca de três minutos, após foi retirado. O grupo Sham foi submetido ao mesmo procedimento, entretanto nenhuma corrente foi gerada (GOMES; DEL BEL, 2003). Após finalização do procedimento, os eletrodos foram retirados, a região suturada com linha cirúrgica e realizados cuidados pós operatórios com administração de antiinflamatório spray (Dermotrat®) e oral (1,0 ml de Cetoprofeno®) (GOMES e BEL, 2003; LEZCANO *et al.*, 2010).



Figura 6. Modelo de indução da DP na mesa estereotáxica. Animal posicionado na mesa estereotáxica com eletrodo inserido para lesão eletrolítica da substância negra do mesencéfalo. **Fonte:** autora

4.4.Histoquímica do tecido nervoso

Após o programa de exercícios físicos, os animais foram eutanasiados, utilizando anestésico inalatório (isoflurano), aplicados com algodão embebido (100%) em ambiente fechado, não estando próximo ao animal. Foi constatado óbito, quando identificado ausência de movimentos respiratórios e batimento cardíaco, perda de reflexos e queda da temperatura corporal. Em seguida prosseguiu-se a decapitação em guilhotina específica para roedores e foi retirado o encéfalo do animal. A coleta do material biológico após eutanásia possibilitou analisar o número de neurônios viáveis no striatum e substância negra do mesencéfalo, além de investigar a expressão de GFAP no tecido nervoso.

As amostras de tecido nervoso foram fixadas em solução de formol tamponado a 10% por um período de 24 horas e em seguida em álcool a 70%. Logo, foram incluídos em blocos de parafina, com secções de 1mm no plano coronal (JUNQUEIRA; CARNEIRO., 2017). O material biológico do tecido nervoso foi corado através do método de *Nissl*. Foram coradas as regiões da substância negra do mesencéfalo e estriado do hemisfério cerebral direito e esquerdo.

A histoquímica do tecido nervoso foi realizada através da coloração dos neurônios pelo métodos de *Nissl*, onde consiste no processo de imersão da lâmina, em solução de cresil violeta (marcador específico de neurônio) para evidenciar o citoplasma dos neurônios e os corpúsculos de *Nissl*. Na lesão neuronal os corpúsculos podem

desaparecer, fenômeno conhecido por cromatólise, assim a coloração serve como indicador da viabilidade neuronal. As lâminas com as secções seguiram o seguinte protocolo de coloração: foram imersas por 5 minutos no xilol 1, xilol 2, no álcool 100%, no álcool 100%, no álcool 95% e no álcool 70%. Em seguida, por 30 minutos na solução de 0,5% de cresil violeta. As lâminas foram desidratadas por cinco minutos no álcool 70%, álcool 95%, álcool 100%, álcool 100%, e finalizado com a diafanização no xilol 1 e xilol 2. Em seguida foi realizada a montagem e análise das lâminas (SCORZA *et al.*, 2005; DAMÁZIO *et al.*, 2014). A análise morfométrica do material corado foi realizado com o auxílio do programa Image J após captura das imagens, realizadas por uma câmera acoplada ao microscópio (Figura 7).

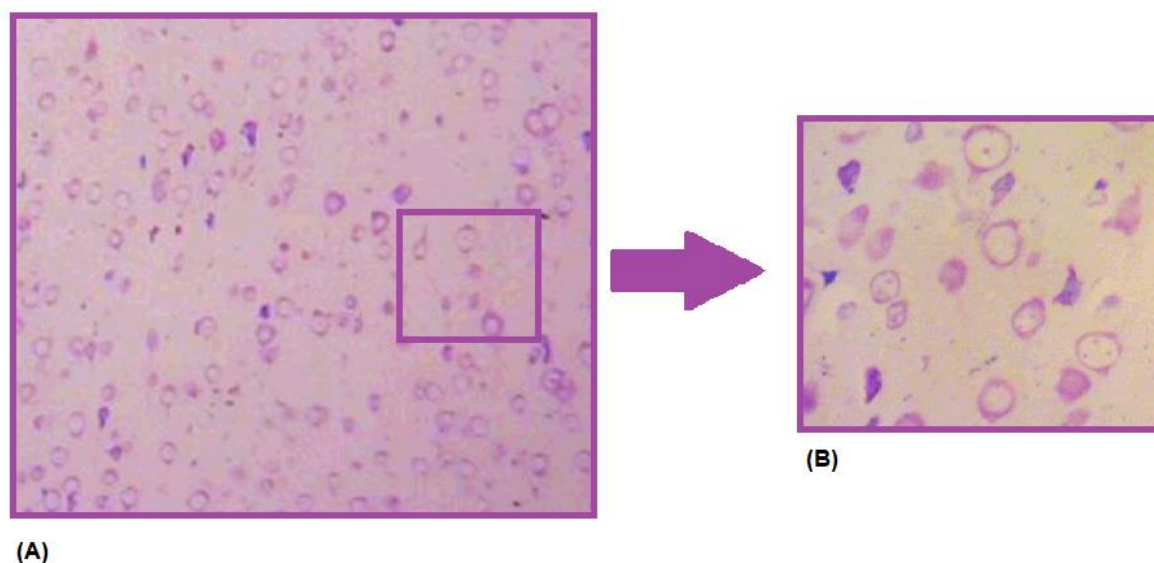


Figura 7. Coloração de Nissl do estriado do cérebro de ratos. (A) Fotomicrografia no aumento de 100X do estriado direito corado com cresil violeta. (B) Fotomicrografia no aumento de 200X do estriado direito para contagem dos neurônios. **Fonte:** autora.

4.5. Imunohistoquímica dos astrócitos

Os cortes foram desparafinados, reidratados e incubados com metanol (50%) acrescido de peróxido de hidrogênio a 3%, para inibição da peroxidase endógena. Em sequência, os cortes foram lavados em PBS e incubados com tripsina 0,1% diluída em PBS, durante 25 minutos, a 37°C. As lâminas foram lavadas em PBS e incubadas com anticorpo policlonal anti-GFAP (DAKO Z-334), diluído a 1:300, durante um pernoite, em geladeira. Soro de coelho normal foi utilizado como controle negativo. Em seguida foram lavados em PBS, incubadas com anticorpo de ligação (ovino anti-IgG de coelho - SIGMA R-6503) diluído a 1:25, durante 30 minutos, lavados novamente e incubados com complexo PAP (SIGMA P-2026) na proporção de 1:200, durante 30 minutos. Então, as

lâminas foram lavadas em PBS e incubadas com diaminobenzidina (SIGMA D-9015); 0,03% acrescido de peróxido de hidrogênio 0,03%, por um período de 5 a 8 minutos, sob controle microscópico da intensidade da reação cromógena. Depois, as lâminas foram lavadas em água corrente, desidratadas em álcool e montadas com lamínula (Figura 8).

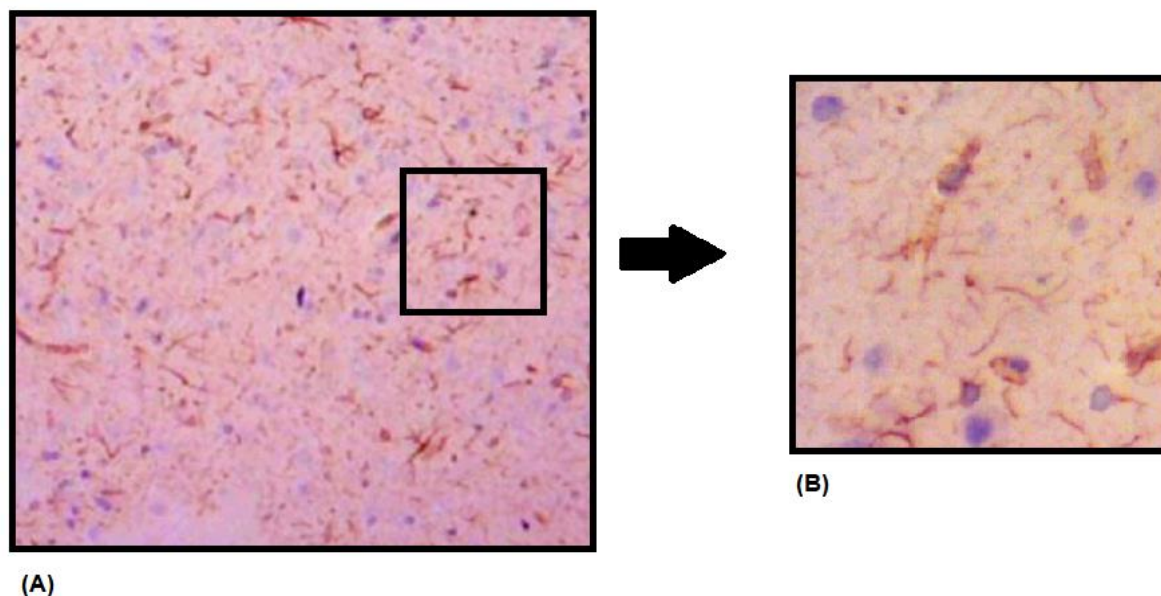


Figura 8. Expressão de GFAP nos astrócitos dos cérebros dos ratos. (A) Fotomicrografia no aumento de 100X de astrócitos marcados com GFAP. (B) Fotomicrografia no aumento de 200X de astrócitos marcados com GFAP. **Fonte:** autora.

4.6. Desempenho Motor

Para avaliação do desempenho motor dos animais, foram aplicados os testes funcionais (teste passo em falso, teste das barras paralelas e teste de campo aberto) no início do experimento, antes e depois da cirurgia e no final do experimento.

Para realização do teste passo em falso (avalia a coordenação motora das patas dianteira), foi utilizada uma placa (estrutura) gradeada de 100 x 50 cm, com intervalo de grade de 3 x 3 cm (9 cm²), figura 9. A duração do teste foi de três minutos, sendo o erro considerado quando a pata do animal passou por entre a grade (DING *et al.*, 2004; DING *et al.*, 2002; LIM *et al.*, 2008).



Figura 9. Teste de passo em falso. Animal durante o teste de passo em falso.
Fonte: autora.

Para realização do teste das barras paralelas (avalia a coordenação motora das patas posteriores) foram utilizadas duas plataformas de madeira unidas por barras paralelas de metal (115 cm) sem estímulo aversivo (choque elétrico) nas extremidades das barras (Figura 10). O teste teve a duração de cinco minutos e foi considerado erro quando o animal colocou as duas patas na mesma barra ou quando a pata passou entre as duas barras ou por fora (DING *et al.*, 2004; DING *et al.*, 2002).



Figura 10. Teste de barras paralelas. Animal durante o teste de barras paralelas.
Fonte: autora.

No teste de campo aberto (avalia o comportamento exploratório do animal), consiste em uma caixa com assoalho dividido em quadrantes na qual, o animal é posicionado no centro e permanece no ambiente pelo período de 5 minutos (Figura 11).

Neste período de tempo foi observado e contado o número de quadrantes ou campos deslocados (sendo que um campo foi considerado deslocado quando o animal colocou os três membros na área demarcada) e quantas vezes o animal elevou o corpo

e tocou a parede da caixa. Os animais foram filmados durante a exposição a esse teste. (ROYCE, 1977; ARIDA *et al.*, 2011; INGELSRUD, 2016).

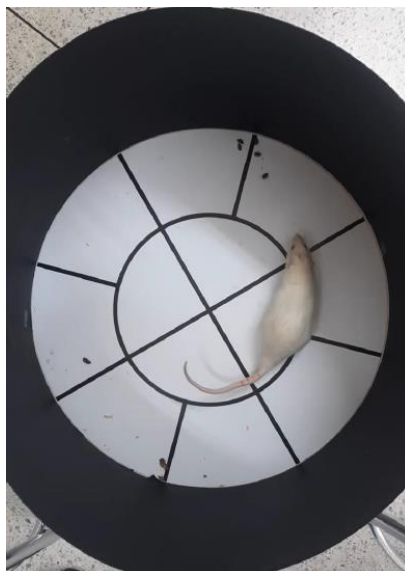


Figura 11. Teste de campo aberto. Animal durante o teste de campo aberto.
Fonte: autora.

4.7. Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada com auxílio do programa estatístico GraphPad Prism 9.3 onde foram utilizados os seguintes testes estatísticos: ANOVA - One-way para comparar as médias entre os grupos, e o *post-hoc* de Turkey para avaliação de mais de uma variável. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média e o nível de significância adotado foi de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. Lesão na Substância Negra do Mesencéfalo

A análise da área de lesão na substância negra do mesencéfalo dos animais dos grupos (DP-Exa, DP-Exd, DP-Exad e DP-Sed) demonstrou pela avaliação qualitativa das lâminas coradas com o método de *Niss* que ocorreu lesão eletrolítica em todos os grupos de animais com indução da DP (Figura 12).

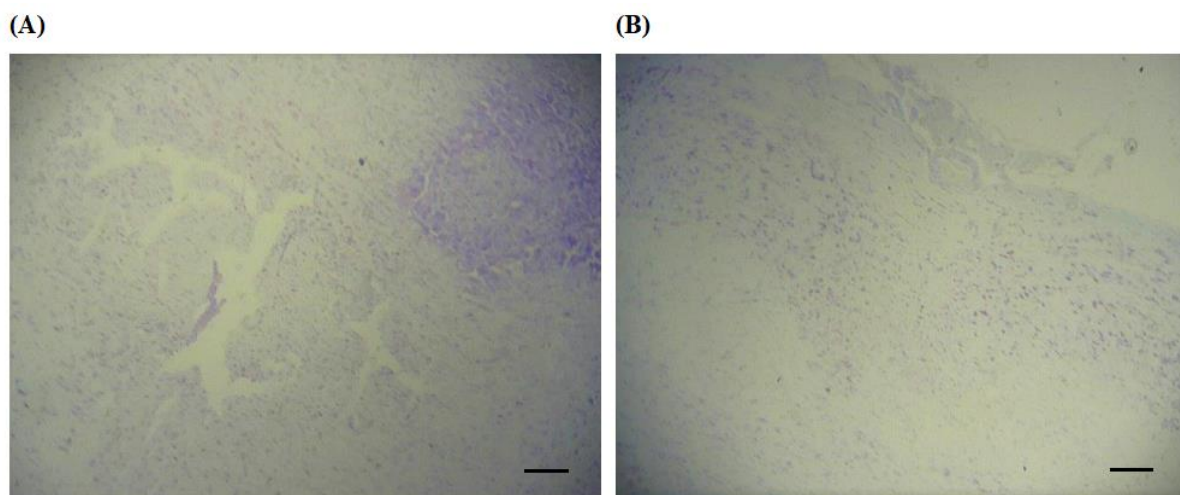


Figura 12. Fotomicrografia da substância negra do mesencéfalo no aumento de 4X. (A) Animal com DP. (B) Animal do Grupo *Sham*. **Fonte:** autora.

5.2. Massa corporal

A análise do ganho de massa corporal entre os animais, foi observada durante todo o programa de treinamento físico de alta intensidade, especificamente no início e final do experimento, antes do procedimento cirúrgico e no terceiro dia após a cirurgia (Tabela 1).

O ganho da massa foi acompanhado durante o treinamento, e observou-se que todos os animais ganharam massa corporal durante o treinamento ($p < 0,0001$).

Ao comparar o ganho de massa corporal inicial e final, os ratos ganharam massa tanto no grupo DP quanto no grupo Sham. Sendo que, o grupo DP-Exad e Sham-Exad apresentaram maiores ganhos de massa corporal ($p < 0001$).

Tabela 1. Dados da massa corporal dos grupos de animais.

	Início	Final	P	Antes da Cirurgia	Depois da Cirurgia	p
DP – Exa	201,1 ± 7	345,6 ± 24	< 0,0001	336 ± 24	339,8 ± 21	0,0508
DP – Exd	295,3 ± 19	336,3 ± 23	< 0,0001	302,9 ± 17	320,4 ± 23	0,0508
DP – Exad	218,8 ± 12	385 ± 23	< 0,0001	336 ± 22	338 ± 20	0,0508
DP – Sed	197,6 ± 28	393,5 ± 41	< 0,0001	329,3 ± 34	344,7 ± 21	0,0508
Sham - Exa	202,3 ± 9	398 ± 19	< 0,0001	331,4 ± 19	336,3 ± 23	0,0508
Sham - Exd	290 ± 24	384 ± 37	< 0,0001	319,5 ± 28	313 ± 30	0,0508
Sham-Exad	214,2 ± 10	401,3 ± 45	< 0,0001	328,2 ± 20	328,4 ± 31	0,0508
Sham- Sed	221,3 ± 18	403,8 ± 29	< 0,0001	331,3 ± 20	349 ± 25	0,0508

DP-Exa – Grupo com DP treinado antes; DP-Exd – Grupo com DP treinado depois; DP-Exad – Grupo com DP treinado antes e depois; DP-Sed – Grupo com DP sedentário; Sham-Exa – Grupo controle treinado antes; Sham-Exd – Grupo controle treinado depois; Sham-Exad – Grupo controle treinado antes e depois; Sham-Sed – Grupo controle sedentário. ANOVA-one way; *post hoc* Tukey; $p < 0,05$.

5.3. Desempenho funcional

A análise do desempenho funcional nas patas traseiras dos animais, através do teste das barras paralelas, demonstrou que, o grupo DP-Exad apresentou menos erros e melhor desempenho funcional. O grupo DP-Exa não apresentou diminuição significativa no número de erros após o treinamento. Os animais dos grupos Sham-Exa, Sham-Exd e Sham-Exad também apresentaram menos erros neste teste (Tabela 2).

Tabela 2. Número de erros no teste de barras paralelas antes do treinamento e no final dos experimentos.

	Inicial	Final	p
DP - Exa	3,66 ± 2,2	3,44 ± 1,5	0,81
DP - Exd	1,88 ± 0,6	2,66 ± 0,8	0,041
DP - Exad	4,2 ± 2	2,3 ± 1	0,019
DP - Sed	1,88 ± 0,6	2,2 ± 0,6	0,44
Sham-Exa	4,5 ± 1,9	2,4 ± 0,5	0,017
Sham-Exd	3,37 ± 1,4	1,87 ± 0,83	0,007
Sham-Exad	2,5 ± 0,7	1,7 ± 0,6	0,018
Sham-Sed	2,25 ± 1	1,6 ± 0,74	0,18

DP-Exa – Grupo com DP treinado antes; DP-Exd – Grupo com DP treinado depois; DP-Exad – Grupo com DP treinado antes e depois; DP-Sed – Grupo com DP sedentário; Sham-Exa – Grupo controle treinado antes; Sham-Exd – Grupo controle treinado depois; Sham-Exad – Grupo controle treinado antes e depois; Sham-Sed – Grupo controle sedentário. ANOVA-one way; *post hoc* Tukey; $p < 0,05$.

No teste passo em falso foi observado uma piora significativa no desempenho funcional na pata dianteira direita e esquerda em quase todos os grupos ($p > 0,05$). Foi observada diferença significativa no número de erros antes e depois nos grupos: DP-

Exa, DP-Exd e DP-Sed, na pata dianteira direita e nos grupos: DP-Exa e DP-Exd, na pata dianteira esquerda (Tabela 3).

Tabela 3. Número de erros no teste de passo em falso na pata dianteira direita (D) e esquerda (E) no início e no final dos experimentos.

	Inicial/D	Final/D	<i>p</i>	Inicial/E	Final/E	<i>p</i>
DP - Exa	1,8± 1,1	5,6± 2,5	0,0009	2 ± 1	5,7 ± 2,8	0,0018
DP - Exd	2,6 ± 1	5,2 ± 1,7	0,014	2,2 ± 0,83	5,2 ± 2,4	0,0030
DP - Exad	1,7 ± 1	2,7 ± 1,5	0,12	1,8 ± 1	2,9 ± 1,9	0,13
DP - Sed	1,4 ± 1,1	3 ± 1,8	0,043	1,66 ± 1,2	3,4 ± 1,2	0,074
Sham-Exa	2,8 ± 1,6	2,5 ± 0,7	0,69	2,14 ± 1,3	2,8 ± 0,89	0,26
Sham-Exd	2 ± 1,3	2,5 ± 0,9	0,39	1,7 ± 1,3	2,12 ± 0,99	0,54
Sham-Exad	2,3 ± 1,1	2,3 ± 1,7	>0,99	2,5 ± 1,2	2,1 ± 1,4	0,51
Sham - Sed	2,12 ± 0,9	1,5 ± 1	0,24	1,3 ± 1	1 ± 0,7	0,42

DP-Exa – Grupo com DP treinado antes; DP-Exd – Grupo com DP treinado depois; DP-Exad – Grupo com DP treinado antes e depois; DP-Sed – Grupo com DP sedentário; Sham-Exa – Grupo controle treinado antes; Sham-Exd – Grupo controle treinado depois; Sham-Exad – Grupo controle treinado antes e depois; Sham-Sed – Grupo controle sedentário. ANOVA-one way; *post hoc* Tukey; $p < 0,05$.

Na análise dos dados no teste de campo aberto, referente ao número de subidas e quadrantes visitados realizados pelos animais, depois do treinamento e antes da cirurgia, foi observado uma diferença significativa nos grupos DP+Exa/Sham +Exa e DP+Exad/Sham +Exad ($p < 0,0001$) em comparação aos grupos DP+Exd e Sham +Exd; DP+Sed e Sham+Sed ($p < 0,0001$).

Não houve diferença significativa entre os grupos DP e Sham quando comparados entre si (Figura 13; Tabela 4).

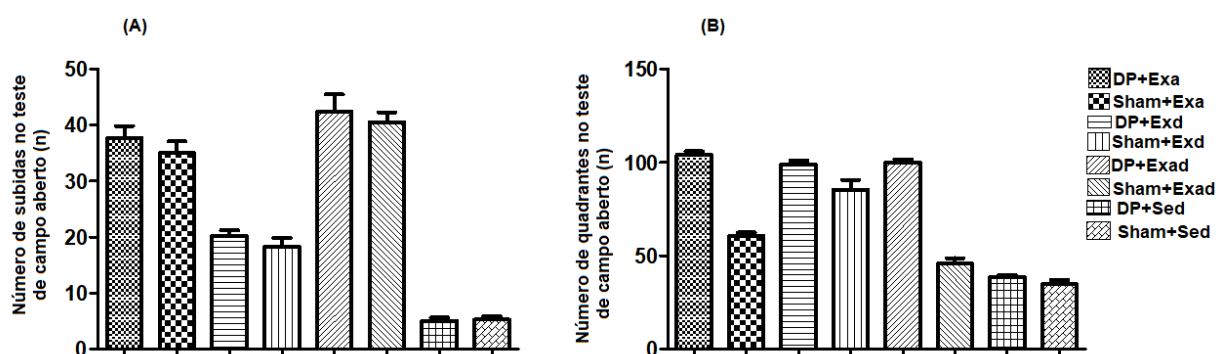


Figura 13. Média de subidas e quadrantes no teste de campo aberto antes da cirurgia de indução da DP e Sham. (A) Média de número de subidas. (B) Média de quadrantes visitados. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; *post hoc* Tukey, $p < 0,05$. **Fonte:** autora.

Tabela 4. Médias de subidas e quadrantes visitados no teste de campo aberto após treinamento e/ou antes da cirurgia entre os grupos de animais.

	Subidas			Grupo	Quadrantes Visitados		
	Média	Erro Padrão	Significância P		Média	Erro Padrão	Significância P
A)				B)			
DP+Exa	37,67	2,198	0.0001	DP+Exa	104,1	1,947	0.0001
Sham+Exa	35,00	2,116		Sham+Exa	60,57	2,022	
DP+Exd	20,22	1,011		DP+Exd	99,11	1,954	
Sham+Exd	18,29	1,614		Sham+Exd	85,50	5,237	
DP+Exad	42,40	3,113		DP+Exad	100,1	1,741	
Sham+Exad	40,50	1,815		Sham+Exad	45,80	2,958	
DP+Sed	5,000	0,6455		DP+Sed	38,78	0,8784	
Sham+Sed	5,250	0,6196		Sham +Sed	34,75	2,358	

DP-Exa – Grupo com DP treinado antes; DP-Exd – Grupo com DP treinado depois; DP-Exad – Grupo com DP treinado antes e depois; DP-Sed – Grupo com DP sedentário; Sham-Exa – Grupo controle treinado antes; Sham-Exd – Grupo controle treinado depois; Sham-Exad – Grupo controle treinado antes e depois; Sham-Sed – Grupo controle sedentário. ANOVA-one way; *post hoc* Tukey; $p < 0,05$.

Na análise dos dados do teste de campo aberto referente ao número de subidas e quadrantes visitados realizados pelos animais após a cirurgia, foi observado que os grupos DP+Exa/Sham+Exa e DP+Exad/Sham+Exad ($p < 0,0001$), apresentaram maior média no teste em comparação com os grupos DP+Exd/Sham+Exd e DP+Sed/Sham+Sed ($p < 0,0001$).

Houve diferença significativa entre os grupos DP e Sham quando comparados entre si (Figura 14; Tabela 5).

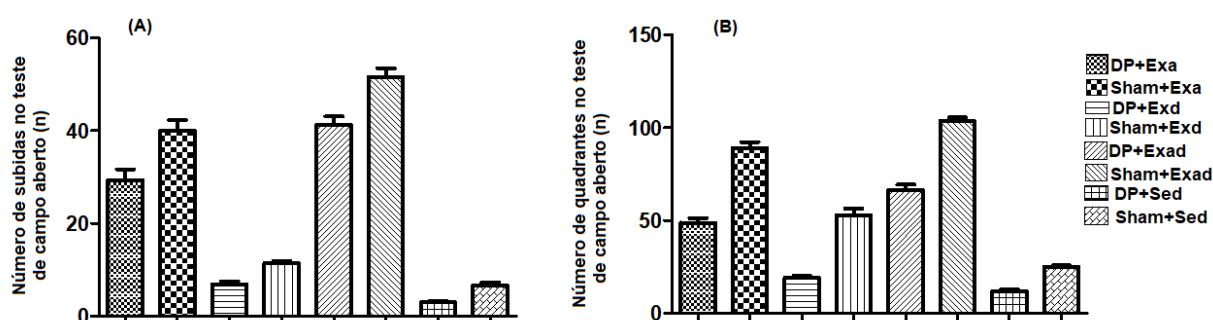


Figura 14. Média de subidas e quadrantes no teste de campo aberto depois da cirurgia de indução da DP e Sham. (A) Média de número de subidas. (B) Média de quadrantes visitados. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; *post hoc* Tukey, $p < 0,05$. **Fonte:** autora.

Tabela 5. Médias de subidas e quadrantes visitados no teste de campo aberto após a cirurgia entre os grupos de animais.

	Subidas			Grupo	Quadrantes Visitados		
	Média	Erro Padrão	Significância P		Média	Erro Padrão	Significância P
A)				B)			
DP+Exa	29,33	2,327	0.0001	DP+Exa	48,78	2,510	0.0001
Sham+Exa	40,00	2,350		Sham+Exa	89,13	3,165	
DP+Exd	6,889	0,6334		DP+Exd	19,00	1,225	
Sham+Exd	11,43	0,5281		Sham+Exd	52,75	3,697	
DP+Exad	1,30	1,795		DP+Exad	66,50	2,899	
Sham+Exd	51,60	1,815		Sham+Exd	103,5	2,072	
DP+Sed	3,000	0,3727		DP+Sed	12,00	0,9574	
Sham+Sed	6,6797	0,6797		Sham+Sed	25,00	0,8864	

DP-Exa – Grupo com DP treinado antes; DP-Exd – Grupo com DP treinado depois; DP-Exad – Grupo com DP treinado antes e depois; DP-Sed – Grupo com DP sedentário; Sham-Exa – Grupo controle treinado antes; Sham-Exd – Grupo controle treinado depois; Sham-Exad – Grupo controle treinado antes e depois; Sham-Sed – Grupo controle sedentário. ANOVA-one way; *post hoc* Tukey; $p < 0,05$.

5.4. Quantificação de neurônios na substância negra

Os dados sobre quantificação neuronal na substância negra do mesencéfalo demonstraram diferenças significativas entre os grupos com DP treinados e os grupos sedentários. Ao analisar a quantificação de neurônios no mesencéfalo do lado esquerdo foi possível identificar diferenças significativas entre as médias dos grupos DP+Exa, Sham+Exa, DP+Exad e Sham+Exad e os grupos DP+Exd, Sham+Exd, DP+Sed e Sham+Sed. Os grupos exercitados antes e depois apresentaram maiores médias de neurônios, como evidenciado na Figura 15 e Tabela 6.

Ao analisar a média de neurônios no mesencéfalo do lado direito foi evidenciado maiores médias nos grupos treinados em comparação aos grupos sedentários. Sendo as maiores médias encontradas nos grupos DP+Exa, Sham+Exa e Sham+Exd, DP+Exad e Sham+Exad, como demonstrado na Figura 15 e Tabela 6.

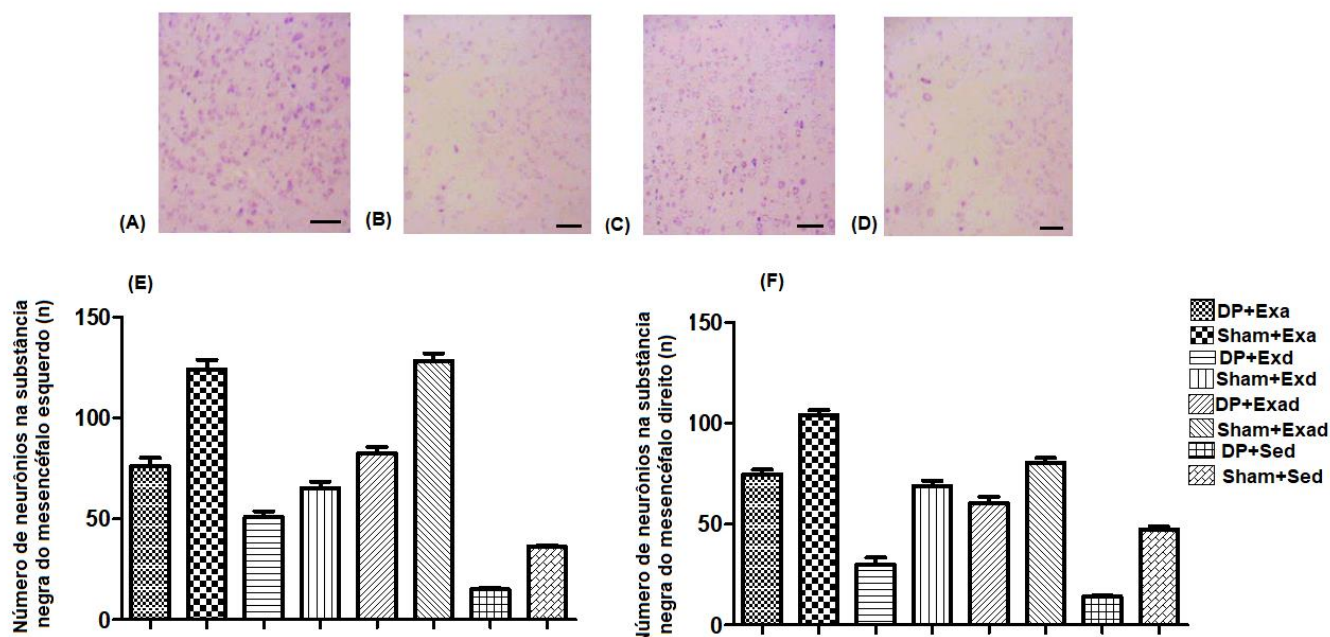


Figura 15. Média de neurônios na substância negra do mesencéfalo esquerdo e direito, no aumento de 100X. (A) Fotomicrografia da substância negra dos animais do grupo Exa; (B) Fotomicrografia da substância negra dos animais do grupo Exd; (C) Fotomicrografia da substância negra dos animais do grupo Exad; (D) Fotomicrografia da substância negra dos animais do grupo Sed. (E) Média de neurônios da substância negra do mesencéfalo do lado esquerdo. (F) Média de neurônios da substância negra do mesencéfalo do lado direito. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; post hoc Tukey, $p < 0,05$. **Fonte:** autora.

Tabela 6. Média de neurônios na substância negra do lado esquerdo e direito

	Média	Erro Padrão	Significância P	Grupo	Média	Erro Padrão	Significância P
A)				B)			
DP+Exa	76,22	4,058	0,001	DP+Exa	74,87	2,326	0,05
Sham+Exa	124,0	4,761		Sham+Exa	104,1	2,424	
DP+Exd	50,78	3,004		DP+Exd	29,89	3,518	
Sham+Exd	65,33	3,069		Sham+Exd	68,89	2,616	
DP+Exad	82,60	2,967		DP+Exad	60,30	3,297	
Sham+Exad	128,3	3,739		Sham+Exad	80,60	2,242	
DP+Sed	15,11	0,7718		DP+Sed	14,00	0,8660	
Sham+Sed	36,13	0,7892		Sham+Sed	47,25	1,612	

(A) Média de neurônios na substância negra do lado esquerdo; (B) Média de neurônios na substância negra do lado direito. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; post hoc Tukey, $p < 0,05$.

5.5. Quantificação de neurônios no estriado

Os dados sobre quantificação neuronal no estriado demonstraram diferenças significativas entre os grupos com DP treinados e os grupos sedentários. Ao analisar a quantificação de neurônios no estriado do lado esquerdo foi possível identificar diferenças significativas entre as médias dos grupos DP+Exa, Sham+Exa, DP+Exad e Sham+Exad em comparação aos grupos DP+Exd, Sham+Exd, DP+Sed e Sham+Sed. Os grupos exercitado antes e antes e depois apresentaram maiores médias de neurônios, como evidenciado na Figura 16 e Tabela 7.

Ao analisar a média de neurônios no estriado do lado direito foi evidenciado maiores médias nos grupos treinados em comparação aos grupos sedentários. Sendo as maiores médias encontradas nos grupos DP+Exa, Sham+Exa e Sham+Exd, DP+Exad e Sham+Exad, como demonstrado na Figura 16 e Tabela 7.

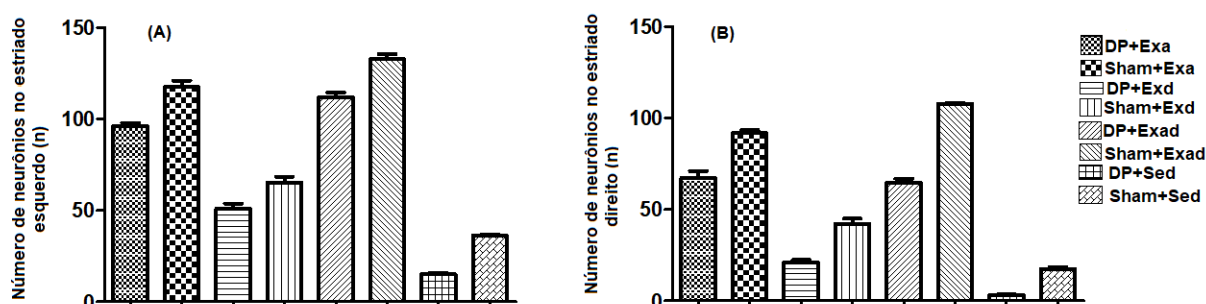


Figura 16. Média de neurônios no estriado esquerdo e direito. (A) Média de neurônios no estriado do lado esquerdo. (B) Média de neurônios no estriado do lado direito. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; post hoc Tukey, $p < 0,05$. **Fonte:** autora.

Tabela 7. Média de neurônios no estriado do lado esquerdo e direito

	Média	Erro Padrão	Significância P	Grupo	Média	Erro Padrão	Significância P
A)				B)			
DP+Exa	96,22	1,579	0.001	DP+Exa	67,22	3,785	0.05
Sham+Exa	117,6	3,518		Sham+Exa	91,71	1,700	
DP+Exd	50,78	3,004		DP+Exd	20,89	1,522	
Sham+Exd	65,33	3,069		Sham+Exd	42,22	2,616	
DP+Exad	111,9	2,541		DP+Exad	64,80	2,075	
Sham+Exad	132,8	2,788		Sham+Exad	107,8	0,533	
DP+Sed	15,11	0,7718		DP+Sed	3,333	0,5270	
Sham+Sed	36,13	0,7892		Sham+Sed	17,38	1,017	

(A) Média de neurônios no estriado do lado esquerdo; (B) Média de neurônios no estriado do lado direito. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-

Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; post hoc Tukey, $p < 0,05$.

5.6. Quantificação de expressão de GFAP em astrócitos

Os dados sobre a quantificação de astrócitos que expressaram GFAP na substância negra do mesencéfalo do lado esquerdo e do lado direito demonstraram diferença significativa na imunoreatividade do GFAP nos astrócitos entre os grupos que treinaram em comparação aos grupos sedentários. Sendo que, no mesencéfalo do lado direito foram observadas maiores médias entre os grupos DP+Exa, Sham+Exa e Sham+Exd. Já no mesencéfalo do lado esquerdo foram observadas maiores médias nos grupos DP+Exa, Sham+Exa, DP+Exad e Sham+Exad (Figura 17 e Tabela 8).

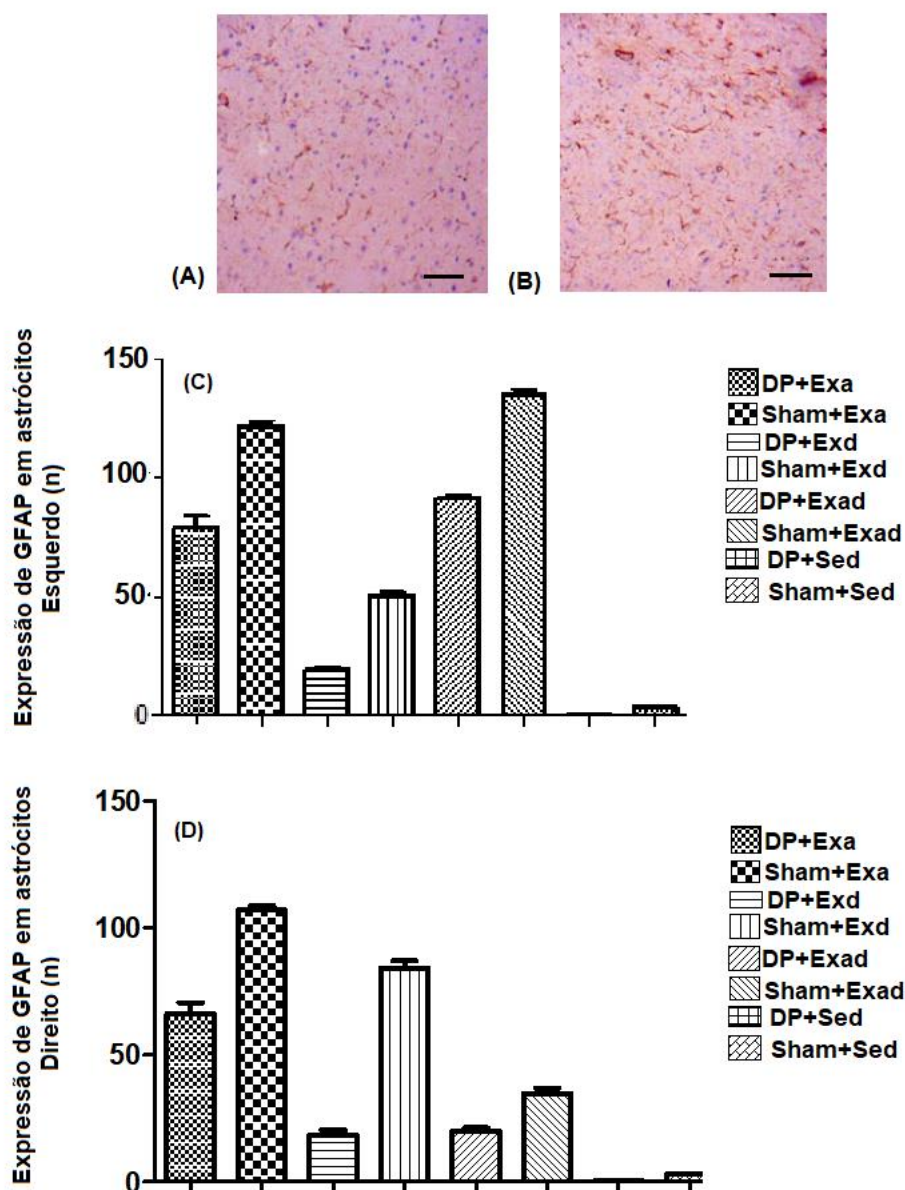


Figura 17. Astrócitos que expressaram GFAP na substância negra do mesencéfalo do lado esquerdo e direito, no aumento de 100X. (A) Fotomicrografia da substância negra do lado esquerdo que expressaram GFAP. (B) Fotomicrografia da substância negra do lado direito que expressaram GFAP. (C) Média de astrócitos que expressaram GFAP na substância negra do mesencéfalo do lado esquerdo. (D) Média de astrócitos que expressaram GFAP na substância negra do mesencéfalo do lado direito. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; post hoc Tukey, $p < 0,05$. **Fonte:** autora.

Tabela 8. Média de astrócitos com expressão de GFAP do lado esquerdo e direito da substância negra do mesencéfalo.

	Média	Erro Padrão	Significância P	Grupo	Média	Erro Padrão	Significância P
A)				B)			
DP+Exa	79,00	4,916	0.0001	DP+Exa	70,22	3,328	0.0001
Sham+Exa	122,3	2,090		Sham+Exa	103,3	1,728	
DP+Exd	18,60	1,790		DP+Exd	13,67	1,093	
Sham+Exd	50,60	1,293		Sham+Exd	36,11	2,224	
DP+Exad	91,22	1,832		DP+Exad	48,40	3,630	
Sham+Exd	135,7	2,321		Sham+Exd	74,80	3,476	
DP+Sed	0,444	0,1747		DP+Sed	0,5556	0,2422	
Sham+Sed	2,875	0,4407		Sham+Sed	2,750	0,6196	

(A) Média de astrócitos com expressão de GFAP da substância negra do mesencéfalo do lado esquerdo; (B) Média de astrócitos com expressão de GFAP da substância negra do mesencéfalo do lado direito. DP+Exa – Animais com DP treinados antes; Sham+Exa – Animais controle treinados antes; DP+Exd – Animais com DP treinados depois; Sham+Exd – Animais controle treinados depois; DP+Exad – Animais com DP treinados antes e depois; Sham+Exad – Animais controle treinados antes e depois; DP-Sed-Animais com DP sedentários; Sham+Sed – Animais controle sedentários. ANOVA; post hoc Tukey, $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

O estudo evidenciou que, os animais que realizaram o protocolo de exercício físico de alta intensidade apresentaram melhores desempenhos nos testes funcionais que os animais sedentários. A densidade de neurônios e expressão de astrócitos também foram maiores nos grupos treinados em comparação aos grupos sedentários. Os animais dos grupos que realizaram exercício físico de alta intensidade antes da cirurgia e os animais dos grupos que realizaram o exercício antes e depois da cirurgia também foram mais beneficiados com os efeitos neuroprotetores, que os animais que realizaram o exercício físico apenas depois da cirurgia.

Na literatura existem vários métodos utilizados para indução da DP em modelos experimentais com animais, principalmente os que utilizam as neurotoxinas para produção da lesão seletiva de neurônios dopaminérgicos da SNpc, acompanhada de sintomas semelhantes ao parkinsonismo. A neurotoxina mais utilizada nas pesquisas é a 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (GOMES, DEL BEL, 2003; PRASAD, 2020;). A lesão eletrolítica também é utilizada em pesquisas, pois possui um baixo custo, demonstra ser um método eficaz e seguro de lesão. É realizada em uma mesa esterotáxica, assegurando-se a posição correta do animal, seguindo as mesmas coordenadas estereotáxicas utilizadas nos estudos que realizam a indução com a injeção da 6-OHDA. (GOMES, DEL BEL, 2003; PAXINOS, WATSON, 2005; BLANDINI, 2008; PRASAD, 2020). No presente estudo foi identificado que a lesão eletrolítica foi confirmada em todos os grupos experimentais de indução da DP, através das análises das imagens histológicas, onde foi observada a área de lesão do tecido nervoso da substância negra do mesencéfalo.

Ao analisar os dados referente a massa corporal dos animais, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, antes e após a cirurgia. Foi observado um ganho de massa entre os grupos com DP e grupos controle, o que comprova que todos os procedimentos pós cirúrgicos foram alcançados com êxito. Apesar do procedimento cirúrgico gerar um desconforto, *stress*, mudança na rotina do animal, o monitoramento pós cirúrgico desses animais através do controle da massa corporal, temperatura, observação do animal, administração de antiinflamatórios via oral, foi essencial, no intuito de evitar que os animais desenvolvessem processos álgicos e inflamatórios que culminavam em perda de peso, alteração comportamental

e óbito (ROUGHAN e FLECKNELL, 2001; DAMY *et al.*, 2010; SALARI, 2019; RIEDESEL *et al.*, 2021). Resultados semelhantes a este estudo, em relação ao peso dos animais, foram encontrados nos trabalhos de Damázio *et al.* (2014) e de Loureiro *et al.* (2013) no qual realizaram estudos com animais através da indução de isquemia e estudos com indução da DP respectivamente.

Considerando os efeitos incapacitantes da DP e a ineficácia causada pelos medicamentos, são crescentes os estudos em torno da prática regular de exercícios físicos (EF) (LAI *et al.*, 2017). Estes, tem por finalidade amenizar ou retardar o aparecimento dos sintomas e garantir alguma independência para os parkinsonianos, principalmente quando os animais se exercitam em alta intensidade (MOORE, 2013). Exercícios de escalada já foram propostos para humanos portadores da DP.

Os estudos de Langer *et al.* (2021), nos revela que a escalada, possibilita melhor aptidão física, força, flexibilidade, postura e equilíbrio pois combina vários tipos de treinamentos (força, equilíbrio, flexibilidade, resistência e coordenação).

O presente estudo demonstrou que um programa de exercícios físicos de alta intensidade quando realizado antes e depois da indução da DP e grupo *Sham*, pode promover melhora no desempenho motor, demonstrando benefícios funcionais e estruturais no cérebro desses animais, foi observado também melhor desempenho funcional dos animais no teste de barras paralelas, que avalia as patas traseiras, nos grupos que realizaram exercício físico antes e depois da cirurgia. No entanto no teste passo em falso não foram observadas melhoras no desempenho funcional nas patas anteriores pelos animais treinados, ocorrendo uma piora. As informações em relação a coordenação motora em ratos e humanos com DP revelam deficiência no controle das extremidades, pior destreza manual, dificuldade na transferência de peso de um lado para o outro e pior alcance manual (QWHISHAW *et al.*, 2002; LEZCANO *et al.*, 2010).

Já no teste de campo aberto referente ao número de subidas e quadrantes visitados realizados pelos animais depois do treinamento e antes da cirurgia foi observado uma diferença significativa nos grupos que realizaram treinamentos antes e depois da cirurgia com DP em comparação com os animais que exercitaram apenas após a cirurgia e o grupo sedentário. Os animais exercitados apresentaram melhores desempenhos neste teste que os animais sedentários. Esses dados corroboram com o estudo de Barbosa e Lima (2016) onde também foram observados maiores deslocamentos entre os quadrantes no grupo treinado em comparação ao grupo controle.

A análise da densidade de neurônios no mesencéfalo do lado direito e esquerdo, e estriado direito e esquerdo do encéfalo dos animais demonstrou que os animais que realizaram exercício físico de alta intensidade apresentaram maior quantidade de neurônios que os grupos sedentários. Foi evidenciado que os grupos que exercitaram antes e antes e depois da cirurgia apresentaram maior densidade neuronal que os grupos que exercitaram apenas após a cirurgia. Sugerindo que os benefícios da prática de exercício físico de alta intensidade antes do evento é importante na composição do tecido nervoso pelo processo de neuroproteção.

Nos estudos de Fischer *et al.* (2004) foi investigado o efeito da neurorestauração através do exercício na esteira em camundongos C57BL/6J e foi comprovado que o exercício físico promove a recuperação comportamental no cérebro lesionado, modulando genes e proteínas para o funcionamento dos núcleos basais. Vários autores sugerem que o Exercício Físico Voluntário (EFV) causa efeitos positivos na função hipocampal em camundongo C57BL/6 e observaram que a prática do EFV pode ser aplicada em humanos devido a sua potencialidade de alcançar efeitos neurológicos positivos em modelos animais (NASCIMENTO CASTRO; GIL-MOHAPEL; S. BROCARD, 2017).

De acordo com Ke *et al.* (2011) foi observado que o EFV é um método eficaz na regulação do BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) hipocampal dos ratos com isquemia, na recuperação motora. Os resultados sugerem que o grupo que realizou o exercício forçado obtiveram como resultados baixos níveis de BDNF cerebral e menor recuperação motora, além de ser uma intervenção com alto nível de estresse para os animais. Já no trabalho de Damázio *et al.* (2013) foi evidenciado maior densidade neuronal nos animais que exercitaram antes e, antes e depois da indução da isquemia cerebral.

Os astrócitos tem um papel importante na reparação e manutenção do tecido nervoso contra danos cerebrais. Ao quantificar a expressão de GFAP pelos astrócitos no mesencéfalo do lado esquerdo foi evidenciada maior expressão nos grupos de animais que treinaram antes, e antes e depois da cirurgia de DP. Já no mesencéfalo do lado direito apenas o grupo que exercitou antes da cirurgia de indução da DP apresentou maior expressão de GFAP. Assim, os benefícios da prática de exercício físico de alta intensidade antes da cirurgia de indução da DP foram observados no tecido nervoso promovendo neuroproteção. No trabalho de Dutra *et al.* (2012) também foi evidenciado aumento da expressão de GFAP no grupo de animais com DP, por

injeção de 6-OHDA, que realizaram treinamento na esteira, indicando que além da recuperação da expressão de GFAP pós-exercício houve também melhora motora desses animais.

Alguns autores demonstraram que a prática do exercício físico na esteira promoveu um efeito neuroprotetor sobre o tecido nervoso bem como um aumento no número de astrócitos tanto no córtex, quanto no estriado dos ratos exercitados (LI, *et al.*, 2005; YOON *et al.*, 2007; TAJIRI *et al.*, 2010; ; LAU *et al.*, 2011; DAMÁZIO *et al.*, 2014). Já no estudo de VASCONCELOS *et al.*, (2021), o treinamento físico de alta intensidade (na modalidade ganho de força) realizado em ratos com isquemia cerebral induzida por Oclusão Bilateral da Artéria Carótida Comum (BCCAO) foi observado que o mesmo promoveu danos significativos ao cérebro dos animais. Este resultado, se deve ao fato de que a isquemia cerebral tem um componente vascular importante como causa da injúria cerebral e o exercício de alta intensidade influencia diretamente neste componente, causando alterações no fluxo sanguíneo cerebral, já na DP a lesão eletrolítica é uma lesão focal que não depende do fluxo de sangue cerebral.

O presente estudo evidenciou os benefícios da prática de exercício físico de alta intensidade na escada, antes da cirurgia e antes e depois da indução da DP tanto no desempenho motor como na densidade neuronal e expressão de astrócitos nos encéfalos estudados.

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que, a prática de exercício físico de alta intensidade promoveu benefícios entre os grupos treinados em comparação com os grupos sedentários e os grupos de animais que realizaram treinamento antes e depois da cirurgia foram mais beneficiados no desempenho motor, densidade de neurônios e expressão de astrócitos que os outros grupos exercitados.

No entanto, são necessários mais estudos sobre os efeitos do exercício físico de alta intensidade no desempenho motor das patas anteriores dos animais com DP e estudos sobre as estruturas do tecido nervoso dos animais dos grupos que treinaram apenas depois da cirurgia.

8. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L.C.A.; SILVA, H.J. Características do percurso da movimentação mandibular dos diferentes tipos de DP. **CoDAS**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 193-196, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/codas/>. Acesso em: 10 abr. 2022.

AHLISKOG, J.E. Does vigorous exercise have a neuroprotective effect in Parkinson disease? **Neurology**. Jul 19; 77(3): 288-94, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles>. Acesso em: 10 abr. 2022.

ASCHERIO, A.; SCHWARZSCHILD, M. A. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 12, p. 1257–1272, 2016

ARIDA, R. M. et al. Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 90, n. 6, p. 452–465, 2011.

ARIZA-SERRANO, L.M. et al. Caracterización de pacientes con enfermedad de Parkinson en un centro de referência de la ciudad de Bogotá, Colombia. **Acta Neurol Colomb.**, Bogotá, v. 32, n. 3, p. 203-208, set. 2016. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87482016000300004. Acesso em: 20 mar. 2022.

ARMSTRONG, M.J.; OKUN, M.S. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. **Journal of the American Medical Association**, 323, 6, 548-560, 2020. Disponível em: 10.1001/jama.2019.22360. PMID: 32044947. Acesso em: 15 mar. 2022.

ARRUDA, W.O., MENESES, M.S. **Anatomofisiologia dos Gânglios da base: Aspectos Clínicos e Cirúrgicos**. Ed. Guanabara Koogan, S.A., Rio Jan., 1996.

ARTEN, T.L.S.; HAMDAN, A.C. Executive Functions in Parkinson's disease with and without Deep Brain Stimulation (DBS): A systematic review. **Dement. neuropsychol** São Paulo. vol. 14, n. 2 abr./jun. 2020. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-57642020000200178. Acesso em: 10 de outubro. 2020.

ARZUZA, J.P.A. et al. Evaluación comportamental del trasplante de hMSC-GFP+ en un modelo experimental de hemiparkinson en rata Wistar. **Acta biol. Colomb.** 2017; 22(2): 127-136. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v22n2.59703>. Acesso em: 10 de outubro. 2021.

ASCHERIO, A.; SCHWARZSCHILD, M. A. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 12, p. 1257–1272, 2016.

BARBOSA, D.F.; LIMA, C.F. Efeitos do exercício físico em comportamentos relacionados com a ansiedade em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 22, n. 2, pp. 122-125, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1517-869220162202056634>. Acesso em: 23 jun. 2022.

BLANDINI, F.; ARMENTERO, M.T.; MARTIGNONI, E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. **Parkinsonism and Related Disorders**. 2008; 14: S 124-S9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18595767>. Acesso em: 20 abr. 2022.

BLOEM, B.R.; OKUN, M.S.; KLEIN, C. Parkinson's disease. **The Lancet**. v. 397, jun. 2021. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X). Acesso em: 18 dez. 2021.

BELIN, J. et al. Particularités gériatriques de la maladie de Parkinson: aspects cliniques et thérapeutiques [Geriatric particularities of Parkinson's disease: Clinical and therapeutic aspects]. **Rev Neurol** (Paris). 2015 Dec;171(12):841-52. French. Disponível em: 10.1016/j.neurol.2015.08.002. Acesso em: 20 jan. 2022.

BOUÇA-MACHADO, R.; MAETZLER, W.; FERREIRA, J.J. What is Functional Mobility Applied to Parkinson's Disease? **J Parkinsons Dis**. 2018; 8(1): 121-130. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29480225/>. Acesso em: 20 fev. 2022.

BYERS, B.; LEE; H.L.; REIJO, P.R. Modeling Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells. **Curr Neurol Neurosci Rep**. jun.; 12(3): 237-42, 2012. Disponível em: 10.1007/s11910-012-0270-y Acesso em: 20 fev. 2022

CAI, J.P. et al. Safety and efficacy of rasagiline in addition to levodopa for the treatment of idiopathic Parkinson's disease: a meta-analysis of randomised controlled trials. **European Neurology**, 73, 1-2, 5-12, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25358603/>. Acesso em: 20 fev. 2022.

ÇANAKÇ, E. et al. Histopathologic comparison of dexmedetomidine's and thiopental's cerebral protective effects on focal cerebral ischemia in rats. **Rev Bras Anesthesiol.**, v. 66, n. 6, p. 583-593, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27793233/>. Acesso em: 20 abr. 2022.

CASSILHAS, R. C.; ISMAIR, T. R.; DANIEL, V.; JANSEN, F; SÉRGIO, T.; MARCO, T. d. M. Animal model for progressive resistance exercise: a detailed description of model and its implications for basic research in exercise. *Motriz*, Rio Claro, v.19 n.1, p.178-184, jan./mar. 2013.

COSTANZO, L.S. **Fisiologia**. São Paulo: 7 ed. Guanabara Koogan.2019

COOKSON, M.R. Alfa-sinucleína e morte celular neuronal. **Mol Neurodegener**. 2009; 4: 9. Disponível em: 10.1186/1750-1326-4-9. Acesso em: 17 jan.2022.

CORSI, S.; STANCAMPIANO, R.; CARTA, M. Serotonin/dopamine interaction in the induction and maintenance of L-DOPA-induced dyskinesia: An update. **Prog Brain Res**. 2021; 261: 287-302. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2021.01.032>. Acesso em: 17 jan.2022.

DAMÁZIO, L.C.M. et al. Physical exercise promotes neuroprotection structural and functional in rats with cerebral ischemia. **Rev. Neurociencia**. v.23, n.4, p. 581-588. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4181/RNC.2015.23.04.1051.08p>. Acesso em: 17 abr. 2022.

DAMÁZIO, L.C.M. et al. Effects of exercise prior or after ischemia on the density of neurons and astrocytes in the brain of rats. **American Journal of Neuroscience**. v.5, n.2, p.18-25. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3844/amjnsp.2014.18.25>. Acesso em: 19 abr. 2022.

DAMÁZIO, L.C.M. **Avaliação da morfologia cerebral e do desempenho motor de ratos sedentários e exercitados submetidos à isquemia cerebral transitória**. 2013. 59f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

DAMÁZIO, L. C. M. et al. Efeitos de treinamento de alta intensidade sobre o desempenho motor e hipertrofia cardíaca de ratos que sofreram isquemia cerebral pós treinamento. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v.13. n. 82. p. 282-289, 2019. Disponível

em: <http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/1693>. Acesso em: 19 abr. 2022.

DAMÁZIO, L. C. M. et al. Exercício físico promove neuro proteção estrutural e funcional em ratos com isquemia cerebral. **Rev Neurociencia**, v. 23, n. 4, p. 581-588, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34024/rnc.2015.v23.7978>. Acesso em: 19 abr. 2022.

DAMIANI, A.P.L. et al. Protocolos de treinamento de força promovem aumento da força sem alterações morfológicas. **Rev Bras Med Esporte**. São Paulo vol.26, n.3 May/June 2020. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S151786922020000300253#:~:text=The%20findings%20show%20that%20resistance,without%20changes%20in%20lean%20mass. Acesso em: 28 de outubro. 2021.

DAMY, S. B. et al. The fundamentals of experiments with animals - Applications in experimental surgery. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 1, p. 103–111, 2010.

DAWSON, T. M.; DAWSON, V. L. Molecular Pathways of Neurodegeneration in Parkinson's Disease Published by: American Association for the Advancement of Science Molecular Pathways of Neurodegeneration in Parkinson's Disease. **Science**, v. 302, n. 5646, p. 819–822, 2003.

DING, Y. et al. Motor balance and coordination training enhances functional outcome in rat with transient middle cerebral artery occlusion. **Neuroscience**, v. 123, n. 3, p. 667–674, 2004.

DING, Y. et al. Impaired motor activity and motor learning function in rat with middle cerebral artery occlusion. **Behavioural Brain Research**. vol. 132, p. 29-36, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00405-3](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00405-3). Acesso em: 20 abr., 2022.

DORSEY, E.R. et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. **Neurology**. 68, 384-386, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03>. Acesso em: 15 fev. 2022.

DOYON, J. et al. Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. **Behavioural Brain Research**, v. 199, n. 1, p. 61–75, 2009.

DUTRA, M.F. et al. Exercise improves motor deficits and alters striatal GFAP expression in a 6-OHDA-induced rat model of Parkinson's disease. **Neurol Sci**, n. 33, 1137– 1144, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-011-0925-5>. Acesso em: 15 fev. 2022.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira** [online]. 2004, v. 19, n. 1, pp. 59-65. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502004000100010>. Acesso em: 05 jun. 2022.

FERNANDEZ, R.F. et al. Evaluation of validity and reliability of a methodology for measuring human postural attitude and its relation to temporomandibular joint disorders. **Singapore Med J**. 57(4): 204-208, 2016. Disponível em: doi:10.11622/smedj.2015159. Acesso em: 22 abr. 2022.

FISHER, B. E. et al. Exercise-induced behavioral recovery and neuroplasticity in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse basal ganglia. **Journal of Neuroscience Research**, v. 77, n. 3, p. 378–390, 2004.

FREIRE, L. et al. Impact on the quality of life of patients with Parkinson's Disease with risk of

dysphagia. **Rev Neurocienc.** 23(4): 516-521, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4181/RNC.2015.23.04.1065.06p>. Acesso em: 21 mar. 2022

FUENTES, P. et al. Inhibition of VMAT-2 and DT-diaphorase induce cell death in a substantia nigra derived cell line-an experimental cell model for dopamine toxicity studies. **Rev. Chem. Res. Toxicol.** Vol. 20, n. 5, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/tx600325u>. Acesso em: 05 abr. 2022.

GBD 2016 Parkinson's Disease Collaborators. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet Neurology**, 7, 11, 939-953, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(18\)30295-3](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(18)30295-3). Acesso em: 09 abr. 2022.

GIRÁLDEZ-PÉREZ, R. M. et al. Models of α -synuclein aggregation in Parkinson's disease. **Acta Neuropathologica Communications**, v. 2, n. 1, p. 1–17, 2014.

GOMES, M.Z., DEL BEL, E.A. Effects of electrolytica and 6-hydroxydopamine lesions of rat nigrostriatal pathway on nitric oxide synthase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase. **Brain Research Bulletin**. 62, 107-115, 2003. Disponível em: 10.1016/j.brainresbull.2003.08.010. Acesso em: 26 mar. 2022.

GOMES, W. DE L. et al. Analysis of functional profile and mobility in Parkinson's disease: a cross sectional study. **Manual Therapy, Posturology & Rehabilitation Journal**, [S. l.], p. 1–6, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.17784/mtprehabjournal.2018.16.557>. Acesso em: 30 abr. 2022.

GUIMARÃES, A.V. **Atividade física habitual e desempenho motor de indivíduos com e sem a doença de Parkinson**. 2011. 76 f. Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Educação Física da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do grau de Mestre em Educação Física. Área de concentração: Cineantropometria e Desempenho Humano. Florianópolis: UFSC, 2011.

HAMZEHLOEI, L.; REZVANI, M. E.; e RAJAEI, Z. Efeitos do carvacrol e do exercício físico sobre deficiências motoras e de memória associadas à doença de Parkinson. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** [online]. 2019, v. 77, n.7, pp. 493-500. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0004-282X20190079>. Acesso em: 12 jun. 2022.

HILARIO, L.S.M.; HILÁRIO, W.F. Descrição da patologia, etiologia e das estratégias farmacológicas e não farmacológicas da Doença de Parkinson. **Perspectivas Experimentais e Clínicas, Inovações Biomédicas e Educação em Saúde (PECIBES)**, v. 7, n. 2, p. 45-51, 24 dez. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.55028/pecibes.v7i2.14840>. Acesso em: 25 de out. 2021.

HILARIO, W.F. et al. Cholinergic and Dopaminergic Alterations in Nigrostriatal Neurons Are Involved in Environmental Enrichment Motor Protection in a Mouse Model of Parkinson's Disease. **Journal of Molecular Neuroscience**, 60, 4, 453-464, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12031-016-0831-7>. Acesso em: 12 jan. 2022.

HORNBERGER JR, T.A.; FARRAR, R.P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology Champaign**, v. 29, p. 16-31. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/h04-002>. Acesso em: 12 mai. 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de geografia e estatística. **Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação**, 2008. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>.

Acesso em: 13 novembro 2020.

INGELSRUD, S. S. D. M. Efeito do tratamento com lisdexanfetamina no neurodesenvolvimento de ratos e sua repercussão na fase adulta. **Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**, Sobral, 2016.

JANSEN, A.E. et al. High intensity aerobic exercise improves bimanual coordination of grasping forces in Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord**. 2021 Jun; 87: 13-19. Disponível em: [10.1016/j.parkreldis.2021.04.005](https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.04.005). Acesso em: 20 abr. 2022.

JELLINGER, K. Et al. Chemical evidence for 6- hydroxydopamine to be an endogenous toxic factor in the pathogenesis of Parkinson's disease. **J Neural Transm Suppl**. 1995; 46: 297-314. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8821067/>. Acesso em: 13 abr. 2022.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: texto-atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 528p. 2017. 2017.

KANDEL, E.R. et.al. **Princípios de Neurociências**. 5ª ed. Porto Alegre: Ed. MC HILL, 2014.

KE, Z. et al. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: A rat brain ischemia model. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. 1–8, 2011.

LAI B, YOUNG HJ, BICKEL CS, MOTL RW, RIMMER JH. Current Trends in Exercise Intervention Research, Technology, and Behavioral Change Strategies for People With Disabilities: A Scoping Review. **Am J Phys Med Rehabil**. v.96, n.10, p.748-761. Outubro, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28398967/>. Acesso em 16 de junho. 2022.

LANGER A et al. A randomised controlled trial on effectiveness and feasibility of sport climbing in Parkinson's disease. **NPJ Parkinsons Dis**. v.7, n.49, p. 1-9. 2021. Disponível em: <file:///C:/Users/Win10/Desktop/langer%202021.pdf>. Acesso em 10 de junho. 2022.

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**. 2011; 33(7): 1264-74. Disponível em: <https://doi.org/10.1111%2Fj.1460-9568.2011.07626.x>. Acesso em: 09 jan. 2022.

LEANDRO, L. A.; TEIVE, H. A. G. Fatores associados ao desempenho funcional de idosos portadores da DP. **Revista Kairós Gerontologia**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 161-178, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.23925/2176-901X.2017v20i2p161-178>. Acesso em: 11 abr. 2022.

LEES, A.J.; HARDV, J. REVESZ, T. Parkinson's disease. **Lancet**. v. 373, p. 2055-2066. 2009. Disponível em: [10.1016/S0140-6736\(09\)60492-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60492-X). Acesso em: 11 abr. 2022.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios? Conceitos fundamentais de Neurociência**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 765, 2010.

LEWIS, S.J.; SHINE, J.M. The Next Step: A Common Neural Mechanism for Freezing of Gait. **Neuroscientist**. 2016 Feb; 22(1): 72-82. Disponível em: [10.1177/1073858414559101](https://doi.org/10.1177/1073858414559101). Acesso em: 12 abr. 2022.

LIAO, X. et al. Levodopa/carbidopa/entacapone for the treatment of early Parkinson's disease: a meta-analysis. **Neurol Sci**, Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04303-x>, 2020. Acesso em 29 de jan. 2022.

LI, J. et al. Increased astrocyte proliferation in rats after running exercise. **Neuroscience Letters**, v. 386, n. 3, p. 160–164, 2005.

LIM, S. H., LEE, J., LEE S., et al. The quantitative assessment of functional impairment and its correlation to infarct volume in rats with transient middle cerebral artery occlusion. **Brain Research**. vol. 1230, pp. 303-309, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.002>. Acesso em: 10 jun. 2022.

LEZCANO, L.B. et al. Aplicacion del teste de la barra transversal modificado para evaluar ratas hemiparkinsonizadas. **Acta Biológica Colombiana**. 15, 02, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/journal/Acta-Biologica-Colombiana-1900-1649>. Acesso em: 18 jun. 2022.

MARINOVA, M.L et al. Relationship between microglial activation and dopaminergic neuronal loss in the substantia nigra: a time course study in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. **J Neurochem**. 2009 Aug; 110(3): 966-75. doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.06189. x. Acesso em: 22 jun. 2022.

MCCORMICK, D.L. Preclinical Evaluation of Carcinogenicity Using Standard-Bred and Genetically Engineered Rodent Models. In.: **A Comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development**. 2 ed. Academic Press, 273-292, 2017.

MELO, R.T.R. et al. Analysis of motor performance and histomorphometry of skeletal muscles of rats exercised after cerebral ischemia, **International Journal of Neuroscience**. Ed. 3 out. pp 1-10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1825416>. Acesso em: 06 fev. 2022.

MELO, R.T.R. et al. Effects of physical exercise on skeletal muscles of rats with cerebral ischemia. **Braz J Med Biol. Res**. Ribeirão Preto, v. 52, n. 12, e 8576, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590%2F1414-431X20198576>. Acesso em: 06 fev. 2022.

MIBIELLI, M. A. et al. Symptomatic improvement in an acute, non-traumatic spine pain model with a combination of uridine triphosphate, cytidine monophosphate, and hydroxocobalamin. **Pain Studies and Treatment**, v. 2, 2014. p. 6-10. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4236/pst.2014.21002>. Acesso em: 02 jun. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doença de Parkinson**. 2014. Disponível em: <http://www.blog.saude.gov.br/34589-doenca-de-parkinson>. Acesso em: 13 novembro 2021.

MIRELMAN, A. et al. Gait impairments in Parkinson's disease. **Lancet Neurol**. 2019; 18(7): 697-708. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30044-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30044-4). Acesso em: 20 jan. 2022.

MISHRA, A.K.; DIXIT, A. Dopaminergic Axons: Key Recitalists in Parkinson's Disease. **Neurochem Res**, 47, 234–248, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03464-1>. Acesso em: 20 jan. 2022.

MORAES, L.S. et al. Medicinal plant *Combretum leprosum* mart ameliorates motor, biochemical and molecular alterations in a Parkinson's disease model induced by MPTP. **Journal of Ethnopharmacology**. 185, 68-76, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.041>. Acesso em: 19 jan. 2022.

MODO, M. et al. Neurological sequelae and long-term behavioural assessment of rats with transient middlecerebral artery occlusion. **Journal Neuroscience Methods**, v.194, p.99-109. 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(00\)00329-0](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(00)00329-0). Acesso em: 11 jan. 2022.

MOORE, C.G. et al. Study in Parkinson disease of exercise (SPARX): translating high-intensity exercise from animals to humans. **Contemp Clin Trials**. 2013 Set; 36(1): 90-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cct.2013.06.002>. Acesso em: 11 jan. 2022.

MONTI, S. et al. Falls in Parkinson ' S Disease : **Scientific**. v. 16, n. 2, p. 28–36, 2022.

NASCIMENTO CASTRO, C. D. P.; GIL-MOHAPEL, J.; S. BROCARD, P. Exercício Físico E Neuroplasticidade Hipocampal: Revisão De Literatura. **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 57–78, 2017.

OLIVEIRA, D.M.D. et al. Caracterização do efeito neuroprotetor do veneno de abelhas sobre lesão nigroestriatal induzida por 6-hidroxidopamina em roedores. Anais 2016: **18ª Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes**. "A prática interdisciplinar alimentado a Ciência". 24 a 28 de outubro de 2016.

PAHWA, R. et al. ADS-5102 (Amantadine) Extended-Release Capsules for Levodopa-Induced Dyskinesia in Parkinson Disease (EASE LID Study): A Randomized Clinical Trial. **Journal of the American Medical Association**, 74, 8, 941-949, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mds.26159>. Acesso em: 20 abr. 2022.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**, 4ª ed., Academic Press, 1998.

PEIXINHO-PENA, L.F. et al. A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures. **Epilepsy & Behavior**. v. 25, p. 323–328. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.08.011>. Acesso em: 20 abr. 2022.

PETERNELLA, F. M. N.; MARCON, S. S. Descobrimos a Doença de Parkinson: impacto para o parkinsoniano e seu familiar. **Revista brasileira de enfermagem**, v. 62, n. 1, p. 25–31, 2009.

PETZINGER, G.M. et al. Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease. **The Lancet. Neurology**, v. 12, n. 7, p. 716-26, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(13\)70123-6](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(13)70123-6). Acesso em: 20 abr. 2022.

PICCA, A. et al. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and neuroinflammation: Intertwined roads to neurodegeneration. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 1–21, 2020.

PLOUGHMAN, M, et al. Exercise intensity influences the temporal profile of growth factors involved in neuronal plasticity following focal ischemia. **Brain Research**. 2007; 1150: 2017-2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.02.065>. Acesso em: 20 abr. 2022.

PONDÉ PDS et al. Respostas crônicas do treinamento físico e de imagética na DP. **Rev Bras Med Esporte** vol.25, n. 6, nov./dez. 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/>. Acesso em: 22 de abr. 2020.

PRASAD, E.M.; HUNG, S.Y. Testes Comportamentais em Modelos Animais Induzidos por Neurotoxinas da Doença de Parkinson. **Antioxidantes**.9(10):1007. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox9101007>. Acesso em: 20abr. 2022.

PURISAI, M.G. et al. Microglial activation as a priming event leading to paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. **Neurobiol Dis**. 2007; 25: 392-400. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.10.008>. Acesso em: 20 abr. 2022.

QWHISHAW I ET AL. Impairment of pronation, supination, and body co-ordination in reach-to-grasp tasks in human Parkinson's disease (PD) **reveals homology to deficits in animal models**. v.133, n.2, p. 165-176. Julho 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016643280100479X?via%3Dihub>. Acesso em 12 de junho. 2022.

RIEDESEL AK et al. Severity Assessment of Complex and Repeated Intracranial Surgery in Rats. **Eur Surg Res**. Novembro de 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34731861/>. Acesso 28 de maio. 2022.

RIZZO, G. et al. Accuracy of clinical diagnosis of Parkinson disease: A systematic review and meta-analysis. **Neurology**. 2016, fev. 9; 86(6): 566-76. Disponível em: [10.1212/WNL.0000000000002350](https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002350). Acesso em: 20 jun. 2022.

RODRIGUEZ-PALLARES, J. et al. Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity: The role of NADPH oxidase and microglial activation in 6-hydroxydopamine-induced degeneration of dopaminergic neurons. **Journal of Neurochemistry**, v. 103, n. 1, p. 145–156, 2007.

ROLINSKI, M. et al. Aberrant functional connectivity within the basal ganglia of patients with Parkinson's disease. **NeuroImage: Clinical**, v. 8, p. 126–132, 2015.

ROUGHAN JV, FLECKNELL PA. Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. **Pain**. v.90, n.1-2, p. 65-75. Fevereiro 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11166971/>. Acesso em 28 de maio. 2022.

ROYCE, J.T. On the construct validity of open field measures (1977). **Psychol Bull**, v.84, p.1098-1106.

RUBERT, V.D.A. et al. Doença de Parkinson e exercício físico. **Revista Neurociências**, v. 15, n. 2, p. 141-146, 2007. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.34024/rnc.2007.v15.10279>. Acesso em: 15 mai. 2022.

SALARI, S.; BAGHERI, M. In vivo, in vitro and pharmacologic models of Parkinson's disease. **Physiological Research**, v. 68, n. 1, p. 17–24, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.33549/physiolres.933895>. Acesso em: 15 mai. 2022.

SAMPSON, TR.et.al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. **Cell**. 2016, dez. 1; 167(6): 1469-1480. e12. Disponível em: [10.1016/j.cell.2016.11.018](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.018). Acesso em: 12 mai. 2022.

SANTOS, V. L. **Perfil Epidemiológico da DP no Brasil**. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde. Graduação em Biomedicina. Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2015.

SCALZO, P.L. et al. Mobilidade funcional em indivíduos com doença de Parkinson: associações com alterações motoras e não motoras. **Acta Fisiátr**. [Internet]. 28(2): 105-10. 2021. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/actafisiatrica/article/view/184547>. Acesso em: 17 mai. 2022.

SCHENKMAN, M. et al. Effect of High-Intensity Treadmill Exercise on Motor Symptoms in Patients With De Novo Parkinson Disease. **JAMA Neurology**, v. 75, n. 2, p. 219-226, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3517>. Acesso em: 17 mai. 2021

SMEYNE, M. et al. Glia cell number modulates sensitivity to MPTP in mice. **Glia**. 2005; 52: 144-52. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/glia.20233>. Acesso em: 20 dez. 2021.

SCORZA, F.A. et al. O uniporter mitocondrial de cálcio: um novo alvo terapêutico para as disfunções cardíacas relacionadas à DP? **Clinics**. São Paulo vol. 75. 2020 Epub 10 de janeiro de 2020. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322020000100100. Acesso em: 25 de outubro. 2020.

SCORZA, F.A. et al. Estudo qualitativo da formação hipocampal de animais hipertensos com epilepsia. **Arquivo Neuropsiquiatria**, v.63, n.2A, p.283-288. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2005000200015>. Acesso em: 25 de outubro. 2020

SOUZA, M.F.C et al. Parkinson's disease and the Process of Aging Motor: Literature Review. **Rev Neurocienc**. v. 19, n. 4, p. 718-723, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/289804568_Parkinson's_disease_and_the_process_of_aging_motor_Literature_review. Acesso em: 25 de out. 2021.

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

TEIVE, H. A.G. O papel de Charcot na doença de Parkinson. **Arquivos de Neuropsiquiatria** [online]. 1998, v. 56, n. 1, pp. 141-145. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1998000100026>. Acesso em: 22 jan. 2022.

TURNER, L.F. Aplicación del test de la barra transversal modificado para evaluar ratas hemiparkinsonizadas. **Acta biol.Colomb.**, Bogotá , v. 15, n. 2, p. 189-202, Aug. 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/236965421_Aplicacion_del_test_de_la_barra_transversal_modificado_para_evaluar_ratas_hemiparkinsonizadas. Acesso em: 20 abr. 2022.

VAN DEN ENGEL-HOEK, L et al. Dystrophic changes in masticatory muscles related chewing problems and malocclusions in Duchenne muscular dystrophy. **Neuromuscul Disord**. 2016 Jun;26(6):354-60. Disponível em: 10.1016/j.nmd.2016.03.008. Acesso em: 02 jan. 2022.

VASCONCELOS, N. N. et al. High Intensity Physical Exercise before the Brain Ischemia Promotes Increase in Brain Injury. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 30, n. 12, p. 1–10, 2021

WANG, R.Y.; YANG, Y.R.; YU SM. Protective effects of treadmill training on infarction in rats. **Brain Research**. 2001; 922:140-143. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03154-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03154-7). Acesso em: 02 jan. 2022.

WOJTERA M. et al. Microglial cells in neuro degeneratedisorders. **Folia Neuropathol**. V. 43, n. 4, p. 311-321, 2005. Disponível em: 10.1021/cr040410w. Acesso em: Acesso em: 02 jan. 2022.

YANG, F. et al. Physical activity and risk of Parkinson's disease in the Swedish National March Cohort. **Brain**, v. 138, p. 269-275, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/brain/awu323>. Acesso em: Acesso em: 02 jan. 2022.

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