

Débora da Luz Scheffer

**O PAPEL DA DOPAMINA NO DESENVOLVIMENTO
DE FADIGA EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE
PARKINSON**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-graduação em Educação Física da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
mestre em Educação Física

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alexandra
Susana Latini

Coorientador: Dr. Aderbal Silva
Aguiar Junior

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Scheffer, Débora da Luz

O papel da dopamina no desenvolvimento de fadiga em modelo experimental de doença de Parkinson [dissertação] / Débora da Luz Scheffer ; orientadora, Alexandra Susana Latini ; co-orientador, Aderbal Silva Aguiar Junior. - Florianópolis, SC, 2013.

97 p. ; 21cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Desportos. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

Inclui referências

1. Educação Física. 2. Doença de Parkinson. 3. Fadiga. 4. Atividade física voluntária. 5. Dopamina. I. Susana Latini, Alexandra. II. Silva Aguiar Junior, Aderbal. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Educação Física. IV. Título.

Dedico esta dissertação aos meus pais,
José Luiz Balthazar Scheffer e Ereni
Maria da Luz Scheffer

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e por me guiar e estar comigo sempre a cada novo passo.

Agradeço a toda minha família, em especial aos meus pais, José Luiz e Ereni e ao meu irmão Diogo, por todo ensinamento, dedicação e incentivo, além do amor e apoio incondicional que me fizeram concretizar mais esta etapa. Amo vocês!

Ao meu namorado, amigo e companheiro Rafael, obrigada por sempre caminhar ao meu lado e pela compreensão e incentivo em todos os momentos, com certeza a pessoa mais importante nesses dois anos que se passaram. Obrigada por fazer parte da minha vida.

À minha orientadora, Prof^ª. Alexandra Latini pela oportunidade de muitos conhecimentos, além da confiança e incentivo. Obrigada por acreditar e apostar em mim.

Ao meu co-orientador Aderbal Aguiar por idealizar comigo este projeto e por todo apoio teórico e prático para o desenvolvimento desta dissertação.

Ao Prof. Rui Daniel Prediger e o Laboratório de Doenças Neurodegenerativas do Departamento de Farmacologia pela importante colaboração na realização deste trabalho.

À Prof^ª. Ana Lucia De Paul e todo Departamento de Microscopia Eletrônica da Universidad Nacional de Córdoba, muito obrigada pela recepção e dedicação prestada nos três meses onde realizei meu estágio sanduíche.

Aos amigos de laboratório, Aderbal, Aline, Ana Júlia, Filipe, Flávio, Lucila, Karina, Paulo, Priscila, Roberta e Viviane e do Departamento de Bioquímica, Bianca, Gianni, Jade e Marcos pelo companheirismo, amizade e pelas inúmeras risadas. Vocês são demais!

Ao Prof. Ricardo Pinho pelas oportunidades, apoio e por sua sincera amizade.

Ao Prof. Anicleto Poli do Departamento de Farmacologia por toda paciência, ajuda e ensinamento que foram de fundamental importância para este projeto.

Ao Prof. Luiz Guilherme e ao Laboratório de Esforço Físico por disponibilizar seu laboratório para as análises de lactato.

Ao Programa de Pós Graduação em Educação Física e aos seus secretários pela ajuda sempre que necessário.

A todos meus amigos e colegas ou aqueles que em algum

momento me ajudaram e contribuíram para esta dissertação e para minha formação, meu muito obrigada a todos de coração.

À CAPES pelo apoio financeiro.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.”

John Ruskin

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente na população, com maior incidência nos idosos. Além dos sinais motores da DP como tremor, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural, existe um amplo espectro de sintomas não motores associados à esta doença. A fadiga corresponde a um dos sintomas não-motores que aparece com maior frequência e que influência de forma negativa na qualidade de vida destes pacientes, principalmente por estar relacionada a um estilo de vida sedentário e a uma maior dificuldade de realizar atividade física. Neste cenário, o presente estudo teve como objetivo investigar os mecanismos moleculares relacionados ao desenvolvimento da fadiga num modelo experimental da DP induzido pela administração de reserpina. Para este fim, camundongos Suíços adultos machos realizaram atividade física voluntária em roda de correr por 14 dias, e foram tratados com injeções intraperitoneais de reserpina 1 mg/kg e L-DOPA/benserazida nas doses de 25/12,5 e 100/50 mg/kg. Trinta minutos após a última administração de L-DOPA/benserazida os animais realizaram testes comportamentais de campo aberto e catalepsia. Logo após, o plasma foi coletado e o estriado dissecado para posteriores análises das concentrações de neopterina, dopamina (DA) e DOPAC por cromatografia líquida de alto desempenho, e outro grupo de animais foram perfundidos para posteriormente dissecar o estriado e o quadríceps para análises de morfologia e conteúdo mitocondrial por microscopia eletrônica de transmissão. Os animais expostos à atividade física voluntária percorreram no primeiro dia uma distância de 1888 ± 281 , a qual aumentou para 3505 ± 345 metros/dia, ao longo do protocolo experimental (dia 14). Os animais tratados com reserpina caracterizaram-se pela redução na atividade locomotora voluntária na roda de correr e no teste de campo aberto. Estes animais ainda mostraram uma redução no trabalho, nas concentrações de lactato e nas concentrações estriatais de DA e DOPAC. Em contrapartida, os animais que receberam L-DOPA/benserazida e/ou realizaram atividade física, mostraram um aumento no trabalho, nas concentrações de DA e DOPAC, bem como, no conteúdo mitocondrial no músculo esquelético e no estriado. Os animais submetidos a estes grupos experimentais foram também desafiados física e metabolicamente num teste de esforço máximo em esteira. Como esperado, os animais tratados com reserpina

rapidamente entraram em fadiga e exaustão, provocando o abandono do teste. No entanto, os animais tratados com L-DOPA/benserazida conseguiram resistir durante a primeira metade do teste, quando os animais que receberam reserpina já tinham entrado em exaustão. Por outro lado, a atividade física teve o mesmo efeito que a administração de L-DOPA, no que se refere à redução da severidade cataléptica ocasionada pela reserpina. Em conjunto, nossos experimentos evidenciaram que a fadiga em animais induzidos a DP possa ser a consequência de um envolvimento da deficiência dopaminérgica na atividade locomotora, e que a atividade física pode potencializar os benefícios apresentados pelo tratamento anticataléptico com L-DOPA/benserazida.

Palavras-chave: Doença de Parkinson. Fadiga. Atividade física voluntária. L-DOPA. Dopamina.

ABSTRACT

Parkinson disease (PD) is the second most prevalent neurodegenerative disease, with higher incidence in the elderly population. Besides the characteristics four cardinal symptoms of PD namely, tremor, rigidity, bradykinesia and postural instability, many non-motor symptoms are associated with the disease. Fatigue is one of the most disabling non-motor symptoms, with a significant impact on the quality of life in PD patients. Fatigue is mostly associated with sedentary lifestyle and poor capacity in performing physical activity. In this scenario, the present study aimed to investigate the molecular mechanisms involved in the development of fatigue in an experimental model of PD induced by the administration of reserpine. For this purpose, adult male Swiss mice performed running wheel for 14 days and were treated with intraperitoneal injections of 1 mg/kg reserpine and/or 25/12,5 and 100/50 mg/kg L-DOPA/benserazide. Thirty minutes after the last L-DOPA/ benserazide administration the animals were submitted to the behavioral tests of open field and catalepsy. Afterwards, the plasma was collected and the striatum dissected for further analyzes of neopterin, dopamine (DA) and DOPAC concentrations by high performance liquid chromatography (HPLC). Another group of animals were perfused and the quadriceps and the striatum were dissected for subsequent mitochondrial content and morphology analyses by using transmission electron microscopy. On the first day of the voluntary exercise protocol control animals run 1888 ± 281 meters. This distance increased significantly by the day the end of the protocol to 3505 ± 345 meters/day. In contrast, animals receiving reserpine showed reduced locomotor activity in the running wheel, as well as, and in the open field test. These mice also exhibited reduced work, lower plasma lactate concentrations, and diminished DA and DOPAC levels in the striatum. On the other side, reserpine receiving animals co-treated with the combination L-DOPA/benserazide, or submitted to voluntary physical activity showed increased work, higher levels of plasma lactate and striatal DA and DOPAC, and increased mitochondrial content in skeletal muscle and striatum. The animals under these experimental treatments were also physically and metabolically challenged to a treadmill test. As expected the reserpine-treated animals went rapidly into fatigue and exhaustion, abandoning the test. However, animals treated with L-DOPA/benserazide resisted during the first 50% of the test, when

reserpine-exposed mice were already in fatigue. Furthermore, voluntary exercise showed similar effects as the pharmacological treatment by reducing the severity of the cataleptic score elicited by reserpine. Altogether, our results showed that fatigue might be related to impaired locomotor activity provoked by a compromised dopaminergic neurotransmission, and that physical exercise might enhance the anticataleptic effect of L-DOPA/benserazida therapy.

Keywords: Parkinson disease. Fatigue. Running wheel. L-DOPA. Dopamine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática da organização funcional e circuitos neurais nos núcleos da base na doença de Parkinson (DP) e a ação da L-DOPA.	32
Figura 2	Representação esquemática da biossíntese, vesicularização, liberação, transmissão, metabolismo e recaptção de dopamina (DA).....	34
Figura 3	Representação esquemática da inibição do transportador vesicular de monoaminas (VMAT2) pela reserpina.....	38
Figura 4	Rodas de correr empregadas no protocolo de atividade física voluntária.....	45
Figura 5	Efeito da atividade física voluntária e do tratamento farmacológico com L-DOPA, sobre a rigidez muscular induzida por administração de reserpina no modelo experimental da doença de Parkinson.....	56
Figura 6	Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre a locomoção em animais que realizaram atividade física voluntária.....	57
Figura 7	Efeito da administração de reserpina e/ou L-DOPA, sobre o desempenho físico em animais submetidos a um teste de esforço máximo em esteira.....	59
Figura 8	Efeito da administração de L-DOPA sobre as concentrações estriatais de dopamina e DOPAC e de neopterina plasmática em animais que receberam reserpina e realizaram atividade física...	61
Figura 9	Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre o conteúdo e morfologia mitocondrial em músculo esquelético (quadríceps) de animais submetidos a atividade física voluntária em roda de correr.....	63
Figura 10	Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre o conteúdo e morfologia mitocondrial em estriado de animais submetidos a atividade física voluntária em roda de correr.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Critérios de diagnóstico para a doença de Parkinson do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido.....	29
Tabela 2	Escala de gravidade dos sintomas motores na doença de Parkinson.....	30

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Representação esquemática do desenho experimental empregado no Protocolo I.....	47
Esquema 2	Representação esquemática do desenho experimental empregado no Protocolo II.....	48
Esquema 3	Representação esquemática do desenho experimental empregado no Protocolo III.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT – serotonina
BH4 – tetrahidrobiopterina
COMT – catecol O-metiltransferase
DA – dopamina
DAT – transportador de dopamina
DDC – dopa descarboxilase
DOPAC – ácido 3,4-diidroxifenilacético
DP – doença de Parkinson
ERO – espécie reativa de oxigênio
FSS – Escala de Severidade da Fadiga
GPe – globo pálido externo
GPi – globo pálido interno
Hz – hertz
HPLC – cromatografia líquida de alto desempenho
HVA – ácido homovanílico
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
L-DOPA - L-3,4-dihidroxifenilalanina
MAO-B – monoamina oxidase
MPTP - 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina
NF-κB – fator nuclear κB
NST – núcleo subtalâmico
SNr – substância negra reticulada
SNpc – substância negra parte compacta
TH – tirosina hidroxilase
VMAT2 – transportador vesicular de monoaminas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	Formulação do problema de pesquisa.....	25
2	HIPÓTESE	27
3	OBJETIVOS	27
3.1	Objetivo geral.....	27
3.2	Objetivos específicos.....	27
4	REFERENCIAL TEÓRICO	27
4.1	A doença de Parkinson.....	27
4.2	Sintomas e diagnóstico clínico da doença de Parkinson.....	29
4.3	Fisiopatologia da doença de Parkinson.....	31
4.4	Tratamento da doença de Parkinson.....	35
4.5	Modelo experimental da doença de Parkinson: uso de reserpina.....	37
4.6	Fadiga na doença de Parkinson.....	39
4.7	Fadiga, atividade física e L-DOPA.....	41
5	MATERIAIS E MÉTODOS	43
5.1	Caracterização da pesquisa.....	43
5.2	Animais.....	44
5.3	Metodologia.....	44
5.3.1	Indução experimental da DP.....	44
5.3.2	Tratamento com fármacos.....	44
5.3.3	Protocolo de atividade física.....	45
5.3.4	Protocolo experimental I.....	46
5.3.5	Protocolo experimental II.....	47
5.3.6	Protocolo experimental III.....	48
5.4	Procedimentos e análises.....	49
5.4.1	Amostras.....	50
5.5	Avaliações comportamentais.....	50
5.5.1	Avaliação de postura cataléptica.....	51
5.5.2	Teste de campo aberto.....	51
5.6	Teste incremental máximo em esteira rolante.....	51
5.7	Mensurações bioquímicas.....	52
5.7.1	Quantificação de L-DOPA, DA e DOPAC.....	52

5.7.2	Determinação da concentração de neopterina.....	53
5.7.3	Dosagem de proteína.....	53
5.8	Parâmetro histológico.....	53
5.8.1	Morfologia mitocondrial por microscopia eletrônica.	53
6	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	54
7	RESULTADOS.....	55
7.1	Efeito da atividade física voluntária e do tratamento farmacológico com L-DOPA, sobre a rigidez muscular induzida por administração de reserpina.....	55
7.2	Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre a locomoção em animais que realizaram atividade física voluntária.....	55
7.3	Efeito da administração de reserpina e/ou L-DOPA, sobre o desempenho físico em animais submetidos a um teste de esforço máximo em esteira.....	58
7.4	Efeito da administração de L-DOPA sobre as concentrações estriatais de dopamina e DOPAC e de neopterina plasmática em animais que receberam reserpina e realizaram atividade física voluntária.....	60
7.5	Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre o conteúdo e morfologia mitocondrial em músculo esquelético (quadríceps) de animais submetidos a atividade física voluntária em roda de correr.....	62
7.6	Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre o conteúdo e morfologia mitocondrial em estriado de animais submetidos à atividade física voluntária em roda de correr.....	62
8	DISCUSSÃO.....	65
9	CONCLUSÃO.....	68
10	PERSPECTIVAS.....	69
	REFERÊNCIAS.....	70

1. INTRODUÇÃO

1.1 Formulação do problema de pesquisa

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa progressiva crônica que provoca alterações motoras e não motoras (GOETZ, 2011). A doença afeta aproximadamente 1% da população acima de 60 anos e é a segunda doença neurodegenerativa mais comum (ABOU-SLEIMAN; MUQIT; WOOD, 2006; HASTINGS, 2009). A prevalência mundial da DP é de 100 a 200 casos a cada 100.000 habitantes (HERLOFSON; LARSEN, 2003). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que em 2050, um quinto da população mundial será conformada por idosos (IBGE, 2010). Neste sentido, o aumento do número de pessoas com mais de 60 anos representará, da mesma forma, um claro crescimento na prevalência da DP, visto que o envelhecimento é o principal fator de risco para DP. A doença é encontrada em todos os grupos étnicos, mas com diferenças geográficas na prevalência (ALVES et al., 2008). Nos Estados Unidos de 50.000 a 60.000 novos casos de DP são diagnosticados a cada ano, somando-se um milhão de pessoas que atualmente possuem a DP (NATIONAL PARKINSON FOUNDATION, 2013). No Brasil, se estima que 3,3% da população acima dos 60 anos de idade seja acometida pela doença (BARBOSA et al., 2006).

Devido ao caráter progressivo, que usualmente acarreta incapacidade grave após 10 a 15 anos do diagnóstico clínico, tem elevado impacto social e financeiro, particularmente na população mais idosa. Estima-se que o custo anual mundial com medicamentos antiparkinsonianos esteja em torno de 11 bilhões de dólares, sendo o tratamento cerca de 3 a 4 vezes mais caro para pacientes na fase avançada da doença (GUSTAVSSON et al., 2011; LOKK et al., 2012; OLESEN et al., 2012).

A DP se caracteriza histopatologicamente pela perda seletiva de neurônios dopaminérgicos da substância negra parte compacta (SNpc) do mesencéfalo, pela depleção de dopamina (DA) no estriado e por inclusões intracitoplasmáticas conhecidas como corpúsculos de Lewy, constituídas principalmente pelas proteínas α -sinucleína e ubiquitina (ALVES et al., 2008; BERNHEIMER et al., 1973; SPILLANTINI et al., 1997). As manifestações clínicas da DP incluem tremor, rigidez de repouso, bradicinesia (lentidão de movimentos) e também instabilidade

postural. Além destas manifestações motoras, mais de 90% dos pacientes também desenvolvem complicações não motoras, incluindo prejuízo cognitivo, distúrbio do sono REM (*Rapid Eye Movement* - movimento rápido dos olhos), disfunção olfativa, constipação, fadiga e depressão (CHAUDHURI, K. R. et al., 2011; DRECHSEL; PATEL, 2008; FRIEDMAN, 2009; ZIEMSEN; REICHMANN, 2007). Dos sintomas não motores, a fadiga se destaca pela prevalência de aproximadamente dois terços, e é citada como um dos piores sintomas por influenciar negativamente na qualidade de vida dos pacientes. Esta característica não motora é encontrada no início da doença, geralmente antes do diagnóstico ser realizado. Na maioria dos casos a fadiga está associada a outros sintomas não motores, como depressão e distúrbios do sono (BOREK; AMICK; FRIEDMAN, 2006; FRIEDMAN et al., 2007; GARBER; FRIEDMAN, 2003).

Apesar da fadiga ser caracterizada como sintoma não motor, alguns fatores complicam sua compreensão na DP, a começar pela definição. O termo “fadiga” quando usado por médicos ou pacientes, pode ter um significado que vai desde a depressão mental até fraqueza neuromuscular (LOU et al., 2001). Subjetivamente a fadiga é descrita como uma enorme sensação de cansaço, falta de energia ou sensação de exaustão (FRIEDMAN, 2009). A fadiga muscular, biologicamente pode ser definida pela incapacidade de sustentar a intensidade exigida durante o exercício, e é classificada em; *a*) central; gerada por uma falha na transmissão neural e *b*) periférica; quando ocorre um acometimento metabólico de vias energéticas envolvidas no processo de ressíntese de ATP durante o exercício (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004; FABBRINI et al., 2012; RANIERI; DI LAZZARO, 2012; ROELANDS; MEEUSEN, 2010). Questionários realizados pelos pacientes permanecem como base para mensurar e diagnosticar a fadiga na DP (METTA et al., 2011). No entanto, pacientes com DP muitas vezes demonstram dificuldades em descrever o que estão sentindo ou de classificar sua percepção de fadiga (FRIEDMAN, 2009). Os dados da literatura ainda são muito controversos (GARBER; FRIEDMAN, 2003; HOFF et al., 1997; STEVENS-LAPSLEY; KLUGER; SCHENKMAN, 2012; ZIV et al., 1998) e colocam em dúvida a causa para tal sintoma. Embora este sintoma tenha uma alta prevalência entre os pacientes afetados pela DP, os mecanismos fisiopatológicos da fadiga ainda permanecem desconhecidos (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2000;

FABBRINI et al., 2012; FRIEDMAN, 2009; LOU; BENICE; et al., 2003; WINWARD et al., 2012).

2. HIPÓTESE

A partir do problema levantado foi possível formular a seguinte hipótese:

H1: A deficiência dopaminérgica que caracteriza indivíduos com DP e a desregulação da atividade do sistema dopaminérgico é a causa do desenvolvimento da fadiga nos pacientes afetados pela DP.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os mecanismos moleculares responsáveis do desenvolvimento da fadiga em modelo experimental da DP.

3.2 Objetivos específicos

Investigar a *i*) modulação do sistema dopaminérgico; *ii*) resposta metabólica e motora; e *iii*) ativação do sistema imune, em camundongos tratados com reserpina, um modelo experimental da DP, e depois submetidos a um protocolo de atividade física voluntária, e/ou a um tratamento farmacológico com o precursor da dopamina, o aminoácido levodopa (L-DOPA) e benserazida, para inibir a conversão periférica de dopamina.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 A doença de Parkinson

A DP foi descrita pela primeira vez como uma síndrome neurológica pelo médico inglês James Parkinson em 1817, no livro intitulado “*An Essay on the Shaking Palsy*” (Ensaio sobre a Paralisia Agitante), correspondendo esta à primeira descrição mundial da DP. No início do século XX, graças aos estudos do neurologista francês Jean Charcot, os conhecimentos clínicos da doença tomaram maior impulso. Uma importante contribuição de Charcot no estudo da DP foi a

diferenciação dos distúrbios desta doença de outras alterações do movimento, como a esclerose múltipla e a conclusão de que a bradicinesia é independente da rigidez e da presença de tremores (BURCH; SHEERIN, 2005; GOETZ, 2011).

A DP é uma doença neurológica progressiva e neurodegenerativa, e atualmente ainda incurável. Embora muito tenha se avançado sobre o entendimento da DP, a etiologia da mesma ainda permanece sem ser definida, e a expectativa de vida de pacientes afetados pela doença é reduzida (ALVES et al., 2008).

A DP é a doença neurodegenerativa mais comum depois da doença de Alzheimer (DE LAU; BRETELER, 2006). O início da doença geralmente acontece a partir dos 60 anos de idade, e raramente antes dos 50 anos. Aproximadamente 1-2% da população acima de 60 anos sofre de DP. Este valor aumenta para 3 a 5% em pessoas acima de 85 anos de idade (ALVES et al., 2008; DE LAU; BRETELER, 2006).

Por ser uma doença que acomete principalmente o indivíduo idoso, é comum encontrar maior número de casos de DP em países desenvolvidos, onde a estimativa de vida é maior. Nos Estados Unidos de 50.000 a 60.000 novos casos de DP são diagnosticados a cada ano, somando-se um milhão de pessoas que atualmente possuem a DP e classificando a doença como a 14ª causa de morte no país (NATIONAL PARKINSON FOUNDATION, 2013). Na Europa, estudos indicam uma prevalência de 100 a 200 casos por 100.000 habitantes (ALVES et al., 2008).

No momento do diagnóstico clínico da DP, quatro sinais motores se destacam a avaliação neurológica: tremor, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural (DE LAU; BRETELER, 2006). Esse fatores, associados a progressão natural da doença, bem como, a outras comorbidades, contribuem significativamente para uma piora na qualidade de vida dos paciente e de seus cuidadores. Ainda, estes possuem impacto negativo nas atividades da vida diária e no trabalho dos pacientes com DP, com implicações nas taxas de morbidade e mortalidade (ALVES et al., 2008).

Devido a natureza progressiva da DP, que usualmente acarreta incapacidade grave após 10 a 15 anos de doença, tem elevado impacto social e financeiro, particularmente na população mais idosa e os custos aumentam com a gravidade da doença (DODEL et al., 1998; SIDEROWF; HOLLOWAY; STERN, 2000). No Reino Unido foram estimados custos anuais em cerca de 954.880.000 Euros com pacientes

com DP (FINDLEY et al., 2003). Da mesma forma, em uma pesquisa sueca o custo total anual da doença foi estimado em 13.800 Euros por pessoa. Devido ao crescimento populacional o gasto econômico na DP é esperado aumentar ainda mais no futuro (ALVES et al., 2008).

4.2 Sintomas e diagnóstico clínico da doença de Parkinson

Existe uma grande heterogeneidade quanto à evolução da doença, a gravidade e a progressão dos sintomas (LEES; HARDY; REVESZ, 2009). Os sintomas da DP estão relacionados com as características motoras, que incluem: tremor em repouso (4-6 Hz), dificuldade em iniciar o movimento (acinesia), redução da velocidade do movimento (bradicinesia), passos assimétricos no tamanho e na velocidade (hipocinesia), rigidez muscular, alterações de equilíbrio e instabilidade postural (ANTONINI et al., 1998; BERARDELLI et al., 2001; MARSDEN, 1994). No entanto, os pacientes diagnosticados com DP também apresentam manifestações não motoras que incluem depressão, fadiga, distúrbios do sono REM, constipação, alucinações e demência, as que impactam negativamente sobre a qualidade de vida (BOREK et al., 2006; CHAUDHURI, K. R.; NAIDU, 2008; CHAUDHURI, K. R. et al., 2011; METTA et al., 2011).

O diagnóstico da DP baseia-se em critérios baseados na sintomatologia dos pacientes, que foram estabelecidos pelo Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido (HUGHES et al., 1992). Os critérios podem ser divididos em três grupos, aqueles necessários para o diagnóstico, os de suporte positivo para diagnóstico da DP e os excludentes de DP (Tabela 1).

Tabela 1 – Critérios de diagnóstico para a Doença de Parkinson do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido

Critérios necessários para diagnóstico de DP

- bradicinesia (deve estar presente junto com pelo menos um dos seguintes sintomas abaixo)
- rigidez muscular
- tremor de repouso (4-6Hz) avaliado clinicamente
- instabilidade postural não causada por distúrbios visuais, vestibulares, cerebelares ou proprioceptivos

Critérios negativos (excludentes) para DP

- história de acidente vascular cerebral
- história de trauma craniano grave
- história definida de encefalite
- crises oculogíricas
- tratamento prévio com neurolépticos
- remissão espontânea dos sintomas
- quadro clínico estritamente unilateral após três anos
- paralisia supranuclear do olhar
- sinais cerebelares
- sinais autonômicos precoces
- demência precoce
- sinal de Babinski
- presença de tumor cerebral ou hidrocefalia comunicante
- resposta negativa a altas doses de L-DOPA
- exposição à metilfeniltetraperidíneo

Crítérios de suporte positivo para o diagnóstico de DP (três ou mais destes sintomas são necessários para o diagnóstico)

- início unilateral
 - presença de tremor de repouso
 - doença progressiva
 - persistência da assimetria dos sintomas
 - boa resposta a L-DOPA
 - presença de discinesias induzidas por L-DOPA
 - resposta a L-DOPA por cinco anos ou mais
 - evolução clínica de dez anos ou mais
-

Ainda, a doença pode ser classificada em cinco estágios, de acordo com a severidade dos sintomas motores, e vão de alterações motoras unilaterais até confinamento na cadeira de rodas ou leito (Tabela 2) (HOEHN; YAHR, 1967).

Tabela 2- Escala de gravidade dos sintomas motores na Doença de Parkinson

Estágio 1 – doença unilateral;

Estágio 1,5 – doença axial e unilateral;

Estágio 2 – doença bilateral leve. Sem prejuízo do equilíbrio;

Estágio 2,5 – doença bilateral, com recuperação do “teste de tração”;
Estágio 3 – doença bilateral leve a moderada. Instabilidade postural.
Fisicamente independente;
Estágio 4 – deficiência severa, mas ainda capaz de caminhar ou de ficar de pé sem assistência;
Estágio 5 – confinado a cadeira de rodas ou ao leito. Necessita de assistência.

Como apontado nas Tabelas 1 e 2, o principal recurso para o diagnóstico da DP é a avaliação clínica, que consiste na observação detalhada e no acompanhamento do paciente, baseando-se na informação da progressão dos sinais, sintomas e do perfil clínico. Vários dos sintomas da DP acima descritos, também estão presentes durante o envelhecimento, fato que determina que a DP frequentemente seja diagnosticada tardiamente. No entanto, um diagnóstico definitivo da DP requer uma confirmação *post-mortem*.

4.3 Fisiopatologia da doença de Parkinson

A DP se caracteriza histopatologicamente pela perda seletiva de neurônios dopaminérgicos da SNpc do mesencéfalo e por inclusões intracitoplasmáticas conhecidas como corpúsculos de Lewy, as que são constituídas principalmente pelas proteínas α -sinucleína e ubiquitina (ALVES et al., 2008; BERNHEIMER et al., 1973; SPILLANTINI et al., 1997). Os corpúsculos de Lewy são inclusões intracelulares de origem proteica que se acumulam em neurônios em processo de degeneração, especialmente nos neurônios dopaminérgicos da SNpc.

A fisiopatologia da DP está associada a disfunção dos sistemas neurotransmissores, principalmente por uma redução nas concentrações de DA no corpo estriado (BURCH; SHEERIN, 2005).

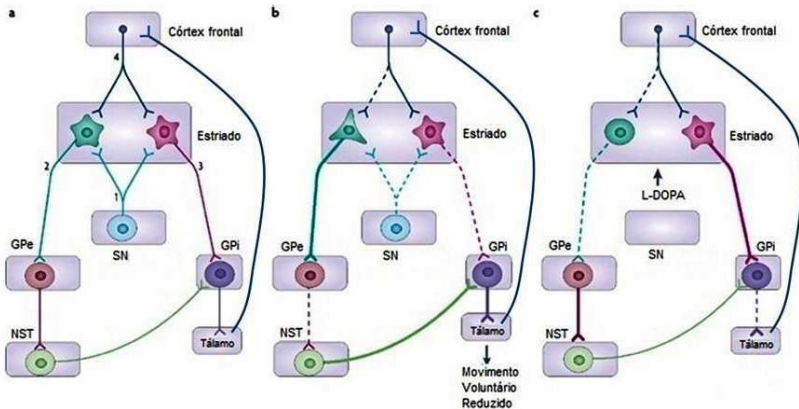


Figura 1. Representação esquemática da organização funcional e circuitos neurais nos núcleos da base na doença de Parkinson (DP) e a ação da L-DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina). **a.** Interconexões nos núcleos da base em um estado normal. Os neurônios dopaminérgicos criam um caminho direto entre substância negra (SN) e estriado, que representa a entrada de informação dos núcleos da base (1). A conexão do estriado ao globo pálido externo (GPe) e depois núcleo subtalâmico (NST) é chamada de via indireta (2). A ligação do estriado ao globo pálido interno (GPI) e SN representa a via direta (3). O GPI e SN são os núcleos de saída da informação, que se projeta para o tálamo e de lá para o córtex (4). A via direta resulta em um aumento na atividade do córtex e a via indireta resulta em diminuição da atividade do córtex. **b.** Interconexões nos núcleos da base na DP. Ocorre morte de neurônios dopaminérgicos na SN a qual provoca uma redução do sinal da via direta e diminui as concentrações de dopamina (DA) no estriado, ocorrendo redução dos movimentos voluntários. **c.** O tratamento com L-DOPA age reconstituindo as concentrações de DA no estriado. A DA facilita a via direta e inibe a via indireta. Recuperação dos movimentos voluntários. Adaptado de JENNER (2008).

As manifestações motoras da DP podem ser explicadas de maneira simplificada pelo processo de degeneração de neurônios dopaminérgicos nigroestriatais com consequente redução de DA estriatal e desenvolvimento de alterações motoras (LANG, 2009; LEES et al., 2009). Neste cenário, sabe-se que os núcleos da base, constituídos por substância negra (SN), estriado, globo pálido externo (GPe) e interno (GPI) e núcleo subtalâmico (NST), são descritos de longa data como um centro motor, devido a antigas evidências *post-mortem* sobre distúrbios envolvendo movimentos involuntários, desde hipocinéticos

até hipercinéticos, e alterações patológicas desses núcleos estão associadas a alterações motoras complexas, como tremor de repouso e lentidão dos movimentos voluntários (Figura 1) (BURCH; SHEERIN, 2005; JENNER, 2008; VILLABLANCA; MARCUS, 1975).

Os neurônios dopaminérgicos da SNpc sintetizam o neurotransmissor DA e uma ativação destes neurônios leva a intensa liberação de DA para o estriado, que dá origem a duas saídas principais responsáveis pelo controle motor: a via direta, que facilita a atividade motora e a via indireta que inibe a atividade motora (CHEN; FURMAN; GNEGY, 2010; FOLEY; FLESHNER, 2008; GOETZ, 2011). A sinalização dopaminérgica ocorre em duas famílias de receptores transmembrana: D1 e D2, classificados de acordo com sua influência nas concentrações de AMP cíclico. A família D1 compreende os subtipos D1 e D5, enquanto a família D2 compreende os subtipos D2, D3 e D4. Os receptores do tipo D1 são geralmente encontrados em regiões pós-sinápticas. Os receptores D2 são responsáveis por desempenhar um papel importante na codificação da função motora no estriado, sendo encontrados em regiões pós-sinápticas e pré-sinápticas (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011; VUCKOVIC et al., 2010).

A síntese de DA consiste na conversão do aminoácido tirosina em L-DOPA pela ação da enzima tirosina hidroxilase (TH), na presença do cofator obrigatório tetrahydrobiopterina (BH4), seguida da ação da descarboxilase de aminoácidos aromáticos para posteriormente ser convertida a DA e armazenada em vesículas sinápticas (STAAL; MOSHAROV; SULZER, 2004). A vesicularização da DA ocorre através de transporte ativo mediado pelo transportador vesicular de monoaminas (VMAT2) associado a uma bomba de prótons, enquanto que a captação da DA extracelular, ocorre através do transportador plasmático de DA (DAT; Figura 2) (CHEN et al., 2010).

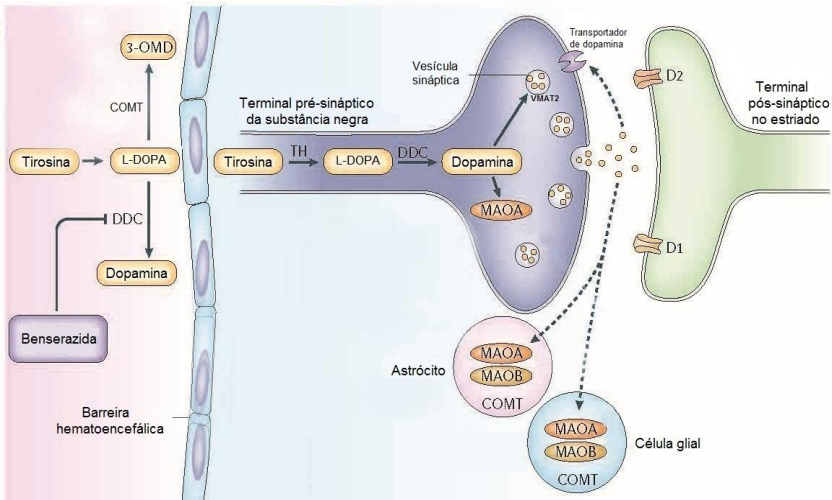


Figura 2. Representação esquemática da biossíntese, vesicularização, liberação, transmissão, metabolismo e recaptação de dopamina (DA). A síntese do neurotransmissor inicia a partir da transformação da tirosina em L-DOPA (levodopa) pela ação da tirosina hidroxilase (TH), seguida da ação da dopa descarboxilase (DDC), para produzir DA. O transporte vesicular de DA é realizado através do transportador vesicular de monoaminas (VMAT2), e a captação da DA extracelular, pelo transportador de DA plasmático (DAT). A captação pós-sináptica e glial da DA é realizada pelos transportadores de norepinefrina (NET) e de cátions orgânicos (OCT2), respectivamente. A DA é catabolizada em ácido 3,4-diidroxifenilacético (DOPAC) pela enzima mitocondrial monoamina oxidase-B (MAO-B), e em 3-metiltirosina (3-MT) e ácido homovanílico (HVA) pela enzima catecol O-metiltransferase (COMT). Os receptores D1 e D2 medeiam a transmissão dopaminérgica. Adaptado de YODIM; EDMONDSON; TIPTON (2006).

Numerosas evidências demonstraram que a disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, agregação de proteínas, apoptose, neuroinflamação e excitotoxicidade glutamatérgica parecem estar envolvidas na patogenia da doença (MATTSON, 2000; RODRIGUEZ; OBESO; OLANOW, 1998; SCHAPIRA et al., 1989; TANSEY; MCCOY; FRANK-CANNON, 2007; TSANG; CHUNG, 2009). A relação direta entre disfunção mitocondrial e DP veio a partir da descrição da deficiência do complexo I na SNpc em autopsias de córtex frontal em pacientes com DP (SCHAPIRA, 2008; SCHAPIRA et al.,

1989). Sabe-se que a deficiência ou inibição parcial do complexo I resulta em aumento da produção mitocondrial das espécies reativas de oxigênio (ERO), aumento no estresse oxidativo e danos celulares irreversíveis (para revisão ver LATINI et al. (2012). Esta deficiência mitocondrial parece não ser exclusivamente cerebral, visto que todos os afetados apresentam inibição deste complexo mitocondrial em plaquetas de sangue periférico (GU et al., 1998; MYTILINEOU et al., 1994; SCHAPIRA et al., 1989).

Outros mecanismos de neurotoxicidade envolvidos na patogenia da DP envolvem estímulos imunológicos com capacidade de ativar células imunocompetentes. A estimulação do sistema imune regula positivamente a ativação do fator nuclear κ B (NF- κ B), um fator de transcrição que promove processos inflamatórios e de estresse oxidativo. Neste contexto, a ativação de células imunocompetentes induz a formação de interferon- γ , potente citocina que consequentemente estimula a ativação de macrófagos. Esta ativação do sistema imune pode ser monitorada pela formação de neopterina, uma pteridina derivada do GTP (WIDNER; LEBLHUBER; FUCHS, 2002). Pacientes afetados pela DP apresentam altas concentrações de neopterina em fluidos biológicos (WIDNER et al., 2002), bem como, infiltração de linfócitos em tecido cerebral *postmortem* (BROCHARD et al., 2009).

4.4 Tratamento da doença de Parkinson

A natureza progressiva da DP e suas manifestações clínicas (motoras e não-motoras), associadas a efeitos colaterais precoces e tardios da intervenção terapêutica, tornam o tratamento da doença um desafio muito complexo. O grau de resposta à terapia farmacológica decresce em paralelo com a progressão da doença e aparição de novos sintomas (MORRISH et al., 1998). Ainda, a escolha do medicamento mais adequado deverá levar em consideração fatores como estágio da doença, sintomatologia presente, ocorrência de efeitos colaterais, idade do paciente, medicamentos em uso e seu custo.

Na década de 60, após a identificação de alterações patológicas e bioquímicas no cérebro de pacientes com DP, surgiu o primeiro tratamento com sucesso, abrindo caminho para o desenvolvimento de novas terapias mais efetivas. A introdução de L-DOPA representou o maior avanço terapêutico na DP, produzindo benefícios clínicos para praticamente todos os pacientes e reduzindo a mortalidade por esta

doença (LANG, 2009; OLANOW; STERN; SETHI, 2009). Além de aumentar a expectativa de vida, a terapia com L-DOPA está disponível a um baixo custo, e é geralmente bem tolerada (GAINES; HINSON, 2012).

O tratamento farmacológico com L-DOPA tem a capacidade, depois de ser absorvido pelo trato gastrointestinal, de permear a barreira hematoencefálica, ser captado pelo transportador de aminoácido aromático e transformado em DA no terminal neuronal (Figura 2). A farmacocinética da L-DOPA descreve uma meia vida plasmática de aproximadamente duas horas. Apenas 1-3% de uma dose de L-DOPA oral chega efetivamente ao cérebro, o restante é metabolizado periféricamente. Desta forma, é necessária a administração conjunta de inibidores da enzima dopa-descarboxilase (DDC) que promove a descarboxilação da DA, por exemplo, benserazida ou carbidopa (HUOT et al., 2012; KALINDERI et al., 2011; RAVENSTIJN et al., 2012). Estes inibidores não atravessam a barreira hematoencefálica, aumentando a conversão central de L-DOPA. A excreção urinária da L-DOPA aparece sob a forma dos metabólitos HVA e DOPAC, oito horas após a administração de uma dose oral. Embora a L-DOPA seja o medicamento de eleição para o tratamento da DP, a administração crônica do fármaco é frequentemente associada com o desenvolvimento de flutuações motoras e discinesias, que atingem aproximadamente 50% dos pacientes (normalmente após 3-5 anos) (KALINDERI et al., 2011; LINAZASORO, 2005). “Flutuações motoras” se referem a respostas motoras flutuantes à administração da L-DOPA, com encurtamento da duração de seu efeito (fenômeno do *wearing off*) e interrupção súbita de sua ação, levando a uma situação “resposta-falta de resposta” (fenômeno *on-off*) ao medicamento (KOLLER, 2002).

Existem outros modos de intervenção farmacológica como com agonistas dopaminérgicos para os receptores tipo D2 (bromocriptina e pramipexol), inibidores da enzima monoamina oxidase-B (MAO-B) (selegilina e rasagilina), inibidores da enzima catecol-O-metiltransferase (tolcapone e entacapone), anticolinérgicos (biperideno, triexifenidil e benzotropina) e antiglutamatérgicos (amantadina) que também são utilizados de acordo com o paciente e a progressão da doença.

Quando o paciente apresenta um comprometimento funcional significativo e não responde mais à nenhuma terapia farmacológica, a alternativa está representada pelo tratamento cirúrgico. Este tratamento pode ser dividido em duas categorias: técnicas que envolvem a lesão de

uma determinada área cerebral, por exemplo, a talamotomia indicada no tremor, ou a palidotomia estereotáctica no tratamento de discinesias induzidas por L-DOPA; e a estimulação cerebral profunda (*deep brain stimulation*), a qual é realizada mediante a introdução de um eletrodo no cérebro que fornece uma corrente elétrica contínua sem causar lesão. Esta última é considerada uma técnica mais segura por permitir uma suspensão do tratamento farmacológico (LIMOUSIN et al., 1998; VOON et al., 2005).

Comparado ao tratamento com L-DOPA os tratamentos cirúrgicos proporcionam um curso mais estável de resposta, com menos flutuações motoras e discinesias, e permite a redução das concentrações do medicamento, o que em consequência reduz outras complicações, e aumenta a qualidade de vida. Entretanto, o tratamento cirúrgico é retardado o máximo possível devido ao fato de que todos os procedimentos cirúrgicos estão sujeitos ao desenvolvimento de complicações, as quais incluem hemorragia, convulsões, déficits motores, deterioração cognitiva e, até mesmo, a morte (BRONSTEIN; DESALLES; DELONG, 1999; LANG et al., 1997).

4.5 Modelo experimental da doença de Parkinson: uso de reserpina

A reserpina é um alcaloide isolado das raízes da planta *Rauwolfia serpentina*. Antigamente era prescrita no tratamento da hipertensão por agir no sistema nervoso simpático pela depleção das concentrações de noradrenalina nos nervos simpáticos, causando vasodilatação e diminuição da frequência cardíaca. Sua utilização clínica foi suspensa, pois o uso crônico causava um estado de depressão em seres humanos. A reserpina foi utilizada inicialmente por Carlsson e colaboradores (CARLSSON; LINDQVIST; MAGNUSSON, 1957) que observaram prejuízos motores em coelhos, os quais podiam ser revertidos pela administração de L-DOPA. Essa observação foi o ponto de partida para o entendimento do papel da DA no SNC, principalmente nos núcleos da base, e sua relação com DP e esquizofrenia (CARLSSON et al., 1957; DUTY; JENNER, 2011). A reserpina simula alguns sintomas motores da DP como bradicinesia, rigidez muscular e tremor de repouso, além de prejuízos cognitivos como prejuízo de memórias implícitas e operacionais, demência e depressão (DUVOISIN; MARSDEN, 1974; LEE et al., 2012; MAXIA et al., 2012; SHIOZAKI et al., 1999; SILVA et al., 2002). A reserpina é um agonista irreversível do VMAT2,

impedindo o armazenamento vesicular de DA. Assim a DA permanece no citoplasma, sendo rapidamente oxidada pela MAO-B, o que causa a depleção de monoaminas em tecidos neurológicos, incluindo noradrenalina, serotonina (5-HT), e DA (DUTY; JENNER, 2011). Desta forma, a redução nas concentrações centrais de DA induzida por reserpina prejudica a neurotransmissão dopaminérgica (Figura 3).

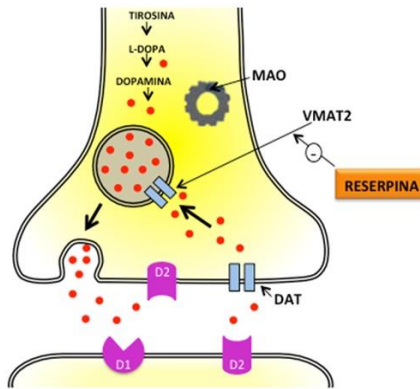


Figura 3. Representação esquemática da inibição do transportador vesicular de monoaminas (VMAT2) pela reserpina. O transporte vesicular de dopamina (DA) é realizado através do VMAT2, e a captação da DA extracelular, pelo transportador de DA plasmático (DAT). A reserpina inibe o VMAT2 e bloqueia o armazenamento de DA nas vesículas sinápticas. A DA que estará livre no citoplasma será oxidada pela monoamina oxidase-B (MAO-B). Os receptores D1 e D2 medeiam a transmissão dopaminérgica.

Embora o modelo de reserpina simule os principais componentes da bioquímica da DP e provoque bradicinesia e rigidez, clínicas da DP, não existe degeneração de células dopaminérgicas da SNpc. No entanto, animais tratados com reserpina provaram ser muito úteis para prever a eficácia de fármacos envolvidos na restituição da sinalização dopaminérgica (DUTY; JENNER, 2011; CASTRO et al, 2006; DUTRA et al, 2002;). Do ponto de vista experimental, baixas doses de reserpina (0,1-1,0 mg/kg) modelam prejuízos cognitivos e olfatórios em roedores, enquanto doses mais elevadas (5 mg/kg) causam prejuízos motores (AGUIAR, A. S., JR. et al., 2009; PREDIGER, R.D. et al., 2004; PREDIGER, R. D.; DA CUNHA; TAKAHASHI, 2005). No entanto, a

dose repetida de 1 mg/kg também mostrou ser capaz de causar prejuízos motores (CASTRO, J. P. et al., 2006; DUTRA et al., 2002).

4.6 Fadiga na doença de Parkinson

A fadiga apresenta diferentes definições, dependendo do contexto em que aparece. De uma forma geral a fadiga pode ser definida como uma enorme sensação de cansaço, falta de energia ou sensação de exaustão (ALVES et al., 2008; ARCHER; FREDRIKSSON; JOHANSSON, 2011; CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004; FRIEDMAN, 2009; GARBER; FRIEDMAN, 2003). A fadiga se destaca por ter uma prevalência de aproximadamente dois terços em pacientes com DP, e é citada como um dos piores sintomas por influenciar negativamente na qualidade de vida dos pacientes (GARBER; FRIEDMAN, 2003). Nos Estados Unidos, a fadiga tem sido também o sintoma não motor mais frequentemente citado por pacientes com DP como fator para desistência no trabalho (FRIEDMAN, 2009).

Esta característica se destaca no início da DP, geralmente antes do diagnóstico ser realizado. Em estágios mais avançados da DP, a taxa de prevalência varia entre 40-56%, a frequência da fadiga se eleva (75%), principalmente durante o estado desligado, ou *off* (sem medicação) (ALVES et al., 2008; ZIV et al., 1998).

Raramente a fadiga surge isoladamente, sendo geralmente simultânea a depressão e alterações no sono, logo, muitos autores também a caracterizam como um sintoma não motor (BOREK et al., 2006; CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004; FRIEDMAN et al., 2007; GARBER; FRIEDMAN, 2003). Esta queixa é universal, e a fadiga também é reportada em outras doenças progressivas como câncer, esclerose múltipla, acidente vascular cerebral, doença pulmonar obstrutiva crônica, entre outras (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004; FRIEDMAN, 2009; KLUGER; KRUPP; ENOKA, 2013).

A percepção de fadiga é subjetiva, não existe definição exata por causa da sobreposição entre noção de cansaço e os sintomas clinicamente relevantes de fadiga. Para uso clínico, a fadiga é definida como dificuldade na iniciação ou sustentação das atividades voluntárias. Para entender a fadiga, podemos considerar o esforço voluntário como uma variável controlada que é afetada por muitos sistemas de controle. A atividade física voluntária é dependente do fluxo de impulsos nervosos nos principais sistemas sensoriais e motores.

A fadiga periférica (sintoma motor) é um termo apropriado para distúrbios do músculo e junção neuromuscular. A redução na força motora no músculo fadigado pode ser definida pela incapacidade de sustentar a intensidade exigida durante o exercício (RANIERI; DI LAZZARO, 2012). No entanto, a sensação subjetiva de fadiga é essencialmente percebida a nível de sistema nervoso central (SNC) (fadiga central caracterizada como sintoma não-motor) (LOU, 2009). A fadiga central, no entanto, não é simplesmente um sentimento de exaustão física, ela também tem um importante componente cognitivo. Em alguns pacientes, este componente é geralmente o aspecto mais perturbador de seu sintoma, porque eles encontram-se limitados em sua capacidade de sustentar a concentração e suportar tarefas mentais (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004; FRIEDMAN; ABRANTES; SWEET, 2011; RANIERI; DI LAZZARO, 2012; ROELANDS; MEEUSEN, 2010).

Ao contrário da fadiga periférica em que ocorre um acometimento metabólico de vias energéticas envolvidas no processo de ressíntese de ATP durante o exercício, o processo fisiopatológico da fadiga central, a que parece prevalecer na DP e outras doenças como, esclerose múltipla e síndrome de fadiga crônica, ainda não está muito bem definido (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004). No entanto, Chaudhuri e Behan (2000) relatam que fadiga é um sintoma de doenças que afetam os núcleos da base e interrompem a ligação entre córtex pré-frontal e tálamo.

Apesar da importância da fadiga, por sua alta prevalência ou pelas consequências que ocasionam na vida dos pacientes, esta nem sempre é reconhecida pelos profissionais de saúde. Este fato por ser em decorrência do entendimento incompleto da base fisiológica da fadiga, o desconhecimento de ferramentas para sua avaliação, e/ou a limitação de seu tratamento (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2004). Vulgarmente, muitos também entendem que a fadiga ocorre apenas em situações de esforço físico, como o esporte ou trabalho vigoroso, ou em situações muito mórbidas, como pessoas muito doentes. Hoje, já se conhecem inúmeros instrumentos de divulgação mundial para a avaliação da fadiga, sendo a Escala de Severidade da Fadiga (*Fatigue Severity Scale - FSS*) a mais utilizada (KRUPP; POLLINA, 1996; SCHWARTZ; JANDORF; KRUPP, 1993). Dessa forma, o diagnóstico e a avaliação contínua são feitos a partir de relato do paciente e observação do seu comportamento.

4.7 Fadiga, atividade física e L-DOPA

As alterações de movimento e as disfunções motoras, características da DP, além do comprometimento do desempenho motor, estão associadas como responsáveis pela diminuição da capacidade física destes pacientes (ARCHER et al., 2011; FRIEDMAN, 2009). No entanto, esta associação entre atividade física e fadiga em pacientes com DP ainda é obscura.

Está bem estabelecido que quantidades insuficientes de atividade física, ou sedentarismo, é um importante fator de risco para obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus do tipo 2, entre outras condições crônicas (PAFFENBARGER et al., 1993). A falta de atividade física também tem sido relacionada com disfunções no sistema autoimune, doenças pulmonares e alterações musculoesqueléticas, alguns tipos de câncer, e mais recentemente como fator de risco para doenças neurodegenerativas (BLUMENTHAL et al., 1982; TREJO et al., 2002; VILLAR-CHEDA et al., 2009). Podemos considerar que o estilo de vida sedentário seja um dos principais riscos para o desenvolvimento de doenças crônicas (HANDSCHIN; SPIEGELMAN, 2008). Neste cenário, grande importância vem sendo dada à prática de atividade física em nossa sociedade, principalmente para o desenvolvimento dos componentes da aptidão física voltados à saúde, incluindo aptidão cardiorrespiratória, força, *endurance* muscular, flexibilidade e composição corporal. Ainda, existem outras vantagens propiciadas pela atividade física regular, que são a melhora na estabilidade articular, aumento da massa óssea, aumento das concentrações plasmáticas de colesterol HDL, diminuição da frequência cardíaca de repouso, diminuição do risco de arteriosclerose, acidente vascular cerebral, diminuição do estresse psicológico, entre outros (GUINEY; MACHADO, 2013; LOPRINZI et al., 2012; PATE et al., 1995; SHULMAN et al., 2012; STEVENSON; ROACH, 2012). Por outro lado, estudos tem demonstrado aumento nas concentrações de fatores neurotróficos, tais como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF - *brain-derived neurotrophic factor*), aumento da neurogênese e diferenciação celular, além de aumentar o sistema de defesa antioxidante (FRIEDMAN et al., 2007; KOBILO; VAN PRAAG, 2012; LAU et al., 2011; SMITH; ZIGMOND, 2003; SPEELMAN et al., 2011; TUON et al., 2012).

Neste contexto, diversos estudos têm demonstrado os benefícios do exercício físico na DP (LAU et al., 2011; LOGROSCINO et al., 2006; PETZINGER et al., 2007; REUTER et al., 2000; XU et al., 2010) e o número de publicações acerca deste assunto vem crescendo significativamente desde 1996 (ROSENTHAL; DORSEY, 2012). Lau e colaboradores (2011) demonstraram que 18 semanas de exercício físico protegeu contra a morte de neurônios na SNpc, além de aumentar significativamente a função mitocondrial no estriado de animais submetidos ao modelo de neurotoxicidade experimental de DP induzido pela administração de MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina). Neste mesmo modelo experimental, Petzinger et al. (2007) demonstraram uma recuperação parcial das concentrações de DA no estriado em animais submetidos a um treinamento em esteira por 28 dias. Da mesma forma, 20 dias de exercício físico voluntário demonstrou melhoras cognitivas e motoras em animais tratados com reserpina (AGUIAR, A. S., JR. et al., 2009).

Por outro lado, estudos clínicos também evidenciaram que o exercício físico pode melhorar a marcha e aptidão cardiovascular de indivíduos com DP após três meses de treinamento (SHULMAN et al., 2012). Nesta linha, trabalhos epidemiológicos tem reforçado a hipótese neuroprotetora do exercício físico frente a esta doença (LOGROSCINO et al., 2006; XU et al., 2010). Dessa forma, o exercício físico tem sido identificado como uma alternativa preventiva e terapêutica para minimizar os sintomas motores e não-motores, além de proteger contra a morte de neurônios dopaminérgicos e disfunção motora em modelos animais de DP (SPEELMAN et al., 2011). No entanto, a fadiga associada com outros sintomas como depressão e alterações na marcha cria uma barreira para a realização de atividades físicas e está diretamente relacionada a um estilo de vida sedentário, uma capacidade para exercício diminuída e um baixo condicionamento físico (AARSLAND et al., 2012; FRIEDMAN, 2009; GARBER; FRIEDMAN, 2003; SPEELMAN et al., 2011). No entanto, Winward e colaboradores (2012) demonstraram recentemente que pacientes com DP não apresentaram melhoras nos índices de fadiga após realizarem exercício físico semanalmente por 12 semanas. Em adição, outro estudo, não encontrou diferença em pacientes com ou sem fadiga na quantidade de atividade física diária (HOFF et al., 1997). Assim, a literatura ainda é muito controversa e estudos mais detalhados são necessários.

Em contra partida, muitas pesquisas tem investigado a associação entre exercício físico e a farmacocinética da L-DOPA, um dos fármacos mais utilizados para tratar os sintomas da DP (CARTER; NUTT; WOODWARD, 1992; LOPANE et al., 2010; REUTER et al., 2000). Embora a maioria dos estudos não encontrou nenhum efeito do exercício sobre a eficácia da L-DOPA (GOETZ et al., 1993; REUTER et al., 2000) uma pesquisa revela uma tendência a uma melhor absorção da L-DOPA durante o exercício físico (REUTER et al., 2000). Acredita-se que a L-DOPA possa atravessar a barreira hematoencefálica de forma mais eficiente devido a maior pressão sanguínea e aumento da frequência cardíaca durante o exercício físico (MUHLACK et al., 2007).

Devido aos dados inconsistentes da literatura pouco se sabe ainda sobre os possíveis mecanismos que levam a fadiga em pacientes com DP e quais os benefícios reais do exercício físico e do tratamento com L-DOPA sobre este sintoma.

Dessa forma este trabalho pretende compreender os mecanismos responsáveis pela fadiga em pacientes com DP, sendo este, o primeiro estudo a investigar a fadiga em um modelo animal de DP.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Caracterização da pesquisa

O presente estudo é caracterizado, quanto a sua natureza, como uma pesquisa básica (THOMAS; NELSON, 2002). Em relação à abordagem do problema, o estudo caracteriza-se como uma pesquisa quantitativa. Conforme Gil (2010), a abordagem quantitativa considera que tudo pode ser quantificável, o que significa traduzir em números opiniões e informações para classificá-las e analisá-las. Já quanto aos objetivos, classifica-se como pesquisa explicativa, pois visa identificar os fatores que determinam ou contribuem para a ocorrência de algum fenômeno (GIL, 2010). Do ponto de vista dos procedimentos técnicos, classifica-se como uma pesquisa do tipo experimental a qual, segundo Gil (2010), tem como finalidade testar hipóteses que dizem respeito a relações de causa e efeito (GIL, 2010). Envolvem grupos de controle, seleção aleatória e manipulação de variáveis independentes e de controle.

5.2 Animais

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais (PP00760/CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o qual por sua vez é regido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados camundongos Suíços machos adultos (45 a 50 g) obtidos do Biotério Central da UFSC e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, UFSC, onde permaneceram sob um ciclo de claro-escuro de 12:12 horas, a uma temperatura ambiental de aproximadamente 22 ± 1 °C, com acesso livre à água e ração para roedores (Nuvital, PR, Brasil). A partir do primeiro dia de experimento os animais foram mantidos em caixas plásticas individuais.

5.3 Metodologia

5.3.1 Indução experimental da DP

A DP experimental foi induzida farmacologicamente pelo tratamento de duas doses de 1mg/kg de reserpina por via intraperitoneal com intervalo de 48 horas (CASTRO, J. P. et al., 2006; DUTRA et al., 2002). A reserpina foi diluída em ácido acético glacial 0,1% em solução cloreto de sódio 0,9% (veículo) e foi injetado um volume de 0,1mL por cada 10g de massa corporal. Os animais controles receberam igual volume de ácido acético glacial 0,1% em solução cloreto de sódio 0,9% (AGUIAR, A. S., JR. et al., 2009).

5.3.2 Tratamento com fármacos

As doses de L-DOPA e benserazida selecionadas foram baseadas em dados prévios da literatura, onde 100 e 25 mg/kg de L-DOPA e 50 e 12,5 mg/kg de benserazida reestabelecem as concentrações cerebrais de DA, quando reduzidas pela administração de reserpina, além de restaurar os parâmetros motores, como por exemplo, a atividade locomotora (BAMFORD et al., 2004; KAUR; STARR, 1995; SINGH; KULKARNI, 2002). De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 5 a 8, as doses de escolha para os experimentos relacionados com o estudo do desenvolvimento de fadiga na DP, foram de 100 mg/kg

de L-DOPA combinada com 50 mg/kg de benserazida, principalmente por restituir as concentrações de DA estriatal e por induzir o melhor efeito anticataléptico. Ainda, a administração de 25 mg/kg de L-DOPA + 12,5 mg/kg de benserazida não reverteu o efeito da administração de reserpina nas concentrações de DA (dados não mostrados).

Os fármacos foram diluídos em metabissulfito de sódio 0,1% em cloreto de sódio 0,9% (veículo) em um volume de injeção de 0,1mL por cada 10g de massa corporal. Os animais controles receberam igual volume de veículo (SINGH; KULKARNI, 2002).

5.3.3 Protocolo de atividade física

O protocolo de atividade física voluntária utilizada neste trabalho consistiu em 14 dias de livre acesso do animal à roda de correr. As rodas equipadas com contadores digitais para mensurar a distância percorrida, a qual foi anotada diariamente para verificação do desempenho do animal na roda, foram alocadas dentro das gaiolas (Figura 4 B-C). Os animais que por algum motivo não correram foram transferidos para o grupo não exercitado. As rodas de correr alocadas nas gaiolas dos animais não exercitados (grupos controles) foram bloqueadas para evitar o viés de enriquecimento ambiental (Figura 4 A). Este protocolo de atividade física foi utilizado nos desenhos experimentais abaixo citados e nomeados como Protocolos I e II.



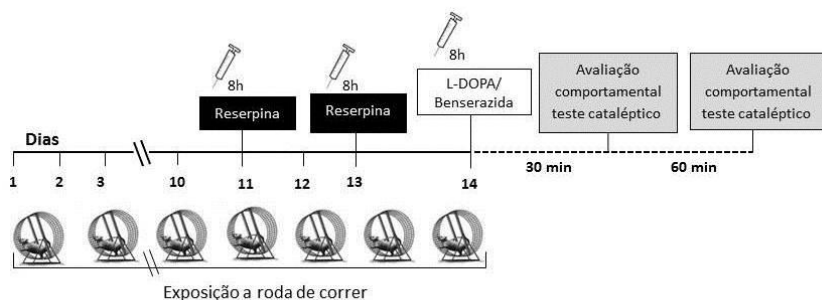
Figura 4. Rodas de correr empregadas no protocolo de atividade física voluntária. (A) Gaiola com roda de correr bloqueada utilizada nos grupos experimentais denominados “não exercitados”. (B) Gaiola com roda de correr empregada nos grupos experimentais denominados “exercício”. (C) Contador de distância percorrida pelos animais que foram submetidos ao protocolo de atividade física voluntária.

5.3.4 Protocolo experimental I

O protocolo experimental empregado para avaliar o efeito cataléptico da reserpina foi conformado pelos seguintes grupos experimentais:

- 1) Grupo não exercitado + reserpina + veículo L-DOPA/benserazida (NER)
- 2) Grupo exercício + reserpina + veículo L-DOPA/benserazida (ER)
- 3) Grupo não exercitado + reserpina + L-DOPA 25 mg/kg/benserazida 12,5 mg/kg (NERL25)
- 4) Grupo exercício + reserpina + L-DOPA 25 mg/kg/benserazida 12,5 mg/kg (ERL25)
- 5) Grupo não exercitado + reserpina + L-DOPA 100 mg/kg/benserazida 50 mg/kg (NERL100)
- 6) Grupo exercício + reserpina + L-DOPA 100 mg/kg/benserazida 50 mg/kg (ERL100)

Este protocolo experimental teve duração de 14 dias e iniciou com o livre acesso dos animais às rodas de correr sem nenhum outro tratamento adicional nos dias 1º a 10º. No 11º e 13º dias os animais receberam uma dose de reserpina e no 14º dia eles receberam uma dose única de L-DOPA/benserazida ou de seus respectivos veículos. O comportamento cataléptico nestes animais foi avaliado 30 e 60 minutos após a administração de L-DOPA/benserazida (Esquema 1).



Esquema 1. Representação esquemática do desenho experimental empregado no Protocolo I. Os animais tiveram livre acesso a roda de correr durante 14 dias. A reserpina (1mg/kg) foi aplicada nos dias 11º e 13º. No dia 14º foi administrada uma única dose de L-DOPA/benserazida (100/50 e 25/12,5 mg/kg), e após 30 e 60 minutos foi mensurada a rigidez muscular através da avaliação do comportamento cataléptico.

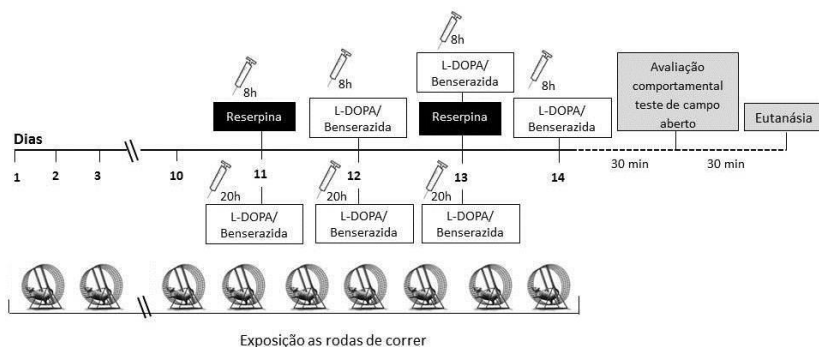
5.3.5 Protocolo experimental II

Os animais foram divididos randomicamente de acordo com os grupos listados abaixo. O protocolo experimental II, que teve duração de 14 dias, iniciou com o livre acesso dos animais as rodas de correr sem nenhum outro tratamento adicional durante os dias 1º ao 10º. No 11º e 13º dias, os animais receberam uma dose de reserpina (1 mg/kg), e entre os dias 11º e 14º receberam seis doses de L-DOPA/benserazida ou de seus respectivos veículos com intervalo de 12 horas. A avaliação comportamental foi realizada 30 minutos após a última administração de L-DOPA/benserazida, e uma hora após os animais sofreram eutanásia (Esquema 2).

Para o desenvolvimento do projeto os animais foram divididos nos seguintes oito grupos experimentais:

- 1) Grupo controle não exercitado + ácido acético 0,1% (veículo reserpina) + metabissulfito de sódio 0,1% (veículo L-DOPA/benserazida) (NEC)
- 2) Grupo controle exercício + ácido acético 0,1% (veículo reserpina) + metabissulfito de sódio 0,1% (veículo L-DOPA/benserazida) (EC)
- 3) Grupo não exercitado + reserpina + veículo L-DOPA/benserazida (NER)

- 4) Grupo exercício + reserpina + veículo L-DOPA/benserazida (ER)
- 5) Grupo não exercitado + reserpina + L-DOPA 25 mg/kg/benserazida 12,5 mg/kg (NERL25)
- 6) Grupo exercício + reserpina + L-DOPA 25 mg/kg/benserazida 12,5 mg/kg (ERL25)
- 7) Grupo não exercitado + reserpina + L-DOPA 100 mg/kg/benserazida 50 mg/kg (NERL100)
- 8) Grupo exercício + reserpina + L-DOPA 100 mg/kg/benserazida 50 mg/kg (ERL100)



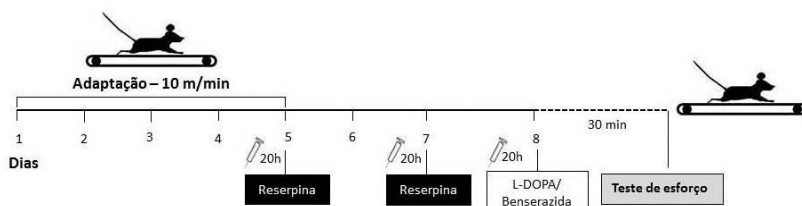
Esquema 2. Representação esquemática do desenho experimental empregado no Protocolo II. Os animais tiveram livre acesso a roda de correr durante 14 dias. Foram aplicadas duas doses de reserpina (1 mg/kg) e seis doses de L-DOPA/benserazida (100/50 e 25/12,5 mg/kg) nos dias e horários especificados no esquema. No 14º dia foi realizada a avaliação comportamental de campo aberto para mensurar a locomoção espontânea dos animais.

5.3.6 Protocolo experimental III

O protocolo III foi aplicado nos seguintes grupos experimentais:

- 1) Grupo controle veículo reserpina + veículo L-DOPA/benserazida (C)
- 2) Grupo reserpina + veículo L-DOPA/benserazida (R)
- 3) Grupo reserpina + L-DOPA 25 mg/kg/benserazida 12,5 mg/kg (RL25)
- 4) Grupo reserpina + L-DOPA 100 mg/kg/benserazida 50 mg/kg (RL100)

Nestes animais foi avaliada a capacidade de esforço máximo. Com este intuito, os animais foram inicialmente adaptados à esteira durante cinco dias, numa velocidade de 10 m/min, por 10min. Logo após o último dia de adaptação, os animais receberam a primeira dose de reserpina (1 mg/kg), e 48 horas após, a segunda dose (ver Esquema 3). Dois dias após o período de adaptação os animais receberam uma única dose de tratamento com LDOPA/benserazida (100/50 e 25/12,5 mg/kg) ou de seus respectivos veículos, e 30 minutos após, deu-se início ao teste incremental máximo que avaliou a capacidade máxima de esforço. O período de adaptação e o teste incremental foram realizados a partir das 18 horas, período que corresponde ao ciclo claro dos animais.



Esquema 3. Representação esquemática do desenho experimental empregado no Protocolo III. Os animais foram adaptados durante cinco dias na esteira a uma velocidade de 10m/min, durante 10 min. A reserpina (1 mg/kg) foi aplicada nos dias 5° e 7°, e no dia 8° foi administrada uma única dose de L-DOPA/benserazida (100/50 e 25/12,5 mg/kg). O teste incremental máximo em esteira rolante foi realizado 30 minutos após a última administração de L-DOPA/benserazida.

5.4 Procedimentos e análises

Tanto a experimentação quanto as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, UFSC. Os testes comportamentais foram realizados no Laboratório de Doenças Neurodegenerativas do Departamento de Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, UFSC. As mensurações de lactato foram realizadas no Laboratório de Esforço Físico, Centro de Desportos, UFSC. As análises de microscopia eletrônica foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica, *Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Córdoba, UNC*.

5.4.1 Amostras

No protocolo I, os grupos experimentais NEC, NERL25 e NERL100 foram conformados por 15 animais e os definidos como EC, ERL25 e ERL100, foram conformados por 6 animais.

O protocolo experimental II foi aplicado em $n=10$ animais por grupo experimental para a avaliação do desempenho na roda de correr, $n=6$ animais para o teste comportamental de campo aberto, $n=5$ animais na mensuração dos parâmetros bioquímicos DA, DOPAC e neopterinina. Os resultados preliminares de microscopia eletrônica estão conformados por $n=2$ animais. No protocolo III todos os grupos experimentais foram compostos por 15 animais.

Os animais do protocolo II utilizados para os parâmetros bioquímicos sofreram eutanásia no 14º dia, 60 minutos após a última administração da combinação L-DOPA e benserazida. O sangue foi coletado e o estriado foi dissecado. As amostras foram mantidas a -86°C até a análise. Outra parte dos animais do protocolo II foram anestesiados mediante a administração intraperitoneal de cetamina (80mg/kg) e xilasina (20mg/kg), e posteriormente perfundidos com cloreto de sódio 0,9%. Após, os tecidos, estriado e quadríceps foram dissecados e colocados em fixador Karnovsky, para a realização das análises ultraestruturais por microscopia eletrônica.

5.5 Avaliações comportamentais

A administração de reserpina em roedores provoca prejuízos na atividade motora e rigidez muscular. Para investigar os efeitos da atividade física sobre estes efeitos foi empregado o teste comportamental de campo aberto, parâmetro comportamental que mensura a atividade locomotora espontânea dos animais (BASSO; BEATTIE; BRESNAHAN, 1995). A rigidez muscular foi avaliada através da postura cataléptica apenas nos animais reserpinizados.

Os animais foram transportados à sala de experimentos climatizada para ambientação uma hora antes do início das tarefas comportamentais, as que foram realizadas durante as 8 horas da manhã.

5.5.1 Avaliação de postura cataléptica

A postura cataléptica foi avaliada após 30 min e 60 min da administração única de L-DOPA/benserazida (100/50 e 25/12,5 mg/kg) (ver esquema 1). Foi registrado o tempo de imobilidade das patas dianteiras e das patas traseiras sobre uma barra horizontal (3 mm de diâmetro, 4,5 cm de altura, 10 cm de largura). A postura cataléptica foi avaliada de acordo com o seguinte escore (SHIOZAKI et al., 1999).

Escore de catalepsia	Postura cataléptica
0	< 5 s em ambas as patas dianteiras e traseiras
1	das patas dianteiras durante 5 a 10 s, e das patas traseiras < 5 s, ou vice-versa
2	das patas dianteiras > 10 s, e das patas traseiras < 5 s
3	das patas dianteiras e traseiras durante 5 a 10 s, ou postura cataléptica das patas dianteiras < 5 s e das patas traseiras > 10 s
4	das patas dianteiras > 10 s, e traseiras durante 5 a 10 s, ou postura cataléptica de patas dianteiras 5-10 s, e traseiras > 10 s
5	das patas dianteiras e traseiras > 10 s

5.5.2 Teste de campo aberto

Trinta minutos após a última administração de L-DOPA/benserazida (100/50 ou 25/12,5 mg/kg) os animais realizaram o teste comportamental de campo aberto (ver Esquema 2). Este consistiu em 15 minutos de livre exploração em uma arena circular. O experimento foi registrado em vídeo e a distância percorrida (m) e a velocidade média (m/min) foram avaliadas através da plataforma ANY-mazeTM.

5.6 Teste incremental máximo em esteira rolante

O teste incremental máximo na esteira foi aplicado nos grupos experimentais do Protocolo III. O teste teve início 30 min após a administração de L-DOPA/benserazida (100/50 ou 25/12,5 mg/kg) (ver Esquema 3). O teste iniciou com velocidade de 16 m/min, com inclinação de 2% e a velocidade de 2 m/min foi incrementada a cada 3

min, até a exaustão (DAVIS et al., 2009; DAVIS et al., 1998). Após atingir a exaustão, o animal foi retirado do teste e 25 µL de sangue foram coletados para análise das concentrações de lactato, através de um pequeno corte na porção distal da cauda do animal, empregando para isso um capilar heparinizado. Esta alíquota de sangue foi colocada em tubos plásticos contendo 50 µL de fluoreto de sódio 1%, e o lactato foi mensurado em analisador específico YSL 2700 (YSL 2700, Yellow Springs, CA, USA).

O trabalho foi estimado através da seguinte fórmula matemática que leva em consideração o peso (kg) dos animais, a aceleração da gravidade (9,81 m/s²), a velocidade (m/s), tempo (min) e a inclinação (%) da esteira (GREEN, 1995; NEDER; NERY, 2003):

$$\text{Trabalho} = (P \times 9,81) \times V \times T \times I.$$

O resultado foi expresso em joule. Esses animais foram utilizados exclusivamente para este propósito, pois as coletas de sangue caudal, somadas ao estresse de um teste máximo, poderiam influenciar no comportamento dos animais.

5.7 Mensurações bioquímicas

5.7.1 Quantificação de L-DOPA, DA e DOPAC

As amostras de plasma e estriado foram tratadas com ácido perclórico 0,1 M contendo 0,02% de metabissulfito de sódio e posteriormente sonicadas e centrifugadas a 16.000 x g por 10 min a 4°C (CASTRO, A. A. et al., 2012). Os metabólitos presentes no sobrenadante foram quantificados por cromatografia líquida de alta performance acoplada a detecção eletroquímica (HPLC; Alliance e2695, detector Waters 2465, Waters, Milford, USA). Vinte microlitros do sobrenadante foram injetados no sistema de HPLC. O sistema foi constituído por coluna C18 de fase reversa (15 cm x 4,6 mm e 5 µm de tamanho de partícula; Synergi Hydro, California, USA), com fase móvel conformada por fosfato de sódio 90 mM, ácido cítrico 50 mM, sódio 1-heptano sulfonato 1,7 mM, ácido etilenodiaminotetracético 50 µM, 10% de acetonitrila, pH 3,0, e fluxo de 0,25 mL/min. As concentrações de L-DOPA, DA e ácido 3,4- diidroxifenilacético (DOPAC) foram calculadas em ng/mg de proteína ou µmol/L.

5.7.2 Determinação da concentração de neopterinina

As concentrações de neopterinina plasmáticas foram realizadas por HPLC acoplada a detecção por fluorescência com comprimento de onda de excitação de 350 nm e emissão de 430 nm. As amostras foram tratadas com um volume de ácido tricloroacético 5%, sonicadas e centrifugadas a 16.000 x g por 15 min a 4°C. Vinte microlitros das amostras foram injetadas no sistema constituído com fase móvel composta por acetato de sódio 50 mM, ácido cítrico 5 mM, EDTA 48 µM e ditioeritritol 160 µM e fluxo de 0,5. Os resultados foram calculados em nmol/L (ORMAZABAL et al., 2005).

5.7.3 Dosagem de proteína

O conteúdo proteico das amostras foi mensurado empregando o método de Lowry (LOWRY et al., 1951), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

5.8 Parâmetro histológico

5.8.1 Morfologia mitocondrial por microscopia eletrônica

Após a perfusão dos animais com cloreto de sódio 0,9%, o músculo esquelético quadríceps e o estriado cerebral foram removidos e fixados imediatamente em solução Karnovsky conformada por formaldeído 4%, glutaraldeído 2% e tampão cacodilato 0,1M, pH 7,3. O material permaneceu nesta solução durante quatro horas a 4°C e posteriormente foi submetido a três lavagens de 30 minutos em água destilada. Em seguida as peças foram colocadas em tampão cacodilato contendo tetróxido de ósmio 1% por duas horas em um rotor em movimento a temperatura ambiente, e foram novamente lavadas em água destilada. O material foi posteriormente desidratado em concentrações crescentes de acetona (50 e 75% por 5min; 90% por 10min; e 3 x de 100% por 15min). Após foi realizada uma inclusão com araldita e acetona 100% (1:1) e deixado por 3 horas em um rotor em movimento a temperatura ambiente. Foi realizada uma pré-inclusão com araldita pura por 6 horas a temperatura ambiente e posteriormente as peças foram novamente incluídas em araldita e colocadas em estufa a 60°C por 48 horas (HERNANDEZ-FONSECA et al., 2009). Após,

foram realizados cortes semifinos (240-280 nm) para localização da área de interesse, e posteriormente foram realizados os cortes finos (90-120 nm), que foram cortados com uma navalha de diamante em um ultramicrotomo JEOL JUM-7 (*Nikon, Tóquio, Japão*). Os cortes finos foram contrastados com acetato de urânio e citrato de chumbo 1% por 1 min, para serem analisados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss Leo 906 E, equipado com câmera digital Megaview III (*Oberkochen, Alemanha*) do Centro de Microscopia Eletrônica da *Universidad Nacional de Córdoba*. Para contagem do conteúdo mitocondrial foram analisados 100 campos por animal.

6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM), a exceção do comportamento cataléptico que foi expresso em mediana \pm intervalo interquartil, e o teste de esforço máximo que foi expresso em percentual de animais por etapa da tarefa. A análise dos dados foi iniciada através da aplicação de procedimentos de estatística descritiva, incluindo medidas de tendência central e dispersão. A normalidade das diferentes variáveis contínuas foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk.

A análise inferencial da estatística foi realizada na maioria dos desenhos experimentais, através de análise de variância ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni, quando os valores de *F* foram significativos. No caso da análise das concentrações de dopamina e DOPAC utilizou-se o teste *t* de Student para comparar os animais tratados com reserpina com seus respectivos controles.

Para observar diferenças entre grupos no teste ergométrico utilizou-se o teste de Log-rank (Mantel-Cox). A diferença da severidade das posturas catalépticas foi avaliada pelo teste Kruskal-Wallis, com teste *pos hoc* de múltiplas comparações de Dunn. As diferenças entre grupos foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$ (IC=95%).

As análises estatísticas e gráficos foram realizados através do programa GraphPad Prisma 5®.

7. RESULTADOS

7.1 Efeito da atividade física voluntária e do tratamento farmacológico com L-DOPA, sobre a rigidez muscular induzida por administração de reserpina

O efeito da atividade física voluntária sobre a rigidez muscular em camundongos que receberam reserpina é mostrado nas figuras 5A e 5B. Pode ser observado que a atividade física atenuou a catalepsia induzida pela administração de reserpina. A figura também mostra que ao tratamento com L-DOPA/benserazida na dose de 100/50 mg/kg atenuou a severidade cataléptica de animais não exercitados que receberam reserpina (SRL100), a qual foi avaliada 30 [$F_{(6,74)}=16,6$; $P < 0,05$] (5A) e 60 [$F_{(6,66)}=22,8$; $P < 0,05$] (5B) minutos após a administração de L-DOPA/benserazida. Ainda a figura mostra que a atividade física *per se* ou em combinação com L-DOPA/benserazida 25 mg/kg (ERL25), atenuou o comportamento cataléptico induzido pela reserpina.

7.2 Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre a locomoção em animais que realizaram atividade física voluntária

A Figura 6A mostra a distância percorrida por animais que realizaram atividade física voluntária em roda de correr, durante 14 dias. Pode ser observado na figura, que a distância percorrida no primeiro dia foi de 1888 ± 281 metros/dia, e que esta aumentou significativamente para 3505 ± 345 metros/dia, ao longo do protocolo experimental. Pode ser observado também, que a após a primeira administração de reserpina houve uma diminuição significativa na atividade locomotora, efeito que foi mantido até o final do tratamento (grupo ER). Ainda, a figura mostra que a administração de L-DOPA/benserazida (grupos ERL25 e ERL100) não teve efeito na redução da atividade locomotora induzida por reserpina, apresentando também uma diminuição significativa quando comparado ao grupo controle (EC) [$F_{(3,6)}=11,39$; $P < 0,05$].

As Figuras 6B e 6C mostram a locomoção espontânea e o número de levantamentos, respectivamente, no teste comportamental de campo aberto ao final dos 14 dias do protocolo experimental II. De forma similar, a administração de reserpina provocou uma queda significativa na distância percorrida [$F_{(7,41)}=15,30$; $P < 0,05$] e no número de

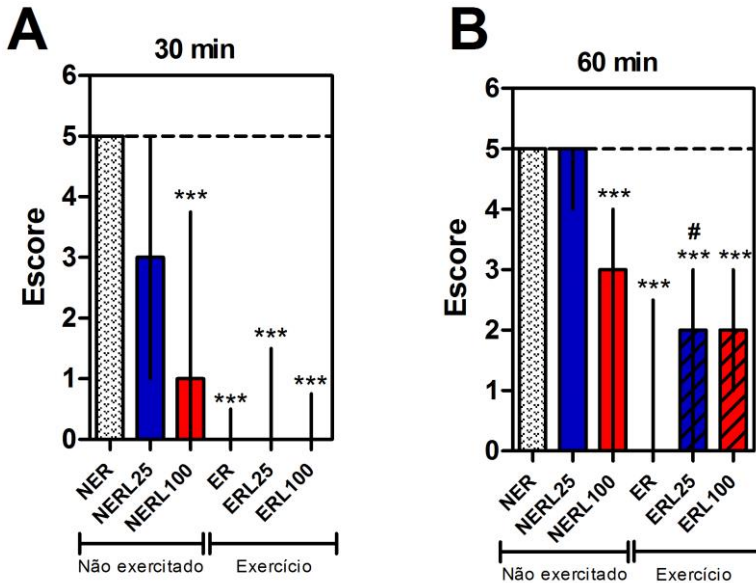


Figura 5: Efeito da atividade física voluntária e da administração da combinação de L-DOPA/benserazida, sobre a rigidez muscular induzida pela administração de reserpina em animais que permaneceram expostos a rodas de correr durante 14 dias. A reserpina (1 mg/kg) foi administrada intraperitonealmente (i.p.) nos dias 11° e 13°, e no dia 14° foi realizada uma única administração i.p. de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg ou 25/12,5 mg/kg), de acordo como descrito no Protocolo experimental I. A rigidez muscular foi avaliada através de um escore de catalepsia, após 30 (A) e 60 minutos (B) da última administração de L-DOPA/benserazida. Os dados representam a mediana \pm intervalo interquartil de 3 experimentos (6 a 15 animais por grupo). NER: não exercitado reserpina (1 mg/kg); NERL25: não exercitado reserpina + L-DOPA/benserazida (25/12,5 mg/kg); NERL100: não exercitado reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg); ER: exercício reserpina (1 mg/kg); ERL25: exercício reserpina + L-DOPA/benserazida (25/12,5 mg/kg); ERL100: exercício reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg). *** $P < 0,001$ vs. NER; # $P < 0,05$ vs. NERL25 em painel B (ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Bonferroni).

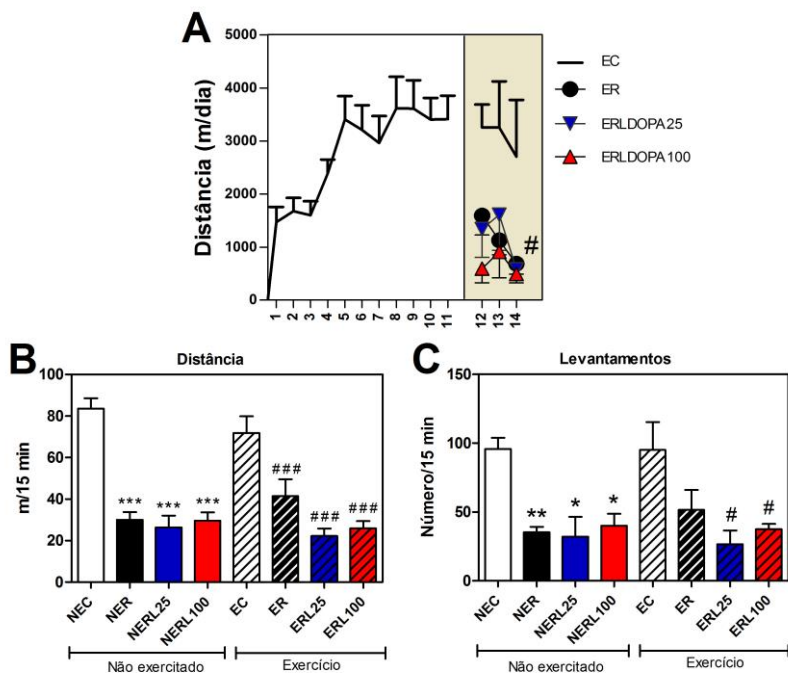


Figura 6: Efeito da administração de reserpina e/ou a combinação de L-DOPA/benserazida sobre a atividade locomotora, em animais que realizaram atividade física voluntária em roda de correr durante 14 dias. O painel A mostra a distância percorrida por dia na roda de correr, e os painéis B e C a distância percorrida e número de levantamentos no teste comportamental de campo aberto. A reserpina (1 mg/kg) foi administrada intraperitonealmente (i.p.) nos dias 11° e 13°, e durante os dias 11° ao 14° foram administradas seis doses i.p. de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg ou 25/12,5 mg/kg), de acordo como descrito no Protocolo experimental II. Os dados representam a média \pm EPM de três experimentos (6 a 10 animais por grupo). NEC: não exercitado controle; NER: não exercitado reserpina (1 mg/kg); NERL25: não exercitado reserpina + L-DOPA/benserazida (25/12,5 mg/kg); NERL100: não exercitado reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg); EC: exercício controle; ER: exercício reserpina (1 mg/kg); ERL25: exercício reserpina + L-DOPA/benserazida (25/12,5 mg/kg); ERL100: exercício reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ vs. NEC. # $P < 0,05$, ### $P < 0,001$ vs. EC (ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Bonferroni).

levantamentos [$F_{(7,43)}=5,30$; $P < 0,05$]. No entanto, a redução nos levantamentos foi parcialmente prevenida no grupo ER. O tratamento farmacológico posterior com L-DOPA/benserazida (grupos NERL25, NERL100, ERL25 e ERL100) não alterou o efeito induzido pela reserpina.

7.3 Efeito da administração de reserpina e/ou L-DOPA, sobre o desempenho físico em animais submetidos a um teste de esforço máximo em esteira

A Figura 7A mostra o desempenho físico dos animais submetidos a um teste de incremental em esteira ergométrica, avaliada através da porcentagem de sucesso de cada grupo em finalizar o teste. Pode ser observado na figura que a administração de reserpina provocou uma redução na capacidade física em completar o teste de esforço, tendo atingido o estado de exaustão ou fadiga muscular na velocidade de aproximadamente 30 m/min (grupo R), enquanto os animais controles (grupo C) permaneceram até aproximadamente 40 m/min, que acreditamos responder à velocidade máxima imposta pelas próprias limitações biomecânicas do animal. Pode ser também observado que a administração de L-DOPA/benserazida na dose de 100/50 mg/kg, melhorou o efeito induzido pela reserpina na primeira metade do teste (50 % de sucesso). Efeitos similares foram observados na estimativa de trabalho [$F_{(3,60)}=70,8$; $P < 0,05$] (Figura 7C). Ainda, pode ser observado que a maioria dos animais controle (grupo C) permaneceu em aproximadamente 25% a 75% do trabalho durante todo o teste de esforço, enquanto que a maioria dos animais que receberam reserpina (grupo R) excepcionalmente ultrapassaram o 25% do trabalho. Adicionalmente, a Figura 7D mostra que as concentrações de lactato foram significativamente menores nos animais do grupo que recebeu exclusivamente reserpina (grupo R) [$F_{(3,54)}=2,6$; $P < 0,05$], concordando com a menor capacidade física destes animais em suportar exercício de alta intensidade (Figuras 7A e 7C). Finalmente, na figura pode ser observado que a massa corporal dos animais não foi alterada durante o teste (Figura 7B).

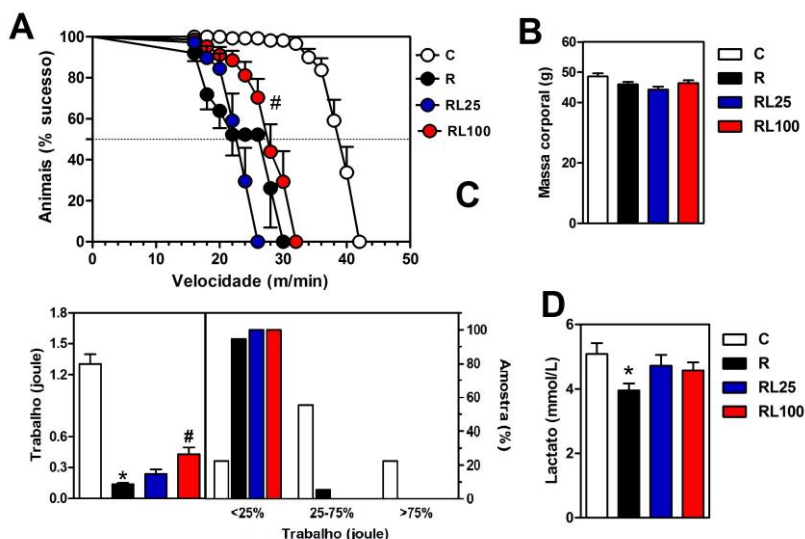


Figura 7: Efeito da administração de reserpina e/ou a combinação de L-DOPA/benserazida sobre o desempenho (A), massa corporal (B), trabalho (C) e concentrações de lactato sanguíneas (D), em animais submetidos a um teste de esforço máximo em esteira. O desempenho foi avaliado através da porcentagem de sucesso de cada grupo experimental (número de animais) em finalizar o teste de esforço. A reserpina (1 mg/kg) foi administrada intraperitonealmente (i.p.) nos dias 5º e 7º, e no dia 8º foi realizada uma única administração i.p. de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg ou 25/12,5 mg/kg), de acordo como descrito no Protocolo experimental III. Os dados representam a média \pm EPM de 2 experimentos (15 animais por grupo). C: controle; R: reserpina (1 mg/kg); RL25: reserpina + L-DOPA/benserazida (25/12,5 mg/kg); RL100: reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg). Painel A: # $P < 0,05$ vs. C (teste de sobrevivência); Painel C: * $P < 0,001$ vs. C; # $P < 0,05$ vs. R; Painel D: * $P < 0,05$ vs. C (ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Bonferroni).

7.4 Efeito da administração de L-DOPA sobre as concentrações estriatais de dopamina e DOPAC e de neopterina plasmática em animais que receberam reserpina e realizaram atividade física voluntária

As Figuras 8A e 8B mostram o efeito da administração de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg) nas concentrações estriatais de DA e de seu metabólico DOPAC em animais que receberam reserpina e que realizaram atividade física voluntária. Pode ser observado na Figura 8A que a administração de reserpina diminuiu as concentrações de DA em animais não exercitados ($P < 0,05$) e exercitados ($P < 0,001$). Ainda na Figura 8A pode ser observado que o tratamento com L-DOPA/benserazida restituiu as concentrações de DA, e ainda foram duplicados os valores encontrados no estriado de animais controles não exercitados [$F_{(5,23)}=6,15$; $P < 0,001$].

De forma similar, na Figura 8B as concentrações no estriado do DOPAC foram diminuídas em animais não exercitados ($P < 0,001$) quando administrada a reserpina. A figura também mostra que com a administração de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg) as concentrações do metabólico foram aumentadas [$F_{(5,24)}=5,24$; $P < 0,01$]. Ainda, com o intuito de corroborar o efeito periférico da benserazida; fármaco sem capacidade de atravessar a barreira hemato-encefálica e inibidor da enzima dopa descarboxilase, também analisamos as concentrações de DA plasmática. No entanto, sua presença não foi detectável em nenhum dos grupos experimentais (dados não mostrados).

Por outro lado, a Figura 8C mostra as concentrações de neopterina plasmática nos animais onde foram determinadas as concentrações dos metabólitos acima citados. Pode ser observado na figura que os tratamentos não modificaram os valores desta pteridina na periferia.

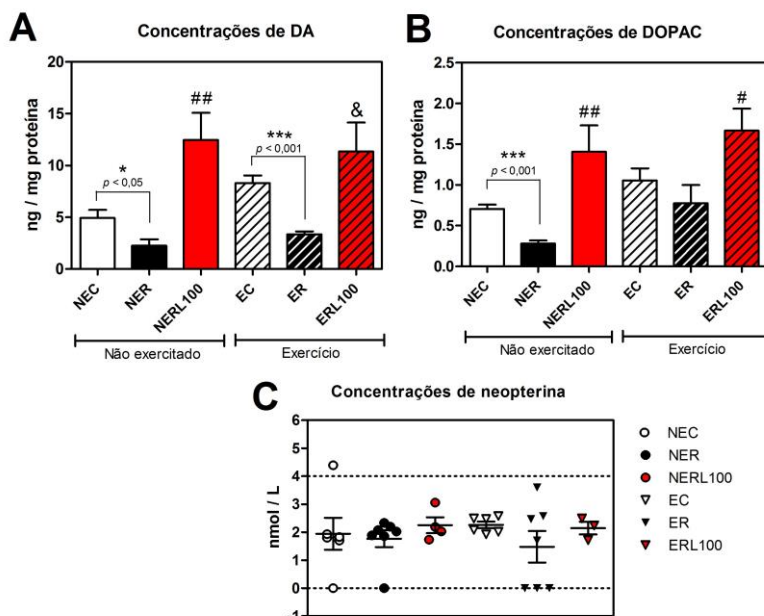


Figura 8: Efeito da administração de reserpina e/ou a combinação de L-DOPA/benserazida e da atividade física voluntária nas concentrações estriatais de DA (A), DOPAC (B) e de neopterina plasmática (C). A reserpina (1 mg/kg) foi administrada intraperitonealmente (i.p.) nos dias 11^o e 13^o, e durante os dias 11^o ao 14^o foram administradas seis doses i.p. de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg ou 25/12,5 mg/kg), de acordo como descrito no Protocolo experimental II. Os animais realizaram atividade física voluntária durante 14 dias. Os dados representam a média \pm EPM de 3 experimentos (5 animais por grupo). NEC: não exercitado controle; NER: não exercitado reserpina (1 mg/kg); NERL100: não exercitado reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg); EC: exercício controle; ER: exercício reserpina (1 mg/kg); ERL100: exercício reserpina + L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg). Painel A: * $P < 0,05$, NER vs. NEC; *** $P < 0,001$, ER vs. EC (teste *t* de Student); ## $P < 0,01$ vs. NER; & $P < 0,05$ vs. ER (ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Bonferroni). Painel B: *** $P < 0,001$, NER vs. NEC (teste *t* de Student); # $P < 0,05$ vs. ER, ## $P < 0,01$ vs. NER (ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Bonferroni).

7.5 Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre o conteúdo e morfologia mitocondrial em músculo esquelético (quadríceps) de animais submetidos a atividade física voluntária em roda de correr

A Figura 9 mostra a arquitetura do músculo esquelético quadríceps, onde são ressaltados a unidade funcional sarcômero, o conteúdo e morfologia mitocondrial, e depósitos de lipídeos em animais submetidos ao Protocolo experimental II. As figuras 9B, 9D e 9F mostram que os depósitos de lipídeos foram reduzidos e o conteúdo mitocondrial aumentou nas fibras musculares dos animais exercitados, quando comparados aos seus respectivos controles.

7.6 Efeito da administração de reserpina e de L-DOPA sobre o conteúdo e morfologia mitocondrial em estriado de animais submetidos à atividade física voluntária em roda de correr

A Figura 10 mostra o conteúdo e morfologia mitocondrial em estriado de animais submetidos a atividade física voluntária em rodas de correr durante 14 dias. A Figura 10B mostra um aumento no conteúdo mitocondrial em animais que realizaram atividade física. Este efeito foi mantido nos animais que, além de realizar atividade física voluntária, também receberam reserpina e/ou L-DOPA/benserazida (Figuras 10E-F).

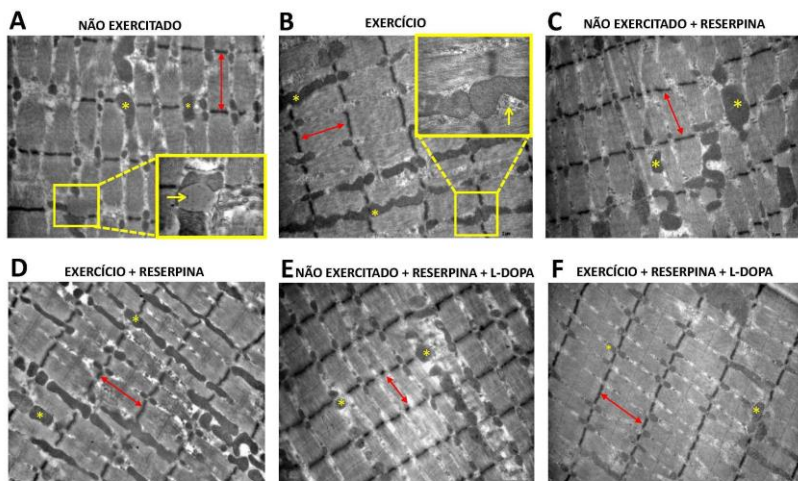


Figura 9: Efeito da administração de reserpina e/ou a combinação de L-DOPA/benserazida sobre a morfologia e conteúdo mitocondrial quadríceps de animais que foram submetidos a atividade física voluntária durante 14 dias em roda de correr. A reserpina (1 mg/kg) foi administrada intraperitonealmente (i.p.) nos dias 11^o e 13^o, e durante os dias 11^o ao 14^o foram administradas seis doses i.p. de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg ou 25/12,5 mg/kg), de acordo como descrito no Protocolo experimental II. As setas em vermelho indicam a unidade funcional sarcômero, os asteriscos em amarelo as mitocôndrias. A magnificação indicada nas figuras A e B mostram depósitos de lipídeos (setas em amarelo) e glicogênio (setas em verde), respectivamente.

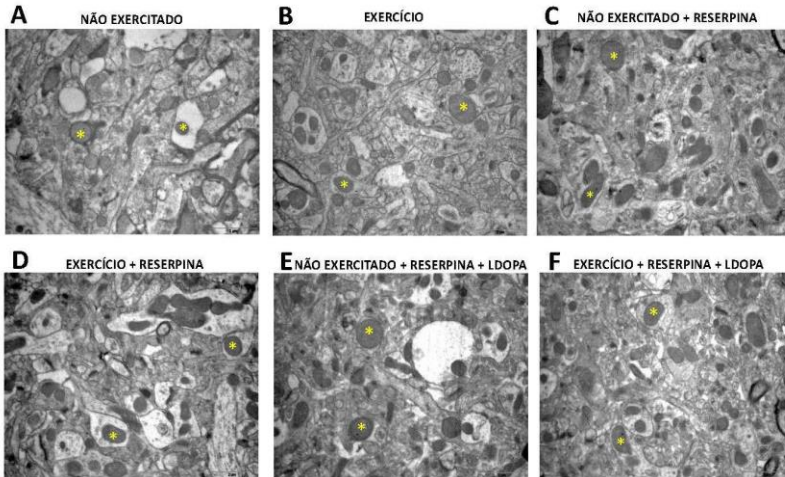


Figura 10: Efeito da administração de reserpina e/ou a combinação de L-DOPA/benserazida sobre a morfologia e conteúdo mitocondrial estriatal de animais que foram submetidos a atividade física voluntária durante 14 dias em roda de correr. A reserpina (1mg/kg) foi administrada intraperitonealmente (i.p.) nos dias 11° e 13°, e durante os dias 11° ao 14° foram administradas seis doses i.p. de L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg ou 25/12,5 mg/kg), de acordo como descrito no Protocolo experimental II. Os asteriscos em amarelo indicam mitocôndrias.

8. DISCUSSÃO

A doença de Parkinson (DP) é a doença neurodegenerativa motora mais prevalente na população, com maior incidência nos idosos (DE LAU; BRETELER, 2006). No momento do diagnóstico clínico da DP, quatro sinais motores se destacam a avaliação neurológica: tremor, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural (ALVES et al., 2008; DE LAU; BRETELER, 2006; FABBRINI et al., 2012). Além destes sintomas motores, existe um amplo espectro de sintomas não-motores, incluindo depressão, dor, fadiga e distúrbios do sono REM (AARSLAND et al., 2012; FABBRINI et al., 2012; FRIEDMAN, 2009). Em destaque, queixa de fadiga apresenta prevalência de dois terços dos pacientes e influencia negativamente a qualidade de vida e independência funcional dos pacientes. Este sintoma é caracterizado por uma sensação de cansaço, falta de energia ou sentimento de exaustão (BOREK et al., 2006; FRIEDMAN et al., 2007; GARBER; FRIEDMAN, 2003), como uma barreira para a realização de atividades envolvendo esforço físico, favorecendo dessa forma a adoção de um estilo de vida sedentário (FRIEDMAN, 2009; GARBER; FRIEDMAN, 2003; SPEELMAN et al., 2011). Garber e Friedman (2003) relataram que os maiores índices de fadiga em paciente com DP também estão associados a (i) redução na atividade física recreacional; (ii) pior desempenho em exercícios vigorosos; (iii) e menor mobilidade ativa durante as tarefas de vida diária, profissional e lazer. Nos testes de caminhada de 6 min de duração, e teste “*Up and Go*” (levantar, percorrer 3 metros e retornar a cadeira), estes pacientes com DP apresentam claramente um menor desempenho (GARBER; FRIEDMAN, 2003).

Apesar da alta prevalência de fadiga nos pacientes afetados pela DP (40-60%), a detecção diagnóstica deste sintoma é difícil, sendo diagnosticada apenas em 25% dos casos pelos neurologistas, ou seja, uma acurácia de 25% (CHAUDHURI, K. R.; HEALY; SCHAPIRA, 2006; SHULMAN et al., 2002). Os métodos empregados para o estudo específico da fadiga em pacientes com DP geralmente são questionários baseados na história dos sintomas, sensível à viés de memória declarativa, progressivamente prejudicada nos pacientes também acometidos por demência da DP (CHAUDHURI, K. R. et al., 2006; SHULMAN et al., 2002).

Neste trabalho, empregamos um modelo experimental para estudar os mecanismos envolvidos na fadiga da DP, caracterizado pelos prejuízos motores induzidos pelo tratamento com reserpina na atividade

física voluntária de camundongos em roda de correr. Nossos resultados demonstraram que o protocolo de atividade física voluntária de 14 dias, foi caracterizado pelo aumento progressivo do volume de atividade realizado por dia (ALLEN et al., 2001; IKEDA et al., 2006; LAU et al., 2011; ROWE et al., 2012). Entretanto, o tratamento com reserpina (2×1 mg/kg, i.p.) em camundongos Suíços reduziu a atividade física voluntária, evidenciada por uma queda no volume diário de atividade realizada na roda de correr, e pela redução do deslocamento e levantamentos na tarefa de campo aberto. Estes prejuízos locomotores estão de acordo com resultados prévios do nosso grupo de pesquisa e de outros laboratórios (AGUIAR, A. S., JR. et al., 2009; CASTRO, J. P. et al., 2006; DUTRA et al., 2002). Em tratamento semelhante, Dutra e colaboradores (2002) também relataram alterações motoras como rigidez muscular observada através de postura cataléptica e menor desempenho locomotor no campo aberto. Além disso, nós também verificamos um declínio na capacidade de sustentar a intensidade exigida durante o teste incremental de exercício, onde uma grande demanda de energia é exigida. Logo, esta dissertação sugere que a fadiga não pode ser excluída dos mecanismos envolvidos nos fenômenos clínicos da DP (motores e não motores).

Ranieri e colaboradores (2012) associam fadiga central a uma falha de neurotransmissão dopaminérgica nos núcleos da base. Isto pode explicar a baixa taxa de sucesso, e baixo trabalho, do teste de esforço incremental nos animais tratados com reserpina, que apresentaram valores inferiores a 25% da estimativa do trabalho desenvolvida pelos animais controle. Visto que a reserpina provoca uma depleção de dopamina nos núcleos da base, nossos resultados corroboram o de Lou e colaboradores (2003), assim, um prejuízo da neurotransmissão dopaminérgica pode reduzir a estimulação do córtex motor e recrutamento muscular insuficiente para a demanda mecânica, que por sua vez, pode influenciar na capacidade de realizar exercício físico (CHAUDHURI, A.; BEHAN, 2000;2004; STENMAN; LILJA, 2013). A hipótese de fadiga central é reforçada pelas baixas concentrações de lactato sanguíneo observado ao final do teste incremental, o que representa uma menor ativação da via glicolítica muscular. Em repouso a concentração de lactato é relativamente baixa (aproximadamente 1 mmol/L); porém, com o aumento na intensidade do exercício, a taxa de glicólise se eleva produzindo ácido láctico, que imediatamente dissocia em lactato e prótons (BOGDANIS, 2012). Ou seja, parece que ambos os tipos de fadiga ocorrem no modelo experimental de DP utilizado, fadiga

central (depleção dopaminérgica) e periférica (recrutamento muscular insuficiente).

A reserpina também foi escolhida para esta dissertação, pois é um modelo experimental com boa predição clínica, ou seja, com boa resposta sintomática ao principal fármaco antiparkinsoniano, a L-DOPA, para restituir as concentrações centrais de DA, como observado em nossos resultados. Até então, este é o primeiro trabalho experimental que investigou o papel da L-DOPA/benserazida em animais com sinais de fadiga. A dose de L-DOPA/benserazida foi baseada em duas combinações de L-DOPA/benserazida, 25/12,5 e 100/50 mg/kg, encontradas na literatura (BAMFORD et al., 2004; KAUR; STARR, 1995; SINGH; KULKARNI, 2002) e confirmadas em nosso laboratório através de estudos piloto. Neste contexto, a dose de 100/50 mg/kg foi selecionada pois os animais apresentaram reversão da catalepsia induzida pela reserpina, e também efeitos anti-fadiga ao teste de esteira incremental. Nós descartamos efeitos locomotores da L-DOPA/benserazida (100/50 mg/kg) neste efeito-anti-fadiga, pois esta dose não reverteu o prejuízo de distância percorrida no campo aberto. Ou seja, nós sugerimos que os efeitos anti-fadiga da L-DOPA/benserazida também envolvem ativação de outros centros superiores além dos motores, como, por exemplo, áreas envolvidas na motivação, como o córtex pré-frontal. Embora a associação de atividade física e tratamento farmacológico em pacientes com DP seja escassa na literatura, nossos resultados corroboram com alguns trabalhos clínicos demonstrando que a L-DOPA é mais eficiente que o placebo na redução da fadiga de pacientes com DP (LOU; BENICE; et al., 2003; LOU; KEARNS; et al., 2003; SCHIFITTO et al., 2008).

Entretanto, mesmo a dose de 100/50 mg/kg de L-DOPA/benserazida não reverteu o prejuízo causado pela reserpina na locomoção voluntária nas rodas de correr. Porém, este resultado pode ser interpretado como uma limitação do estudo, haja visto que o equipamento utilizado foi um protótipo artesanal, onde as variáveis de exercício eram coletadas manualmente a cada 24h, com possível diluição dos efeitos transientes (cinética 180 min) da L-DOPA/benserazida. Interessantemente, a dose sub-efetiva de L-DOPA/benserazida 25/12,5 mg/kg mostrou eficiência anticataléptica apenas nos animais que realizaram atividade física voluntária durante 14 dias. Este sinergismo motor do exercício e L-DOPA/benserazida, que não é objetivo principal desta dissertação, também foi descrito anteriormente (AGUIAR, A.; LATINI; AL., 2012; FREDRIKSSON et al., 2011). Outro aspecto importante sobre a fadiga é a íntima relação

com a depressão e sua hipótese monoaminérgica (FOLEY; FLESHNER, 2008; SHULMAN et al., 2002; STENMAN; LILJA, 2013), pois a reserpina, um bloqueador do transportador vesicular de monoaminas, pode também causar depleção central de noradrenalina e serotonina. Neste contexto, deve ser salientado que depressão é outro sintoma não motor associado à DP, que não pode ser dissociada do sintoma de fadiga, também em pacientes com DP (GARBER; FRIEDMAN, 2003).

Finalmente, a fadiga também poderia estar relacionada com um processo inflamatório crônico periférico, como tem sido previamente demonstrado por um aumento nas concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios em pacientes com DP (FUJISHIRO et al., 1990; WIDNER et al., 2002). No entanto, aqui não observamos diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de neopterin, um marcador muito sensível da ativação do sistema imune (FUCHS et al., 2009; WIDNER et al., 2002). Contudo, a participação do processo inflamatório no desenvolvimento de fadiga não pode ser completamente excluído. Considerando estudos prévios que demonstram aumento de citocinas pró-inflamatórias no líquido cefalorraquidiano, bem como, ativação glial em tecido *post-mortem* de pacientes com DP (BROCHARD et al., 2009; WIDNER et al., 2002), estudos adicionais são necessários para identificar se neuroinflamação (inflamação central) predispõe à fadiga na DP.

9. CONCLUSÃO

Esta dissertação sugere que os mecanismos moleculares envolvidos com a fadiga, um sintoma não motor prevalente em pacientes com DP, e que compromete a qualidade de vida destes sujeitos, também envolvem a depleção de dopamina característica do estriado na DP, responsável pelos sintomas motores.

Em conjunto, nossos experimentos evidenciaram que a fadiga em animais induzidos a DP possa ser a consequência de um envolvimento da deficiência dopaminérgica na atividade locomotora, e que a atividade física pode potencializar os benefícios apresentados pelo tratamento anticonvulsivo com L-DOPA/benserazida.

Estes resultados, embora preliminares, acusam uma nova fronteira para as ciências do exercício físico, onde a frequente interação exercício e farmacoterapia, pouco explorada, possa ser melhor compreendida e até mesmo aproveitada pela comunidade clínica e pacientes.

10. PERSPECTIVAS

- Aprofundar os estudos de metabolismo energético periférico e central, mediante a análise de um maior número amostral para quantificação do conteúdo e fisiologia mitocondrial em quadríceps e estriado;
- Utilizar drogas serotoninérgicas para identificação do envolvimento deste sistema no desenvolvimento de fadiga, assim como a relação de depressão e fadiga;
- Aprofundar nos estudos de inflamação e desenvolvimento de fadiga na DP.

REFERÊNCIAS

AARSLAND, D. et al. Depression in Parkinson disease--epidemiology, mechanisms and management. **Nat Rev Neurol**, v. 8, n. 1, p. 35-47, Jan 2012. ISSN 1759-4766 (Electronic) 1759-4758 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22198405> >.

ABOU-SLEIMAN, P. M.; MUQIT, M. M.; WOOD, N. W. Expanding insights of mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 3, p. 207-19, Mar 2006. ISSN 1471-003X (Print) 1471-003X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16495942> >.

AGUIAR, A.; LATINI, A.; AL., E. Running wheel prevents the development of L-DOPA-induced dyskinesias and abnormal striatal DARPP-32 signaling in 6-OHDA-hemiparkinsonian mice. **Movement Disorders** v. 27, p. S473-S474., 2012.

AGUIAR, A. S., JR. et al. Physical exercise improves motor and short-term social memory deficits in reserpinized rats. **Brain Res Bull**, v. 79, n. 6, p. 452-7, Aug 14 2009. ISSN 1873-2747 (Electronic) 0361-9230 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19463920> >.

ALLEN, D. L. et al. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. **J Appl Physiol**, v. 90, n. 5, p. 1900-8, May 2001. ISSN 8750-7587 (Print) 0161-7567 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11299284> >.

ALVES, G. et al. Epidemiology of Parkinson's disease. **J Neurol**, v. 255 Suppl 5, p. 18-32, Sep 2008. ISSN 0340-5354 (Print)

0340-5354 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18787879> >.

ANTONINI, A. et al. The metabolic anatomy of tremor in Parkinson's disease. **Neurology**, v. 51, n. 3, p. 803-10, Sep 1998. ISSN 0028-3878 (Print)

0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9748030> >.

ARCHER, T.; FREDRIKSSON, A.; JOHANSSON, B. Exercise alleviates Parkinsonism: clinical and laboratory evidence. **Acta Neurol Scand**, v. 123, n. 2, p. 73-84, Feb 2011. ISSN 1600-0404 (Electronic)

0001-6314 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21108623> >.

BAMFORD, N. S. et al. Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. **J Neurosci**, v. 24, n. 43, p. 9541-52, Oct 27 2004. ISSN 1529-2401 (Electronic)

0270-6474 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15509741> >.

BARBOSA, M. T. et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in Brazil (the Bambui study). **Mov Disord**, v. 21, n. 6, p. 800-8, Jun 2006. ISSN 0885-3185 (Print)

0885-3185 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16482566> >.

BASSO, D. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field

testing in rats. **J Neurotrauma**, v. 12, n. 1, p. 1-21, Feb 1995. ISSN 0897-7151 (Print)
0897-7151 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7783230> >.

BEAULIEU, J. M.; GAINETDINOV, R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacol Rev**, v. 63, n. 1, p. 182-217, Mar 2011. ISSN 1521-0081 (Electronic)
0031-6997 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21303898> >.

BERARDELLI, A. et al. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. **Brain**, v. 124, n. Pt 11, p. 2131-46, Nov 2001. ISSN 0006-8950 (Print)
0006-8950 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11673316> >.

BERNHEIMER, H. et al. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. **J Neurol Sci**, v. 20, n. 4, p. 415-55, Dec 1973. ISSN 0022-510X (Print)
0022-510X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4272516> >.

BLUMENTHAL, J. A. et al. Psychological changes accompany aerobic exercise in healthy middle-aged adults. **Psychosom Med**, v. 44, n. 6, p. 529-36, Dec 1982. ISSN 0033-3174 (Print)
0033-3174 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7163456> >.

BOGDANIS, G. C. Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue. **Front Physiol**, v. 3, p. 142, 2012. ISSN 1664-042X (Electronic)

1664-042X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22629249>>.

BOREK, L. L.; AMICK, M. M.; FRIEDMAN, J. H. Non-motor aspects of Parkinson's disease. **CNS Spectr**, v. 11, n. 7, p. 541-54, Jul 2006. ISSN 1092-8529 (Print) 1092-8529 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16816793>>.

BROCHARD, V. et al. Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. **J Clin Invest**, v. 119, n. 1, p. 182-92, Jan 2009. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19104149>>.

BRONSTEIN, J. M.; DESALLES, A.; DELONG, M. R. Stereotactic pallidotomy in the treatment of Parkinson disease: an expert opinion. **Arch Neurol**, v. 56, n. 9, p. 1064-9, Sep 1999. ISSN 0003-9942 (Print) 0003-9942 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10488806>>.

BURCH, D.; SHEERIN, F. Parkinson's disease. **Lancet**, v. 365, n. 9459, p. 622-7, Feb 12-18 2005. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15708109>>.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M.; MAGNUSSON, T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. **Nature**, v. 180, n. 4596, p. 1200, Nov 30 1957. ISSN 0028-0836 (Print) 0028-0836 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13483658>>.

CARTER, J. H.; NUTT, J. G.; WOODWARD, W. R. The effect of exercise on levodopa absorption. **Neurology**, v. 42, n. 10, p. 2042-5, Oct 1992. ISSN 0028-3878 (Print) 0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1407589> >.

CASTRO, A. A. et al. Lithium and valproate prevent olfactory discrimination and short-term memory impairments in the intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) rat model of Parkinson's disease. **Behav Brain Res**, v. 229, n. 1, p. 208-15, Apr 1 2012. ISSN 1872-7549 (Electronic) 0166-4328 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22266923> >.

CASTRO, J. P. et al. Effects of baclofen on reserpine-induced vacuous chewing movements in mice. **Brain Res Bull**, v. 68, n. 6, p. 436-41, Feb 15 2006. ISSN 0361-9230 (Print) 0361-9230 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16459199> >.

CHAUDHURI, A.; BEHAN, P. O. Fatigue and basal ganglia. **J Neurol Sci**, v. 179, n. S 1-2, p. 34-42, Oct 1 2000. ISSN 0022-510X (Print) 0022-510X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11054483> >.

_____. Fatigue in neurological disorders. **Lancet**, v. 363, n. 9413, p. 978-88, Mar 20 2004. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15043967> >.

CHAUDHURI, K. R.; HEALY, D. G.; SCHAPIRA, A. H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and

management. **Lancet Neurol**, v. 5, n. 3, p. 235-45, Mar 2006. ISSN 1474-4422 (Print)
1474-4422 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16488379> >.

CHAUDHURI, K. R.; NAIDU, Y. Early Parkinson's disease and non-motor issues. **J Neurol**, v. 255 Suppl 5, p. 33-8, Sep 2008. ISSN 0340-5354 (Print)
0340-5354 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18787880> >.

CHAUDHURI, K. R. et al. Parkinson's disease: the non-motor issues. **Parkinsonism Relat Disord**, v. 17, n. 10, p. 717-23, Dec 2011. ISSN 1873-5126 (Electronic)
1353-8020 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21741874> >.

CHEN, R.; FURMAN, C. A.; GNEGY, M. E. Dopamine transporter trafficking: rapid response on demand. **Future Neurol**, v. 5, n. 1, p. 123, Jan 1 2010. ISSN 1748-6971 (Electronic)
1479-6708 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20174452> >.

DAVIS, J. M. et al. Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 296, n. 4, p. R1071-7, Apr 2009. ISSN 0363-6119 (Print)
0363-6119 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19211721> >.

DAVIS, J. M. et al. Immune system activation and fatigue during treadmill running: role of interferon. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 6, p. 863-8, Jun 1998. ISSN 0195-9131 (Print)

0195-9131 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9624644> >.

DE LAU, L. M.; BRETELER, M. M. Epidemiology of Parkinson's disease. **Lancet Neurol**, v. 5, n. 6, p. 525-35, Jun 2006. ISSN 1474-4422 (Print) 1474-4422 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16713924> >.

DODEL, R. C. et al. Costs of drug treatment in Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 13, n. 2, p. 249-54, Mar 1998. ISSN 0885-3185 (Print) 0885-3185 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9539337> >.

DRECHSEL, D. A.; PATEL, M. Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. **Free Radic Biol Med**, v. 44, n. 11, p. 1873-86, Jun 1 2008. ISSN 0891-5849 (Print) 0891-5849 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18342017> >.

DUTRA, R. C. et al. Behavioral effects of MK-801 on reserpine-treated mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 26, n. 3, p. 487-95, Apr 2002. ISSN 0278-5846 (Print) 0278-5846 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11999899> >.

DUTY, S.; JENNER, P. Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. **Br J Pharmacol**, v. 164, n. 4, p. 1357-91, Oct 2011. ISSN 1476-5381 (Electronic) 0007-1188 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21486284> >.

DUVOISIN, R. C.; MARSDEN, C. D. Reversal of reserpine-induced bradykinesia by alpha-methyl dopa--new light on its modus operandi. **Brain Res**, v. 71, n. 1, p. 178-82, May 10 1974. ISSN 0006-8993 (Print)
0006-8993 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4821419> >.

FABBRINI, G. et al. Fatigue in Parkinson's disease: Motor or non-motor symptom? **Parkinsonism Relat Disord**, Oct 26 2012. ISSN 1873-5126 (Electronic)
1353-8020 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23107555> >.

FINDLEY, L. et al. Direct economic impact of Parkinson's disease: a research survey in the United Kingdom. **Mov Disord**, v. 18, n. 10, p. 1139-45, Oct 2003. ISSN 0885-3185 (Print)
0885-3185 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14534917> >.

FOLEY, T. E.; FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. **Neuromolecular Med**, v. 10, n. 2, p. 67-80, 2008. ISSN 1535-1084 (Print)
1535-1084 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18274707> >.

FREDRIKSSON, A. et al. Running wheel activity restores MPTP-induced functional deficits. **J Neural Transm**, v. 118, n. 3, p. 407-20, Mar 2011. ISSN 1435-1463 (Electronic)
0300-9564 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20852902> >.

FRIEDMAN, J. H. Fatigue in Parkinson's disease patients. **Curr Treat Options Neurol**, v. 11, n. 3, p. 186-90, May 2009. ISSN 1092-8480 (Print) 1092-8480 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19364453> >.

FRIEDMAN, J. H.; ABRANTES, A.; SWEET, L. H. Fatigue in Parkinson's disease. **Expert Opin Pharmacother**, v. 12, n. 13, p. 1999-2007, Sep 2011. ISSN 1744-7666 (Electronic) 1465-6566 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21635199> >.

FRIEDMAN, J. H. et al. Fatigue in Parkinson's disease: a review. **Mov Disord**, v. 22, n. 3, p. 297-308, Feb 15 2007. ISSN 0885-3185 (Print) 0885-3185 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17133511> >.

FUCHS, D. et al. The role of neopterin in atherogenesis and cardiovascular risk assessment. **Curr Med Chem**, v. 16, n. 35, p. 4644-53, 2009. ISSN 1875-533X (Electronic) 0929-8673 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19903144> >.

FUJISHIRO, K. et al. Concentrations of neopterin and biopterin in the cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. **Biochem Med Metab Biol**, v. 44, n. 2, p. 97-100, Oct 1990. ISSN 0885-4505 (Print) 0885-4505 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2252621> >.

GAINES, K. D.; HINSON, V. K. Adjunctive therapy in Parkinson's disease: the role of rasagiline. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 8, p. 285-94, 2012. ISSN 1178-2021 (Electronic)

1176-6328 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22802692>>.

GARBER, C. E.; FRIEDMAN, J. H. Effects of fatigue on physical activity and function in patients with Parkinson's disease. **Neurology**, v. 60, n. 7, p. 1119-24, Apr 8 2003. ISSN 1526-632X (Electronic)

0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12682317>>.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. Atlas. São Paulo: 2010.

GOETZ, C. G. The history of Parkinson's disease: early clinical descriptions and neurological therapies. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 1, n. 1, p. a008862, Sep 2011. ISSN 2157-1422 (Electronic). Disponível em: <

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22229124>>.

GOETZ, C. G. et al. Blood levodopa levels and unified Parkinson's disease rating scale function: with and without exercise. **Neurology**, v. 43, n. 5, p. 1040-2, May 1993. ISSN 0028-3878 (Print)

0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8492923>>.

GREEN, S. Measurement of anaerobic work capacities in humans. **Sports Med**, v. 19, n. 1, p. 32-42, Jan 1995. ISSN 0112-1642 (Print)

0112-1642 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7740245>>.

GU, M. et al. Mitochondrial DNA transmission of the mitochondrial defect in Parkinson's disease. **Ann Neurol**, v. 44, n. 2, p. 177-86, Aug 1998. ISSN 0364-5134 (Print)

0364-5134 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9708539>>.

GUINEY, H.; MACHADO, L. Benefits of regular aerobic exercise for executive functioning in healthy populations. **Psychon Bull Rev**, v. 20, n. 1, p. 73-86, Feb 2013. ISSN 1531-5320 (Electronic)
1069-9384 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23229442>>.

GUSTAVSSON, A. et al. Cost of disorders of the brain in Europe 2010. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 21, n. 10, p. 718-79, Oct 2011. ISSN 1873-7862 (Electronic)
0924-977X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21924589>>.

HANDSCHIN, C.; SPIEGELMAN, B. M. The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 463-9, Jul 24 2008. ISSN 1476-4687 (Electronic)
0028-0836 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18650917>>.

HASTINGS, T. G. The role of dopamine oxidation in mitochondrial dysfunction: implications for Parkinson's disease. **J Bioenerg Biomembr**, v. 41, n. 6, p. 469-72, Dec 2009. ISSN 1573-6881 (Electronic)
0145-479X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19967436>>.

HERLOFSON, K.; LARSEN, J. P. The influence of fatigue on health-related quality of life in patients with Parkinson's disease. **Acta Neurol Scand**, v. 107, n. 1, p. 1-6, Jan 2003. ISSN 0001-6314 (Print)

0001-6314 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12542506>>.

HERNANDEZ-FONSECA, J. P. et al. Structural and ultrastructural analysis of cerebral cortex, cerebellum, and hypothalamus from diabetic rats. **Exp Diabetes Res**, v. 2009, p. 329632, 2009. ISSN 1687-5303 (Electronic) 1687-5214 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19812703>>.

HOEHN, M. M.; YAHR, M. D. Parkinsonism: onset, progression and mortality. **Neurology**, v. 17, n. 5, p. 427-42, May 1967. ISSN 0028-3878 (Print) 0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6067254>>.

HOFF, J. I. et al. Fatigue in Parkinson's disease is not associated with reduced physical activity. **Parkinsonism Relat Disord**, v. 3, n. 1, p. 51-4, Jan 1997. ISSN 1353-8020 (Print) 1353-8020 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18591055>>.

HUGHES, A. J. et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinicopathological study of 100 cases. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 55, n. 3, p. 181-184, 1992.

HUOT, P. et al. L-DOPA pharmacokinetics in the MPTP-lesioned macaque model of Parkinson's disease. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 5, p. 829-36, Oct 2012. ISSN 1873-7064 (Electronic) 0028-3908 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22722022>>.

IKEDA, S. et al. Muscle type-specific response of PGC-1 alpha and oxidative enzymes during voluntary wheel running in mouse skeletal muscle. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 188, n. 3-4, p. 217-23, Nov-Dec 2006. ISSN 1748-1708 (Print) 1748-1708 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17054661> >.

JENNER, P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. **Nat Rev Neurosci**, v. 9, n. 9, p. 665-77, Sep 2008. ISSN 1471-003X (Print) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18714325> >.

KALINDERI, K. et al. Pharmacological treatment and the prospect of pharmacogenetics in Parkinson's disease. **Int J Clin Pract**, v. 65, n. 12, p. 1289-94, Dec 2011. ISSN 1742-1241 (Electronic) 1368-5031 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22093536> >.

KAUR, S.; STARR, M. S. Antiparkinsonian action of dextromethorphan in the reserpine-treated mouse. **Eur J Pharmacol**, v. 280, n. 2, p. 159-66, Jul 4 1995. ISSN 0014-2999 (Print) 0014-2999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7589181> >.

KLUGER, B. M.; KRUPP, L. B.; ENOKA, R. M. Fatigue and fatigability in neurologic illnesses: Proposal for a unified taxonomy. **Neurology**, v. 80, n. 4, p. 409-16, Jan 22 2013. ISSN 1526-632X (Electronic) 0028-3878 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23339207> >.

KOBILO, T.; VAN PRAAG, H. Muscle Fatigue and Cognition: What is the Link? **Front Physiol**, v. 3, p. 14, 2012. ISSN 1664-042X (Electronic) 1664-042X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22347193> >.

KOLLER, W. C. Treatment of early Parkinson's disease. **Neurology**, v. 58, n. 4 Suppl 1, p. S79-86, Feb 26 2002. ISSN 0028-3878 (Print) 0028-3878 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11909989> >.

KRUPP, L. B.; POLLINA, D. A. Mechanisms and management of fatigue in progressive neurological disorders. **Curr Opin Neurol**, v. 9, n. 6, p. 456-60, Dec 1996. ISSN 1350-7540 (Print) 1350-7540 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9007405> >.

LANG, A. E. When and how should treatment be started in Parkinson disease? **Neurology**, v. 72, n. 7 Suppl, p. S39-43, Feb 17 2009. ISSN 1526-632X (Electronic) 0028-3878 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19221313> >.

LANG, A. E. et al. Medial pallidotomy in late-stage Parkinson's disease and striatonigral degeneration. **Adv Neurol**, v. 74, p. 199-211, 1997. ISSN 0091-3952 (Print) 0091-3952 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9348415> >.

LATINI, A. et al. Biochemical Mechanisms of Neurodegeneration in Parkinson's Disease: Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress and Glutamatergic Excitotoxicity In: AGUIAR, A. S., JR. e PREDIGER, R. D.

(Ed.). **Frontiers in Parkinson's Disease Research**. New York, USA Nova Science Publishers, v.1, 2012. ISBN 978-1-61324-230-8.

LAU, Y. S. et al. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. **Eur J Neurosci**, v. 33, n. 7, p. 1264-74, Apr 2011. ISSN 1460-9568 (Electronic) 0953-816X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21375602> >.

LEE, H. R. et al. Altered expression of gamma-secretase components in animal model of major depressive disorder induced by reserpine administration. **Lab Anim Res**, v. 28, n. 2, p. 109-14, Jun 2012. ISSN 2233-7660 (Electronic) 1738-6055 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22787484> >.

LEES, A. J.; HARDY, J.; REVESZ, T. Parkinson's disease. **Lancet**, v. 373, n. 9680, p. 2055-66, Jun 13 2009. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19524782> >.

LIMOUSIN, P. et al. Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. **N Engl J Med**, v. 339, n. 16, p. 1105-11, Oct 15 1998. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9770557> >.

LINAZASORO, G. New ideas on the origin of L-dopa-induced dyskinesias: age, genes and neural plasticity. **Trends Pharmacol Sci**, v. 26, n. 8, p. 391-7, Aug 2005. ISSN 0165-6147 (Print)

0165-6147 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16009432>>.

LOGROSCINO, G. et al. Physical activity and risk of Parkinson's disease: a prospective cohort study. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 77, n. 12, p. 1318-22, Dec 2006. ISSN 1468-330X (Electronic) 0022-3050 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16926235>>.

LOKK, J. et al. Drug and treatment costs in Parkinson's disease patients in Sweden. **Acta Neurol Scand**, v. 125, n. 2, p. 142-7, Feb 2012. ISSN 1600-0404 (Electronic) 0001-6314 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21470194>>.

LOPANE, G. et al. The effect of a clinically practical exercise on levodopa bioavailability and motor response in patients with Parkinson disease. **Clin Neuropharmacol**, v. 33, n. 5, p. 254-6, Sep-Oct 2010. ISSN 1537-162X (Electronic) 0362-5664 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20852413>>.

LOPRINZI, P. D. et al. Benefits and environmental determinants of physical activity in children and adolescents. **Obes Facts**, v. 5, n. 4, p. 597-610, 2012. ISSN 1662-4033 (Electronic) 1662-4025 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22986648>>.

LOU, J. S. Physical and mental fatigue in Parkinson's disease: epidemiology, pathophysiology and treatment. **Drugs Aging**, v. 26, n. 3, p. 195-208, 2009. ISSN 1170-229X (Print) 1170-229X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19358616>>.

LOU, J. S. et al. Levodopa normalizes exercise related cortico-motoneuron excitability abnormalities in Parkinson's disease. **Clin Neurophysiol**, v. 114, n. 5, p. 930-7, May 2003. ISSN 1388-2457 (Print)
1388-2457 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12738440> >.

LOU, J. S. et al. Levodopa improves physical fatigue in Parkinson's disease: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. **Mov Disord**, v. 18, n. 10, p. 1108-14, Oct 2003. ISSN 0885-3185 (Print)
0885-3185 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14534913> >.

LOU, J. S. et al. Exacerbated physical fatigue and mental fatigue in Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 16, n. 2, p. 190-6, Mar 2001. ISSN 0885-3185 (Print)
0885-3185 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11295769> >.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v. 193, n. 1, p. 265-75, Nov 1951. ISSN 0021-9258 (Print)
0021-9258 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14907713> >.

MARSDEN, C. D. Parkinson's disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 57, n. 6, p. 672-81, Jun 1994. ISSN 0022-3050 (Print)
0022-3050 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7755681> >.

MATTSON, M. P. Apoptosis in neurodegenerative disorders. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 1, n. 2, p. 120-9, Nov 2000. ISSN 1471-0072 (Print) 1471-0072 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11253364> >.

MAXIA, A. et al. Ethanolic extract of *Rubia peregrina* L. (Rubiaceae) inhibits haloperidol-induced catalepsy and reserpine-induced orofacial dyskinesia. **Nat Prod Res**, v. 26, n. 5, p. 438-45, 2012. ISSN 1478-6427 (Electronic) 1478-6419 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22316173> >.

METTA, V. et al. The possible clinical predictors of fatigue in Parkinson's disease: a study of 135 patients as part of international nonmotor scale validation project. **Parkinsons Dis**, v. 2011, p. 125271, 2011. ISSN 2042-0080 (Electronic) 2042-0080 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22191065> >.

MORRISH, P. K. et al. Measuring the rate of progression and estimating the preclinical period of Parkinson's disease with [18F]dopa PET. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 64, n. 3, p. 314-9, Mar 1998. ISSN 0022-3050 (Print) 0022-3050 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9527140> >.

MUHLACK, S. et al. Exercise improves efficacy of levodopa in patients with Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 22, n. 3, p. 427-30, Feb 15 2007. ISSN 0885-3185 (Print) 0885-3185 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17226855> >.

MYTILINEOU, C. et al. Impaired oxidative decarboxylation of pyruvate in fibroblasts from patients with Parkinson's

disease. **J Neural Transm Park Dis Dement Sect**, v. 8, n. 3, p. 223-8, 1994. ISSN 0936-3076 (Print) 0936-3076 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7748465> >.

NEDER, J. A.; NERY, L. E. **Fisiologia Clínica do Exercício**. Artes Médicas. São Paulo: 2003.

OLANOW, C. W.; STERN, M. B.; SETHI, K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009). **Neurology**, v. 72, n. 21 Suppl 4, p. S1-136, May 26 2009. ISSN 1526-632X (Electronic) 0028-3878 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19470958> >.

OLESEN, J. et al. The economic cost of brain disorders in Europe. **Eur J Neurol**, v. 19, n. 1, p. 155-62, Jan 2012. ISSN 1468-1331 (Electronic) 1351-5101 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22175760> >.

ORMAZABAL, A. et al. HPLC with electrochemical and fluorescence detection procedures for the diagnosis of inborn errors of biogenic amines and pterins. **J Neurosci Methods**, v. 142, n. 1, p. 153-8, Mar 15 2005. ISSN 0165-0270 (Print) 0165-0270 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15652629> >.

PAFFENBARGER, R. S., JR. et al. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. **N Engl J Med**, v. 328, n. 8, p. 538-45, Feb 25 1993. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8426621> >.

PATE, R. R. et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. **JAMA**, v. 273, n. 5, p. 402-7, Feb 1 1995. ISSN 0098-7484 (Print)
0098-7484 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7823386> >.

PETZINGER, G. M. et al. Effects of treadmill exercise on dopaminergic transmission in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. **J Neurosci**, v. 27, n. 20, p. 5291-300, May 16 2007. ISSN 1529-2401 (Electronic)
0270-6474 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17507552> >.

PREDIGER, R. D. et al. Facilitation of short-term social memory by ethanol in rats is mediated by dopaminergic receptors. **Behav Brain Res**, v. 153, n. 1, p. 149-57, 2004.

PREDIGER, R. D.; DA CUNHA, C.; TAKAHASHI, R. N. Antagonistic interaction between adenosine A2A and dopamine D2 receptors modulates the social recognition memory in reserpine-treated rats. **Behav Pharmacol**, v. 16, n. 4, p. 209-18, Jul 2005. ISSN 0955-8810 (Print)
0955-8810 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15961960> >.

RANIERI, F.; DI LAZZARO, V. The role of motor neuron drive in muscle fatigue. **Neuromuscul Disord**, v. 22 Suppl 3, p. S157-61, Dec 2012. ISSN 1873-2364 (Electronic)
0960-8966 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23182631> >.

RAVENSTIJN, P. G. et al. Evaluation of blood-brain barrier transport and CNS drug metabolism in diseased and control brain after intravenous L-DOPA in a unilateral rat model of Parkinson's disease. **Fluids Barriers CNS**, v. 9, p. 4, 2012. ISSN 2045-8118 (Electronic) 2045-8118 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22316420> >.

REUTER, I. et al. The effect of exercise on pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa. **Mov Disord**, v. 15, n. 5, p. 862-8, Sep 2000. ISSN 0885-3185 (Print) 0885-3185 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11009191> >.

RODRIGUEZ, M. C.; OBESO, J. A.; OLANOW, C. W. Subthalamic nucleus-mediated excitotoxicity in Parkinson's disease: a target for neuroprotection. **Ann Neurol**, v. 44, n. 3 Suppl 1, p. S175-88, Sep 1998. ISSN 0364-5134 (Print) 0364-5134 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9749591> >.

ROELANDS, B.; MEEUSEN, R. Alterations in central fatigue by pharmacological manipulations of neurotransmitters in normal and high ambient temperature. **Sports Med**, v. 40, n. 3, p. 229-46, Mar 1 2010. ISSN 0112-1642 (Print) 0112-1642 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20199121> >.

ROSENTHAL, L. S.; DORSEY, E. R. The Benefits of Exercise in Parkinson Disease. **Arch Neurol**, p. 1-2, Nov 5 2012. ISSN 1538-3687 (Electronic) 0003-9942 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23117841> >.

ROWE, G. C. et al. PGC-1alpha is dispensable for exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e41817, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22848618> >.

SCHAPIRA, A. H. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. **Lancet Neurol**, v. 7, n. 1, p. 97-109, Jan 2008. ISSN 1474-4422 (Print) 1474-4422 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18093566> >.

SCHAPIRA, A. H. et al. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. **Lancet**, v. 1, n. 8649, p. 1269, Jun 3 1989. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2566813> >.

SCHIFITTO, G. et al. Fatigue in levodopa-naive subjects with Parkinson disease. **Neurology**, v. 71, n. 7, p. 481-5, Aug 12 2008. ISSN 1526-632X (Electronic) 0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18695158> >.

SCHWARTZ, J. E.; JANDORF, L.; KRUPP, L. B. The measurement of fatigue: a new instrument. **J Psychosom Res**, v. 37, n. 7, p. 753-62, Oct 1993. ISSN 0022-3999 (Print) 0022-3999 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8229906> >.

SHIOZAKI, S. et al. Actions of adenosine A2A receptor antagonist KW-6002 on drug-induced catalepsy and hypokinesia caused by reserpine or MPTP. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 147, n. 1, p. 90-5, Nov 1999. ISSN 0033-3158 (Print)

0033-3158 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10591873>>.

SHULMAN, L. M. et al. Randomized Clinical Trial of 3 Types of Physical Exercise for Patients With Parkinson Disease. **Arch Neurol**, p. 1-8, Nov 5 2012. ISSN 1538-3687 (Electronic)

0003-9942 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23128427>>.

SHULMAN, L. M. et al. Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease.

Parkinsonism Relat Disord, v. 8, n. 3, p. 193-7, Jan 2002. ISSN 1353-8020 (Print)

1353-8020 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12039431>>.

SIDEROWF, A.; HOLLOWAY, R.; STERN, M. Cost-effectiveness analysis in Parkinson's disease: determining the value of interventions. **Mov Disord**, v. 15, p. 439-45, 2000.

SILVA, R. H. et al. Concomitant development of oral dyskinesia and memory deficits in reserpine-treated male and female mice. **Behav Brain Res**, v. 132, n. 2, p. 171-7, May 14 2002. ISSN 0166-4328 (Print)

0166-4328 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11997147>>.

SINGH, A.; KULKARNI, S. K. Nitecapone and selegiline as effective adjuncts to L-DOPA in reserpine-induced catatonia in mice. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v. 24, n. 1, p. 23-9, Jan-Feb 2002. ISSN 0379-0355 (Print)

0379-0355 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11980384>>.

SMITH, A. D.; ZIGMOND, M. J. Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of parkinsonism. **Exp Neurology**, v. 184, p. 31–39, 2003.

SPEELMAN, A. D. et al. How might physical activity benefit patients with Parkinson disease? **Nat Rev Neurol**, v. 7, n. 9, p. 528-34, Sep 2011. ISSN 1759-4766 (Electronic) 1759-4758 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21750523> >.

SPILLANTINI, M. G. et al. Alpha-synuclein in Lewy bodies. **Nature**, v. 388, n. 6645, p. 839-40, Aug 28 1997. ISSN 0028-0836 (Print) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9278044> >.

STAAL, R. G.; MOSHAROV, E. V.; SULZER, D. Dopamine neurons release transmitter via a flickering fusion pore. **Nat Neurosci**, v. 7, n. 4, p. 341-6, Apr 2004. ISSN 1097-6256 (Print) 1097-6256 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14990933> >.

STENMAN, E.; LILJA, A. Increased monoaminergic neurotransmission improves compliance with physical activity recommendations in depressed patients with fatigue. **Med Hypotheses**, v. 80, n. 1, p. 47-9, Jan 2013. ISSN 1532-2777 (Electronic) 0306-9877 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23127500> >.

STEVENS-LAPSLEY, J.; KLUGER, B. M.; SCHENKMAN, M. Quadriceps muscle weakness, activation deficits, and fatigue with Parkinson disease. **Neurorehabil Neural Repair**, v. 26, n. 5, p. 533-41, Jun 2012. ISSN 1552-6844 (Electronic)

1545-9683 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22140196>>.

STEVENSON, J. D.; ROACH, R. The benefits and barriers to physical activity and lifestyle interventions for osteoarthritis affecting the adult knee. **J Orthop Surg Res**, v. 7, p. 15, 2012. ISSN 1749-799X (Electronic)
1749-799X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22462601>>.

TANSEY, M. G.; MCCOY, M. K.; FRANK-CANNON, T. C. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. **Exp Neurol**, v. 208, n. 1, p. 1-25, Nov 2007. ISSN 0014-4886 (Print)
0014-4886 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17720159>>.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. ARTMED. Porto Alegre: 2002.

TREJO, J. L. et al. Sedentary life impairs self-reparative processes in the brain: the role of serum insulin-like growth factor-I. **Rev Neurosci**, v. 13, n. 4, p. 365-74, 2002. ISSN 0334-1763 (Print)
0334-1763 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12542262>>.

TSANG, A. H.; CHUNG, K. K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. **Biochim Biophys Acta**, v. 1792, n. 7, p. 643-50, Jul 2009. ISSN 0006-3002 (Print)
0006-3002 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19162179>>.

TUON, T. et al. Physical training exerts neuroprotective effects in the regulation of neurochemical factors in an animal model of Parkinson's disease. **Neuroscience**, v. 227, p. 305-12, Dec 27 2012. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23041759> >.

VILLABLANCA, J. R.; MARCUS, R. J. The basal ganglia. A brief review and interpretation. **Acta Neurol Latinoam**, v. 21, n. 1-4, p. 157-83, 1975. ISSN 0001-6306 (Print) 0001-6306 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/797217> >.

VILLAR-CHEDA, B. et al. Aging and sedentarism decrease vascularization and VEGF levels in the rat substantia nigra. Implications for Parkinson's disease. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 29, n. 2, p. 230-4, Feb 2009. ISSN 1559-7016 (Electronic) 0271-678X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18957989> >.

VOON, V. et al. Psychiatric symptoms in patients with Parkinson disease presenting for deep brain stimulation surgery. **J Neurosurg**, v. 103, n. 2, p. 246-51, Aug 2005. ISSN 0022-3085 (Print) 0022-3085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16175853> >.

VUCKOVIC, M. G. et al. Exercise elevates dopamine D2 receptor in a mouse model of Parkinson's disease: in vivo imaging with [(1)(8)F]fallypride. **Mov Disord**, v. 25, n. 16, p. 2777-84, Dec 15 2010. ISSN 1531-8257 (Electronic) 0885-3185 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20960487> >.

WIDNER, B.; LEBLHUBER, F.; FUCHS, D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. **J Neural Transm**, v. 109, n. 2, p. 181-9, Feb 2002. ISSN 0300-9564 (Print) 0300-9564 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12075858> >.

WINWARD, C. et al. Weekly exercise does not improve fatigue levels in Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 27, n. 1, p. 143-6, Jan 2012. ISSN 1531-8257 (Electronic) 0885-3185 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21953509> >.

XU, Q. et al. Physical activities and future risk of Parkinson disease. **Neurology**, v. 75, n. 4, p. 341-8, Jul 27 2010. ISSN 1526-632X (Electronic) 0028-3878 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20660864> >.

YOUDIM, M. B.; EDMONDSON, D.; TIPTON, K. F. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 4, p. 295-309, Apr 2006. ISSN 1471-003X (Print) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16552415> >.

ZIEMSEN, T.; REICHMANN, H. Non-motor dysfunction in Parkinson's disease. **Parkinsonism Relat Disord**, v. 13, n. 6, p. 323-32, Aug 2007. ISSN 1353-8020 (Print) 1353-8020 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17349813> >.

ZIV, I. et al. Enhanced fatigue during motor performance in patients with Parkinson's disease. **Neurology**, v. 51, n. 6, p. 1583-6, Dec 1998. ISSN 0028-3878 (Print)

0028-3878 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9855505>>.