



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

Evelini Plácido

ESTUDO DA NEUROPLASTICIDADE EM TECIDOS PÓS-MORTE DE
PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON E NO MODELO YAC128 DA
DOENÇA DE HUNTINGTON

Florianópolis

2023

Evelini Plácido

ESTUDO DA NEUROPLASTICIDADE EM TECIDOS PÓS-MORTE DE
PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON E NO MODELO YAC128 DA
DOENÇA DE HUNTINGTON

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Neurociências da Universidade Federal de
Santa Catarina como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutora em Neurociências.

Orientador(a): Professora Patricia de Souza
Brocardo

Florianópolis

2023

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

Plácido, Evelini
ESTUDO DA NEUROPLASTICIDADE EM TECIDOS PÓS-MORTE DE
PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON E NO MODELO YAC128 DA
DOENÇA DE HUNTINGTON / Evelini Plácido ; orientadora,
Patricia de Souza Brocardo, 2023.
131 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. Neuroplasticidade. 3.
Enriquecimento Ambiental. 4. Doença de Parkinson. 5. Doença
de Huntington. I. Brocardo, Patricia de Souza. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Neurociências. III. Título.

Evelini Plácido

Estudo da neuroplasticidade em tecidos pós-morte de pacientes com doença de Parkinson e no modelo YAC128 da doença de Huntington

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 25 de outubro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Joana Gil-Mohapel,
Universidade de Victoria

Prof. Dr. Rui Daniel S. Prediger
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Marcelo Farina
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Neurociências.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Profa. Dra. Patricia de Souza Brocardo
Orientadora

Florianópolis, 2023

Dedico esse trabalho à minha família, à ciência e à
todas as pessoas para quem ele for útil.

AGRADECIMENTOS

Fazer ciência (ainda mais no Brasil) só é possível com muita colaboração e apoio. Assim também são os grandes feitos na vida humana, necessitam de suporte. Esta tese, como um estudo científico e uma realização pessoal, não poderia ser diferente, por isso agradeço a imensa contribuição que tive de várias partes.

À minha família, minha mãe Lourdes Plácido, meu pai Manoel Ferreira Plácido (*in memoriam*) e meu irmão Elivelto Plácido por serem meu “porto seguro”, sempre me incentivando a estudar, apoiando as minhas escolhas, me ouvindo, dando suporte e torcendo por mim.

Aos meus cachorros, Rintin, Perigo, Léia, Bio, que também fazem parte da minha família e que deixam a minha vida alegre.

Aos amigos e familiares que me apoiaram e tiveram paciência por eu estar estressada e ter sumido de vez em quando, principalmente minhas madrinhas e minhas primas.

Aos colegas antigos e atuais do Laboratório de Neuroplasticidade, LANEP: Aleticia, Aléxia, Amanda, Ana, Anelise, Bianca Claudia, Cristine, Douglas, Fabiani, Ian, Kátia, Laura, Maria, Patricia, Pedro, Priscila, Thayza, Víctor (e outros que passaram rapidamente pelo laboratório ou que eu tenha esquecido) pelos ensinamentos, discussões científicas ou não, pelo auxílio nos experimentos, pela companhia e apoio contínuo compartilhado. Agradecimentos especiais à Douglas, Patricia, Priscila e Thayza por me ajudarem com os experimentos, à Claudia e Priscila por me ajudarem com a tese e a Douglas por me dar a oportunidade de coorientá-lo.

Aos colegas de outros laboratórios que também ajudaram, em especial Bruna e Caibe pelas contribuições nas imunos e genotipagens.

Aos colegas de trabalho, Transpetro, que me apoiaram nos anos finais do doutorado, me incentivando a não desistir e colaborando para que eu conseguisse conciliar doutorado e emprego.

Aos profissionais de saúde que de alguma forma me ajudaram ou ajudaram aqueles que são importantes para mim, em especial minha médica Cintia e minha terapeuta Marilda.

Aos Professores do curso de Pós-Graduação em Neurociências, de outros cursos e de fora da universidade pelos conhecimentos e exemplos passados durante as aulas. Em especial Professores Ana Lúcia, Manuela e Alcir pela colaboração direta e frequente.

Aos colegas de disciplinas pela tensão e conhecimento compartilhados.

Aos colegas e técnicos dos demais laboratórios que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho, incluindo o LAMEB.

À minha orientadora Professora Doutora Patricia de Souza Brocardo por ter me dado a privilégio de fazer parte do seu grupo de pesquisa duas vezes. Agradeço pelas oportunidades que me proporcionou, pelo acolhimento, pelos ensinamentos, pela dedicação, pelos incentivos, pela paciência e confiança em mim depositada, por sua maneira gentil e profissional de lidar com tudo, sendo um grande exemplo de cientista.

Ao Professor Doutor Tiago Fleming Outeiro por ter me dado a oportunidade de trabalhar em seu laboratório na Universidade de Newcastle, na Inglaterra, me proporcionando uma experiência importantíssima na vida acadêmica e pessoal.

Ao Doutor David Koss por ter me acompanhado e orientado, dentro dos laboratórios da Universidade de Newcastle, contribuindo muito para o capítulo 2 desta tese, e fora dos laboratórios, na cidade de Newcastle, na época em que a pandemia iniciou.

Ao programa CAPES-PRINT pela experiência internacional e a Universidade de Newcastle pela oportunidade de pesquisa.

Aos indivíduos que doaram seu cérebro pós-morte para a pesquisa, minha gratidão e respeito.

Aos animais experimentais utilizados neste trabalho, minha gratidão e respeito.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro e à UFSC pelo espaço físico e organização disponibilizados.

Ao povo brasileiro pelo suporte financeiro proporcionado através de impostos e cedidos pela agência de fomento.

A todos que direta ou indiretamente participaram nesta fase da minha vida, meu muito obrigado!

RESUMO

Doenças motoras neurodegenerativas são um grupo de distúrbios caracterizados pela degeneração progressiva de neurônios no sistema nervoso central, especialmente em áreas responsáveis pelo controle dos movimentos musculares voluntários. Essas doenças, exemplificadas aqui pela doença de Parkinson (DP) e a doença de Huntington (DH), manifestam sintomas motores debilitantes e abrangem uma ampla gama de manifestações não motoras, impactando significativamente a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Na DP, os sintomas motores incluem bradicinesia, tremores em repouso, rigidez muscular e instabilidade postural, enquanto os sintomas não motores envolvem comprometimento cognitivo, distúrbios de humor, distúrbios do sono, disfunção autonômica e anormalidades sensoriais. A DH é uma desordem genética neurodegenerativa caracterizada por sintomas motores, psiquiátricos, cognitivos e periféricos. Este estudo investiga o papel da neurogênese hipocampal adulta humana na DP e explora os benefícios potenciais do Ambiente Enriquecido (AE) num modelo animal da DH. Na DP, nossa pesquisa, utilizando tecido cerebral humano *pós-morte*, encontrou uma redução significativa na expressão de Doublecortin (DCX) na zona subgranular, indicando uma neurogênese hipocampal deficiente em adultos. Também identificamos correlações da área nuclear das células positivas para DCX com os níveis de pH. Esses achados sugerem que a neurogênese comprometida pode preceder o comprometimento cognitivo, contribuindo para os sintomas neuropsiquiátricos observados na DP. Na DH, verificou-se que a exposição ao AE por 2 meses (dos 2 aos 4 meses) reverteu o comportamento tipo-depressivo e tipo-anedônico em camundongos YAC128. Esses resultados confirmam que o AE pode modular o comportamento, provavelmente por modular a neuroplasticidade estrutural e funcional. Em resumo, os resultados aqui apresentados enfatizam a intrincada interação entre sintomas motores e não motores em doenças motoras neurodegenerativas, exemplificadas pela DP e pela DH. Esses resultados não apenas lançam luz sobre os possíveis mecanismos subjacentes aos sintomas neuropsiquiátricos observados na DP, mas também oferecem um caminho promissor para lidar com déficits na neuroplasticidade na DH. Em última análise, essas descobertas contribuem para nossa compreensão mais ampla dessas condições desafiadoras e têm o potencial de abrir caminho para estratégias terapêuticas mais eficazes no futuro.

Palavras-chave: Doença de Parkinson, Doença de Huntington, Neuroplasticidade, Camundongo YAC128, neurogênese hipocampal adulta

ABSTRACT

Neurodegenerative motor diseases are a group of disorders characterized by the progressive degeneration of neurons in the central nervous system, especially in areas responsible for controlling voluntary muscle movements. These diseases, exemplified by Parkinson's disease (PD) and Huntington's disease (HD), manifest debilitating motor symptoms and encompass a wide range of non-motor manifestations, significantly impacting the quality of life of affected individuals. In PD, motor symptoms include bradykinesia, resting tremors, muscular rigidity, and postural instability, while non-motor symptoms involve cognitive impairment, mood disturbances, sleep disturbances, autonomic dysfunction, and sensory abnormalities. HD is a genetic neurodegenerative disorder characterized by motor, psychiatric, cognitive, and peripheral symptoms. This study investigates the role of adult human hippocampal neurogenesis in PD and explores the potential benefits of Environmental Enrichment (EE) in an animal model of HD. In PD, our research, utilizing *postmortem* human brain tissue, found a significant reduction in Doublecortin (DCX) expression in the subgranular zone, indicating deficient adult hippocampal neurogenesis. We also identified correlations of the nuclear area of DCX-positive cells with the pH levels. These findings suggest that compromised neurogenesis may precede cognitive impairment, contributing to the neuropsychiatric symptoms observed in PD. In HD, exposure to EE for two months (from 2 to 4 months of age) was found to reverse depressive-like and anhedonic-like behaviors in YAC128 mice. These results confirm that EE can modulate behavior, likely by modulating structural and functional neuroplasticity. The results presented here underscore the intricate interplay between motor and non-motor symptoms in neurodegenerative motor diseases, exemplified by PD and HD. These findings not only shed light on potential mechanisms underlying the neuropsychiatric symptoms observed in PD but also offer a promising path for addressing deficits in neuroplasticity in HD. Ultimately, these discoveries contribute to our broader understanding of these challenging conditions and potentially pave the way for more effective therapeutic strategies in the future.

Keywords: Parkinson's disease, Huntington's disease, Neuroplasticity, YAC128 mouse, Adult hippocampal neurogenesis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Características comuns as doenças neurodegenerativas.	17
Figura 1.2 - Núcleos da base e estruturas circundantes.	19
Figura 1.3 – Representação esquemática das vias diretas e indiretas nos núcleos da base em condições fisiológicas, na DP e na DH.....	20
Figura 1.4 – Prevalência padronizada por idade da doença de Parkinson por 100.000 habitantes por localização para ambos os sexos, em 2016.	21
Figura 1.5 – Sintomas motores e não motores da doença de Parkinson.....	23
Figura 1.6 – Representação esquemática de uma seção transversal do tronco cerebral com perda de áreas pigmentadas escuras na SNpc evidenciada a direita na DP.....	25
Figura 1.7 - Progressão da agregação de α -sinucleína na DP.....	26
Figura 1.8 – Proteína huntingtina mutada.	28
Figura 1.9 – Ciclo de vida na doença de Huntington.	30
Figura 1.10 – Neuropatologia da doença de Huntington.....	32
Figura 1.11 – Diagrama esquemático mostrando as principais etapas da neurogênese do hipocampo adulto.	39
Figure 2.1 - DCX-positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus.....	51
Figure 2.2 – Nuclear area of DCX-positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus. ...	52
Figure 2.3 – Cell density.	53
Figure 2.4 – DCX and NeuN positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus.	53
Figure 2.5 – Pearson correlations with pH levels and DCX-positive cells.	54
Figura 3.1 – Mecanismos de ação da huntingtina.	63
Figura 3.2 – Linha do tempo que correlaciona as mudanças comportamentais e neuropatológicas da DH em camundongos YAC128.....	67
Figura 3.3 – Enriquecimento ambiental.	68
Figura 3.4 – Métodos de enriquecimento ambiental para roedores em cativeiro.....	69
Figura 3.5 – Exemplo do gel da genotipagem dos camundongos YAC128.....	72
Figura 3.6 - Representação esquemática do protocolo experimental e dos grupos.	74
Figura 3.7 – Teste do campo aberto	75
Figura 3.8 – Teste da borrifada da sacarose.	75
Figura 3.9 – Teste de suspensão pela cauda.	76
Figura 3.10 – Teste do labirinto aquático em T.....	77
Figura 3.11 – Área de avaliação de GFAP.	79

Figura 3.12 – Avaliação dos efeitos do AE no teste do campo aberto (TCA).	82
Figura 3.13 – Avaliação do comportamento do tipo-depressivo e tipo-anedônico em camundongos expostos ao AE.....	83
Figura 3.14 – Avaliação dos efeitos do AE no teste do labirinto aquático em T (TLAT).	85
Figura 3.15 – Avaliação dos efeitos do AE sobre as monoaminas encefálicas.....	86
Figura 3.16 - Imuno-histoquímica para GFAP em camundongos selvagens e YAC128.....	87

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 - Objetos utilizados no AE.	72
---	----

LISTA DE TABELAS

Table 2.1 – Human tissue cohort	46
Table 2.2 – Primary and secondary antibodies used for immunohistochemistry optimization.	48
Table 2.3 – Methods of antigen retrieval.....	49
Tabela 3.1 – Modelos da doença de Huntington em camundongos.	65
Tabela 3.2 – Peso corporal de camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AC e ao AE.	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- α -syn – Alfa-sinucleína
- A β – Placas beta-amilóides
- ABH – Associação Brasil Huntington
- AC – Ambiente controle
- AE – Ambiente enriquecido
- ANOVA – Análise de variância, do inglês *analysis of variance*
- ASO – Oligonucleotídeo anti-sentido, do inglês *antisense oligonucleotides*
- BAC - Cromossomo artificial de bactéria, do inglês, *bacterial artificial chromosome*
- BDNF – Fator neurotrófico derivado do encéfalo, do inglês *brain-derived neurotrophic factor*
- BrdU – Bromodeoxyuridine
- CA – Corno de Amon, do latim *Cornu Ammonis*.
- CAG – Citosina, adenina, guanina (glutamina)
- CP – Pedúnculo cerebral, do inglês *cerebral peduncle*
- CPF – Córtex pré-frontal
- CRISPR-Cas9 – Conjunto de repetições palindrômicas curtas regularmente espaçadas em associação com a nuclease Cas9, do inglês *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*
- DAB – 3,3' Diaminobenzidina tetrahydrocloro
- DCX – Doublecortina, do inglês *doublecortin*
- DA – Doença de Alzheimer
- DA – Dopamina
- DataSUS – Departamento de informática do Sistema Único de Saúde do Brasil
- DH – Doença de Huntington
- DNA – Ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*
- DP – Doença de Parkinson
- EPM – Erro padrão da média
- FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos do inglês *food and drug administration*
- FGF-2 – Fator de crescimento de fibroblasto-2, do inglês *fibroblast growth factor*
- GABA – Ácido gama-aminobutírico, do inglês *gamma-aminobutyric acid*
- GBD – Carga global de doenças, do inglês *global burden of disease*
- GD – Giro denteado
- GFAP – Proteína ácida fibrilar glial, do inglês *glial fibrillary acidic protein*

GP – Globo pálido
GPe – Globo pálido externo
GPi – Globo pálido interno
HT – Hidroxitriptamina
HTT – Gene da huntingtina
htt – Proteína huntingtina
IC – Intervalo de confiança
IT15 – Transcrito interessante 15, do inglês *interesting transcript 15*
LSD – Diferença mínima significativa, do inglês *least significant difference*
LTD – Depressão de longa duração, do inglês *long-term depression*
LTP – Potenciação de longa duração, do inglês, *long-term potentiation*
MAOBIs – Inibidores da monoamina oxidase tipo B, do inglês *monoamine oxidase inhibitor type B*
mhtt – Proteína huntingtina mutante
MPTP – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina
MSN – Neurônios espinhos médios, do inglês *Medium spiny neurons*
NAC – Domínio não A β , do inglês, *non-A β component*
NeuN – Antígeno nuclear neuronal, do inglês *neuronal nuclear antigen*
NMDA – N-metil D-Aspartato
NST – Núcleo subtalâmico
PBS – Tampão fosfato-salino, do inglês *Phosphate Buffered Saline*
Poli-Q – Poliglutamina
PCNA – Antígeno nuclear de proliferação celular, do inglês *Proliferating cell nuclear antigen*
PCR – Reação em cadeia da polimerase, do inglês *polymerase chain reaction*
RN – Núcleo vermelho, do inglês *red nucleus*
RNA – Ácido ribonucleico, do inglês *ribonucleic acid*
SN – Substância negra
SNpc – Substância negra pars compacta
SNpr – Substância negra pars reticulata
SNC – Sistema Nervoso Central
SNP – Sistema Nervoso Periférico
VEGF – Fator de crescimento vascular endotelial, do inglês *vascular endothelial growth factor*
YAC – Cromossomo artificial de levedura, do inglês, *yeast artificial chromossome*
ZSG – Zona subgranular

ZSV – Zona subventricular

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	16
1 CAPÍTULO I INTRODUÇÃO	16
1.1 DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS	16
1.2 DOENÇA DE PARKINSON	20
1.2.1 Sintomas da Doença de Parkinson	22
1.2.2 Neuropatologia da Doença de Parkinson	24
1.2.3 Tratamento da Doença de Parkinson	26
1.3 DOENÇA DE HUNTINGTON.....	27
1.3.1 Sintomas da Doença de Huntington	29
1.3.2 Neuropatologia da Doença de Huntington	31
1.3.3 Tratamento da DH	33
1.4 NEUROPLASTICIDADE NAS DOENÇAS DE PARKINSON E DE HUNTINGTON.....	35
1.4.1 Neurogênese Hipocampal Adulta	36
1.4.2 Regulação da Neurogênese Hipocampal Adulta	39
1.4.3 Neurogênese Hipocampal Adulta na Doença de Parkinson e na Doença de Huntington	41
1.5 JUSTIFICATIVA	42
1.6 OBJETIVOS.....	43
1.6.1 Objetivo Geral	43
1.6.2 Objetivos Específicos	43
2 CAPÍTULO II. ALTERED HIPPOCAMPAL DOUBLECORTIN EXPRESSION IN PARKINSON'S DISEASE INDIVIDUALS	45
2.1 INTRODUCTION	45
2.2 MATERIALS AND METHODS	46
2.2.1 Human Samples	46
2.2.2 Tissue Processing	47
2.2.3 Immunohistochemistry Detection of DCX and NeuN	47
2.2.4 Image acquisition and cell count	49
2.2.5 Statistical Analysis	49
2.3 RESULTS.....	50
2.3.1 PD decreases DCX expression in the DG of the hippocampus	50

2.3.2	Diminished nuclear area of DCX-positive cells in PD samples	51
2.3.3	PD does not impact NeuN expression, cell density, or colocalization of DCX and NeuN in the DG region of the hippocampus	52
2.3.4	Inverse correlation between pH levels and DCX-positive cells	54
2.4	DISCUSSION.....	54
2.5	CONCLUSION	58
3	CAPÍTULO III. EFEITOS DO AMBIENTE ENRIQUECIDO NA PLASTICIDADE COMPORTAMENTAL NO MODELO ANIMAL YAC128 DA DOENÇA DE HUNTINGTON	62
3.1	INTRODUÇÃO.....	62
3.1.1	Modelos animais para estudar a doença de Huntington.....	64
3.1.2	Modelo animal YAC128 da DH.....	66
3.2	ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL.....	67
3.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
3.3.1	Animais.....	70
3.3.2	Genotipagem dos animais	71
3.3.3	Condições de habitação	72
3.3.4	Protocolo Experimental	73
3.3.5	Testes Comportamentais.....	74
3.3.6	Imuno-histoquímica para GFAP.....	78
3.3.6.1	<i>Quantificação Morfológica</i>	<i>78</i>
3.3.7	Análise dos níveis de monoaminas	79
3.3.8	Análise estatística.....	80
3.4	RESULTADOS	80
3.4.1	Peso Corporal.....	80
3.4.2	Avaliação Comportamental.....	81
3.4.2.1	<i>Avaliação da locomoção e do comportamento do tipo-ansioso em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AE.....</i>	<i>81</i>
3.4.2.2	<i>Avaliação do comportamento do tipo-depressivo e anedônico em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AE.....</i>	<i>82</i>
3.4.2.3	<i>Avaliação de aprendizado procedural e espacial em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AE</i>	<i>84</i>
3.4.3	Avaliação dos Níveis de Monoaminas.....	85
3.4.4	Efeito do AE Sobre a Expressão de GFAP no GD da Formação Hipocampal	86

3.5	DISCUSSÃO	88
3.6	CONCLUSÃO.....	93
4	CONCLUSÃO GERAL	95
	REFERÊNCIAS	97
	APÊNDICE A – PARTICIPAÇÃO EM PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	125
	Artigos Publicados.....	125
	Artigo submetido	126

APRESENTAÇÃO

Essa tese de doutorado está organizada em três capítulos e uma conclusão geral:

Capítulo I: Redigido em língua portuguesa contém uma breve introdução geral sobre os tópicos norteadores da tese, a justificativa, os objetivos e referências bibliográficas referentes a esse capítulo;

Capítulo II: Artigo científico em língua inglesa sobre o estudo da neurogênese hipocampal adulta na doença de Parkinson em amostras humanas. Esse capítulo contém os tópicos introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusão, referências bibliográficas e material suplementar;

Capítulo III: Efeitos do enriquecimento ambiental no modelo animal da doença de Huntington redigidos em língua portuguesa. Esse capítulo está dividido em introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Conclusão Geral: redigida em língua portuguesa consta algumas implicações e considerações dos resultados dos capítulos II e III.

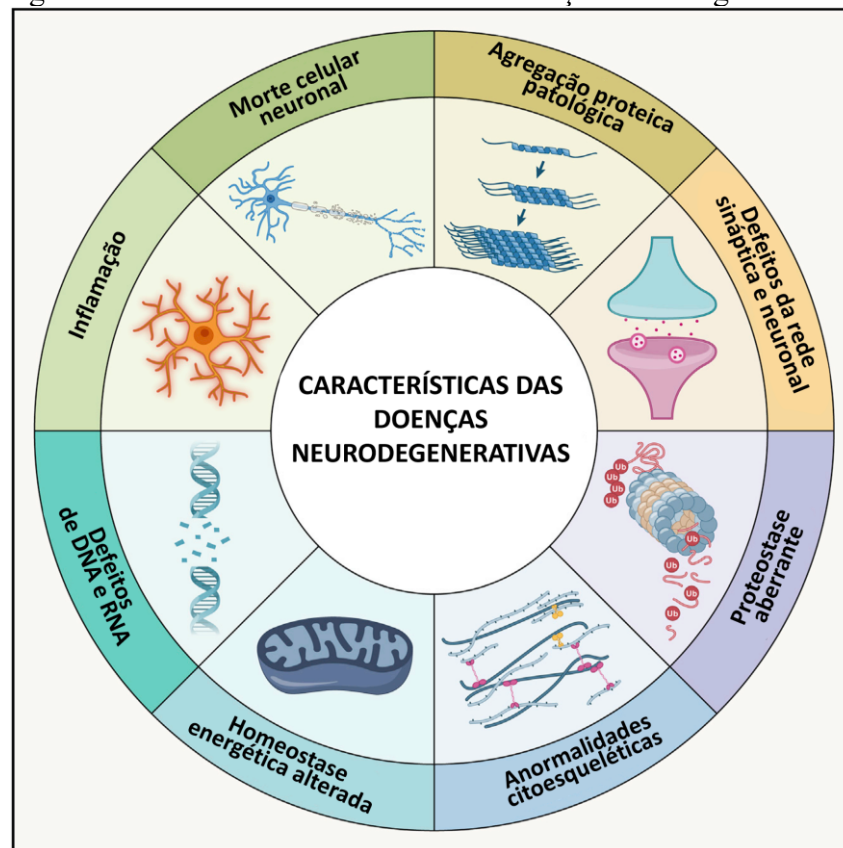
1 CAPÍTULO I INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

As doenças neurodegenerativas são um grupo heterogêneo de distúrbios neurológicos que afetam negativamente a vida de milhões de pessoas em todo o mundo e acarretam a perda progressiva de neurônios no Sistema Nervoso Central (SNC) ou no Sistema Nervoso Periférico (SNP) (Wilson et al., 2023). São causa comum e crescente de mortalidade e morbidade em todo o mundo (Erkkinen et al., 2018). O envelhecimento é um fator de risco comum as doenças neurodegenerativas, assim, à medida que a expectativa de vida aumenta em todo o mundo, a prevalência destas doenças aumentará, impondo uma carga socioeconômica onerosa aos pacientes, famílias e comunidades (Gan et al., 2018).

Perda e ou disfunção progressiva de células neurais (neurônios e células da glia), bem como das conexões e redes formadas por estas células e, na maioria dos casos, pela deposição de proteínas patologicamente alteradas em diferentes regiões do sistema nervoso (Kovacs, 2017, 2019) são características das doenças neurodegenerativas. Essas doenças podem causar perda progressiva das funções cerebrais, resultando em incapacidade grave e morte. Muitas doenças neurodegenerativas compartilham características clínicas, como déficits cognitivos, prejuízos motores, transtornos de humor e mecanismos moleculares comuns, incluindo vias de sinalização, agregação, propagação e disseminação de proteínas de uma região para outra (Figura 1.1) (Chen et al., 2020). Embora, muitas vezes, sejam classificadas por marcas proteínopáticas, não está claro se estas estão acarretando a doença ou se são consequências de outros processos subjacentes (Ehrenberg et al., 2020).

Figura 1.1 - Características comuns as doenças neurodegenerativas.



Fonte: Adaptado de (Wilson et al., 2023Wilson et al., 2023).

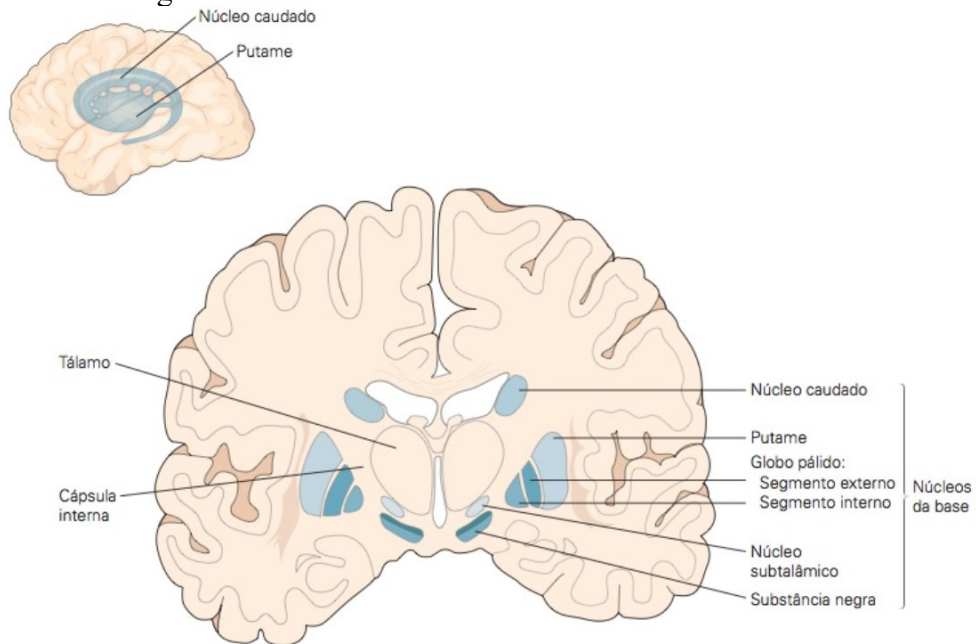
As principais doenças neurodegenerativas do SNC são a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (DP) e as doenças de repetições expandidas de trinucleotídeos, como a doença de Huntington (DH) e as ataxias espinocerebelares. Juntas elas afetam cerca de 5 milhões de pessoas apenas nos Estados Unidos e mais de 25 milhões de pessoas em todo o mundo (Kandel et al., 2014). As doenças neurodegenerativas são clinicamente e fisiologicamente heterogêneas, mas frequentemente apresentam características sobrepostas (Erkkinen et al., 2018).

De acordo com Kovacs (2018) as doenças neurodegenerativas podem ser classificadas baseando-se em: 1. Sintomas clínicos determinados pela região anatômica onde há disfunção neural; 2. Proteínas que apresentam modificações bioquímicas e se acumulam em neurônios ou células gliais (intracelulares) ou em localizações extracelulares (Kovacs, 2017). As manifestações clínicas podem ser classificadas em: 1. Declínio cognitivo, demência e alterações nas funções cerebrais de alto nível. As estruturas anatômicas envolvidas compreendem o hipocampo, o córtex entorrinal, o sistema límbico e as áreas neocorticais; 2. Distúrbios do movimento, que incluem distúrbios do movimento hipercinéticos e hipocinéticos, sintomas relacionados à disfunção cerebelar ou envolvimento dos neurônios motores superiores e

inferiores. As regiões anatômicas mais importantes envolvidas nos distúrbios do movimento são os núcleos da base, o tálamo, os núcleos do tronco cerebral, o córtex e os núcleos cerebelares, as áreas corticais motoras e os neurônios motores inferiores da medula espinhal (Kovacs, 2017). Além das manifestações clínicas, refletindo perda de neurônios e sinapses específicos em regiões cerebrais distintas, as doenças neurodegenerativas podem ser agrupadas de acordo com suas características proteinopáticas. A agregação regional de proteínas citosólicas ou nucleares podem incluir placas beta-amilóides (A β) na DA, inclusões de tau hiperfosforilada de ligação aos microtúbulos na DA e outras tauopatias, agregados de α -sinucleína (α -syn) na DP e outras sinucleinopatias, e agregados de proteínas poliglutaminas na DH e outras doenças de repetição CAG-poliglutamina (Gan et al., 2018).

Os distúrbios do movimento estão entre os distúrbios neurodegenerativos mais comuns e são categorizados como um grupo complexo de doenças neurológicas que manifestam aumento ou diminuição dos movimentos corporais (Jamwal & Kumar, 2019). Eles são caracterizados por deficiências na velocidade, fluência, qualidade e facilidade de execução motora, deficiências que podem ser devidas ao excesso ou falta de movimentos voluntários (Shipton, 2012). O movimento é produzido pela ação coordenada de diversas estruturas cerebrais corticais e subcorticais, como a medula espinhal, o tronco cerebral, o córtex cerebral, o cerebelo e os núcleos da base (Troncoso-Escudero et al., 2020). A estrutura dos núcleos da base compreende um grupo de núcleos subcorticais incluindo o estriado (subdividido na maioria dos mamíferos em caudado e putâmen), globo pálido (GP) interno (GPi) e globo pálido externo (GPe). Além disso, devido às importantes conexões entre os núcleos basais anatômicos e o núcleo subtalâmico (NST) e a substância negra (substância negra (SN) pars reticulata (SNpr) e compacta (SNpc), estes são incluídas funcionalmente no conceito de núcleos basais, embora anatomicamente pertençam ao diencéfalo e ao mesencéfalo (Figura 1.2), respectivamente (Borden et al., 2015).

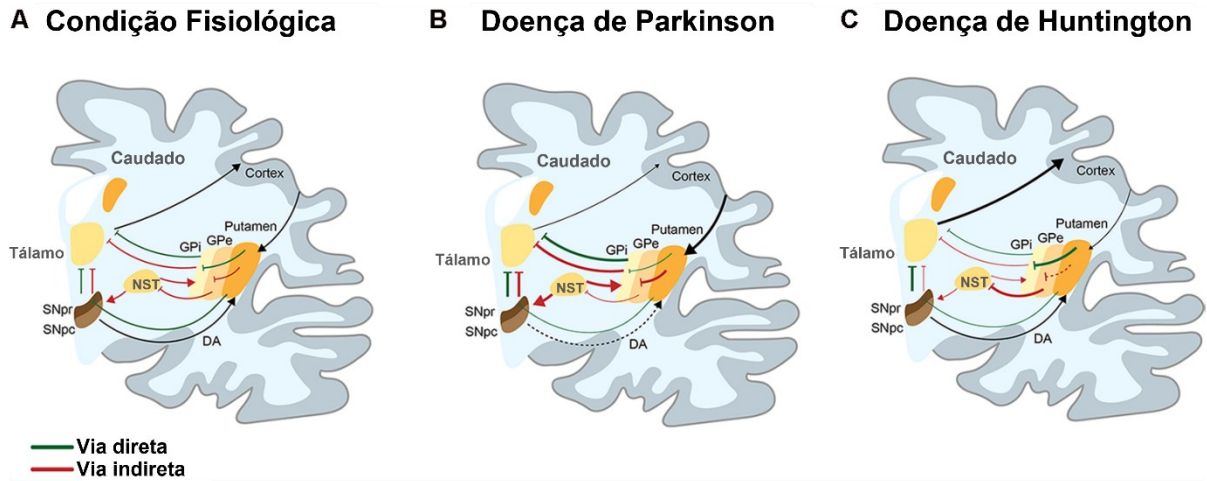
Figura 1.2 - Núcleos da base e estruturas circundantes.



Fonte: Kandel *et al.*, 2014 p.853

Os neurônios espinhosos médios GABAérgicos constituem 90-95% da população neuronal do estriado e recebem projeções glutamatérgicas do córtex e dos núcleos talâmicos. Existem duas vias diferentes do estriado que expressam diferentes receptores de dopamina e neuropeptídeos. A via direta expressa receptores dopaminérgicos D1, substância P e dinorfina e se projeta no SNpr e GPi, enquanto a via indireta expressa receptores dopaminérgicos D2, receptores de adenosina A2A e encefalina e se projeta para o GPe. (Jamwal & Kumar, 2019). O equilíbrio entre a via direta e indireta é responsável pelos movimentos corporais coordenados. Um desequilíbrio na atividade dessas duas vias resulta em movimentos corporais alterados. Dessa forma, a DH e a DP exibem algumas semelhanças, ambas apresentam agregados proteicos e distúrbios motores consequentes da degeneração nas estruturas dos núcleos da base. No entanto, a DH é uma doença bifásica (inicialmente hiperkinética e posteriormente hipocinética) autossômica dominante, enquanto a DP é uma doença hipocinética multifatorial (Figura 1.3).

Figura 1.3 – Representação esquemática das vias diretas e indiretas nos núcleos da base em condições fisiológicas, na DP e na DH.



Legenda: A) Fisiologicamente, a via direta (linha verde) participa da ativação do movimento. Essa via é acionada quando a ativação do córtex produz uma liberação de glutamato no corpo estriado, ativando neurônios espinhosos médios GABAérgicos (MSNs) da via direta. Ao liberar GABA na substância negra pars reticulata (SNpr) e no globo pálido interno (GPI), os MSNs inibem os neurônios do SNpr/Gpi que também são GABAérgicos. Isso provoca a ativação dos neurônios glutamatérgicos presentes no tálamo, que se projetam para o córtex, resultando na ativação dos movimentos. A via indireta (linha vermelha) participa da inibição do movimento. Quando MSNs GABAérgicos que se projetam indiretamente para o SNpr através do globo pálido externo (Gpe) e do núcleo subtalâmico (NST), liberam GABA no Gpe, inibem os neurônios GABAérgicos presentes no Gpe. Isso leva à desinibição dos neurônios glutamatérgicos do NST, o que ativa os neurônios GABAérgicos do SNpr/Gpi. Esses neurônios inibem os neurônios presentes no tálamo, resultando em uma redução do movimento. A seleção e execução do movimento refletem um equilíbrio dinâmico entre ambas as vias. B) Na DP, a perda de neurônios dopaminérgicos do SNpc induz uma superativação da via indireta e diminuição no início do movimento. Conseqüentemente, há um aumento da atividade GABAérgica do Gpi/SNpr sobre os neurônios talâmicos que se projetam para o córtex, levando à perda de movimento (distúrbio hipocinético). C) Na DH (fase inicial), os MSNs da via indireta parecem ser afetados antes dos MSNs da via direta. Isso induz um aumento da atividade GABAérgica (ou inibidora) do Gpe sobre o NST, o que provoca a perda da atividade inibitória do Gpi/SNpr sobre os neurônios talâmicos que se projetam para o córtex, levando ao aparecimento de movimentos coreicos (distúrbio hiperkinético). Em uma fase posterior, a via direta (excitatória) também é afetada, levando a uma perda do movimento ou hipocinesia. Fonte: Adaptado de Troncoso-Escudero *et al.*, 2020.

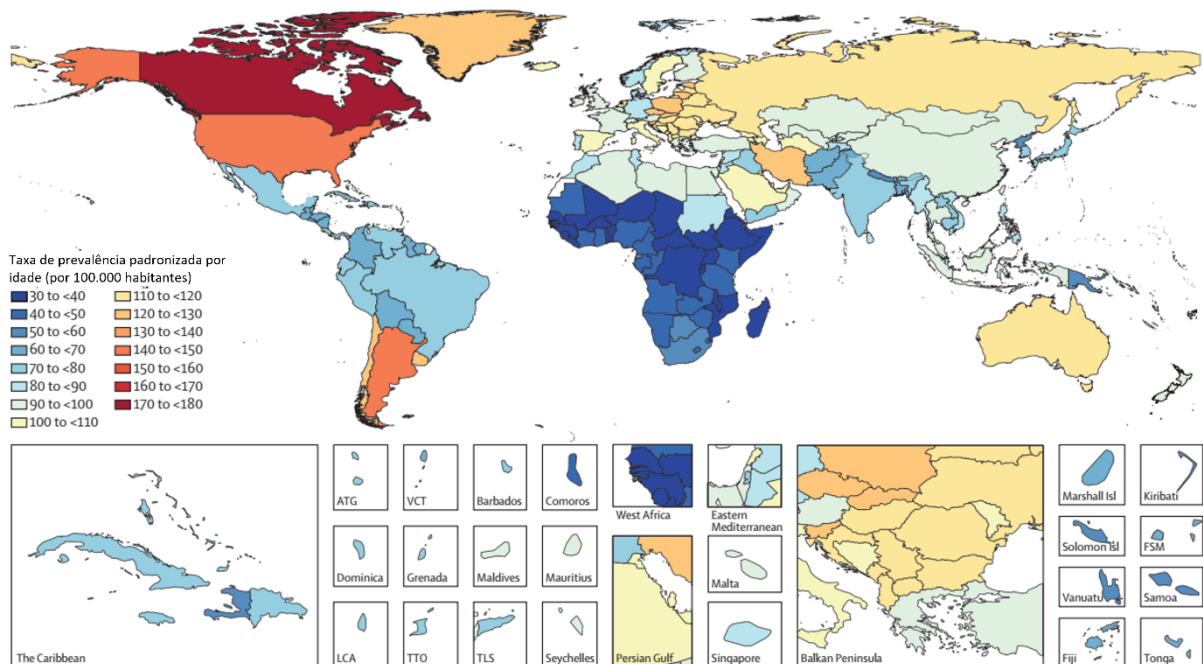
1.2 DOENÇA DE PARKINSON

A DP é uma condição neurodegenerativa progressiva resultante, principalmente, da deterioração de neurônios dopaminérgicos da substância negra pars compacta (SNpc) e via nigroestriatal (Lim *et al.*, 2018; Stewart, 2007). Foi descrita pela primeira vez em 1817 no trabalho científico “An Essay on the Shaking Palsy” por James Parkinson (Parkinson, 2002). No entanto, somente em 1872 foi que Jean-Martin Charcot e seus estudantes descreveram o espectro clínico da doença e nomearam pela primeira vez a condição como “Doença de Parkinson” (Charcot, 1879).

A DP é considerada a segunda doença neurodegenerativa mais comum, ficando atrás somente da DA. É considerada cosmopolita por estar presente em todas as classes sociais e

etnias, acometendo tanto homens quanto mulheres, porém tende a ser mais frequente em homens. De acordo com o estudo Global Burden of Disease (GBD) a incidência de DP em 2017 era de 1,02 milhões (Feigin et al., 2021). A prevalência da DP varia de 1 a 2 por 1.000 indivíduos na população geral e afeta 1% da população com mais de 60 anos, sendo considerada rara antes dos 50 anos e atingindo uma prevalência de 4% nas faixas etárias mais elevadas (Ou et al., 2021). No entanto, o aumento no número de pacientes com DP em todo o mundo entre 1990 e 2016 não pode ser atribuído exclusivamente ao envelhecimento da população, uma vez que as taxas de prevalência global padronizadas por idade aumentaram em 21,7% (IC 95% 18,1–25,3) de 1990 a 2016, em comparação com um aumento de 74,3% (IC 95% 69,2–79,6) nas taxas de prevalência brutas (Figura 1.4). As taxas de prevalência padronizadas por idade da DP variaram mais de cinco vezes entre os países, sendo as taxas mais elevadas geralmente encontradas na América do Norte, e as mais baixas no continente africano (Collaborators, 2018).

Figura 1.4 – Prevalência padronizada por idade da doença de Parkinson por 100.000 habitantes por localização para ambos os sexos, em 2016.



Fonte: Adaptado de Collaborators, 2018.

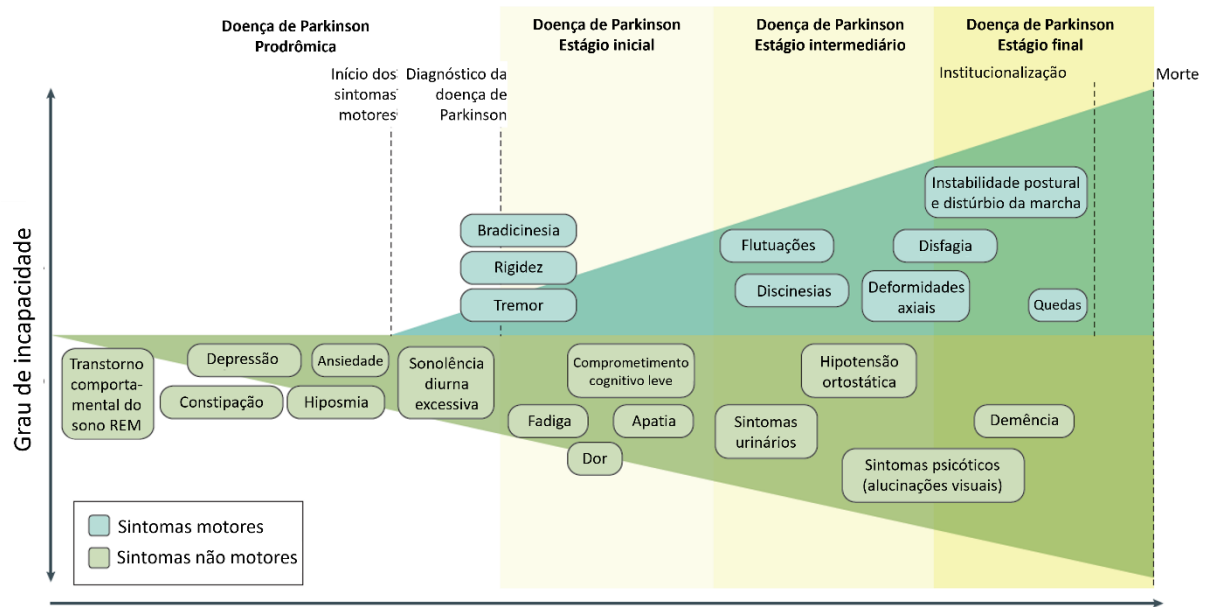
No Brasil, a notificação da DP não é compulsória, o que dificulta a obtenção de dados de prevalência (Barbosa et al., 2006), contudo, um estudo realizado em Minas Gerais estimou que aproximadamente 3,3% dos idosos (acima de 60 anos) sofram da doença no país (Bovolenta & Felício, 2016). O levantamento de informações do DataSUS no ano de 2020, realizada por Ferreira *et al.*, (2022) mostrou que a prevalência da DP no Brasil varia entre 0,28 casos a cada

100.000 habitantes (menos de 49 anos) até 2,97 casos a cada 100.000 habitantes (acima de 80 anos) (Ferreira et al.). Além disso, de acordo com Lampropoulos *et al.* (2022), em um levantamento feito entre 1994 e 2019 a taxa anual de mortalidade relacionada à DP no Brasil variou entre 0,01, em pessoas com menos de 40 anos de idade, até 117,85 em pessoas com mais de 95 anos de idade (Lampropoulos et al., 2022). Baseada em dados do IBGE, Santos (2015) estimou que até 2060 haverá um aumento de 440% nos casos de DP no Brasil (Santos, 2015).

1.2.1 Sintomas da Doença de Parkinson

A DP é clinicamente definida pela presença de bradicinecia e um ou mais de seus sinais cardinais: tremor em repouso e rigidez (Postuma et al., 2015). Além destes, os pacientes podem apresentar, conforme a progressão da doença, marcha arrastada, dificuldade para falar e deglutir (Parkinson, 2002). Os sintomas motores, relacionados a dificuldade de início do movimento, são decorrentes da neurodegeneração dopaminérgica da via nigroestriatal, porém se tornam aparentes somente quando cerca de 70% dos neurônios que compõem esta via já se degeneraram (Postuma & Berg, 2016). Já se sabe que os sintomas motores podem aparecer por volta de 10-20 anos após o início dos danos celulares característicos da DP. Neste período, alguns sintomas não motores podem ser observados e podem piorar com o avanço da doença e pelos tratamentos anti-parkinsonianos (Chaudhuri et al., 2006; Postuma & Berg, 2016; Todorova et al., 2014). Os pacientes frequentemente apresentam problemas neuropsiquiátricos (como depressão, ansiedade e/ou comprometimento cognitivo), distúrbios do sono (insônia, síndrome das pernas inquietas, distúrbios do sono REM), disfunções olfativas e autonômicas (disfunções da bexiga, constipação, disautonomia cardíaca etc.), dor e fadiga (Breger & Fuzzati Armentero, 2019; Kalia & Lang, 2015). Outros sintomas não motores, como a demência, surgem em estágios mais avançados da DP (Chaudhuri et al., 2006; Postuma & Berg, 2016; Schapira et al., 2017) (Figura 1.5).

Figura 1.5 – Sintomas motores e não motores da doença de Parkinson.



Os sintomas não motores associados à DP não estão diretamente relacionados aos processos neurodegenerativos na SNpc e podem depender parcialmente da função hipocampal adequada (Györfi et al., 2017; Marxreiter et al., 2013). O comprometimento da memória declarativa é um achado frequente em pacientes com DP (Carlesimo et al., 2012), assim como, a atrofia do hipocampo (Bruck et al., 2004; Carlesimo et al., 2012; Churchyard & Lees, 1997; Riekkinen et al., 1998). Ainda, as alterações neurológicas em pacientes com DP têm sido associadas não somente à degeneração de células dopaminérgicas, mas também a outras populações neuronais. A dopamina promove a sobrevivência de células recém-nascidas no GD (Takamura et al., 2014) e a ativação do receptor de dopamina aumenta a proliferação e a sobrevivência celular de neurônios recém gerados (Winner et al., 2009). Esses achados implicam que o prejuízo na neurogênese hipocampal adulta pode estar envolvido nos sintomas não motores da DP.

Evidências de alterações hipocampais também são encontradas em modelos animais para o estudo da DP. Por exemplo, os camundongos transgênicos A53T e A30P, exibem não apenas disfunção motora, mas também comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso, os quais podem estar relacionados a disfunções nos terminais noradrenérgicos do GD hipocampal causadas pela alfa-sinucleína (α -syn) (Farrell et al., 2014; Kim et al., 2014; Yavich et al., 2006). Outro modelo para DP, o camundongo transgênico Thy1- α Syn, apresenta prejuízos na função hipocampal caracterizados por déficits de memória e aprendizagem (Chesselet et al., 2012; Ferreira et al., 2017; Ferreira et al.; Magen et al., 2012). Além disso, uma diminuição

significativa no número de células progenitoras neurais foi detectada na ZSG do GD de camundongos transgênicos α -syn A53T (Crews et al., 2008) e LRRK2-G2019S (Winner et al., 2011), bem como dendritogênese prejudicada de neuroblastos no GD (Kohl et al., 2016). Essa redução na neurogênese hipocampal também está presente em modelos de DP induzidos por toxinas (Singh et al., 2017; Sung, 2015).

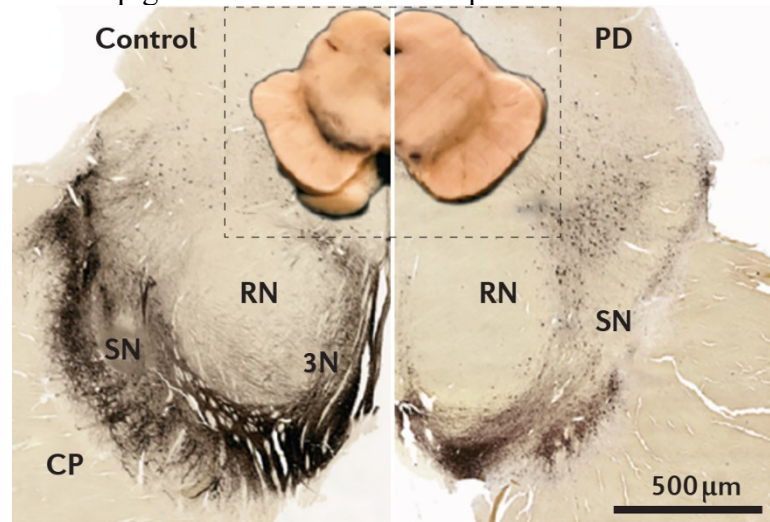
O desempenho prejudicado do hipocampo também está subjacente às comorbidades psiquiátricas e ao comprometimento cognitivo em pacientes com DP. Em estudos *pós-morte* humanos de DP, foi observado o comprometimento da neurogênese adulta, com pacientes apresentando atrofia do hipocampo (Bruck et al., 2004). Além disso, marcadores de proliferação celular e diferenciação neuronal hipocampal são reduzidos no cérebro de pacientes com DP (Camicioli et al., 2003; Hoglinger et al., 2004; Laakso et al., 1996; Regensburger et al., 2014; Riekkinen et al., 1998). Hoglinger *et al* (2004) demonstrou que o número de células precursoras neurais na zona subgranular é reduzido em cérebros *pós-morte* de indivíduos com DP provavelmente em consequência da deservação dopaminérgica (Hoglinger et al., 2004). Terrero-Roncal *et al* (2021) estudaram amostras humanas *pós-morte* de pacientes com DP e descobriram que as células granulares dentadas nascidas em adultos apresentaram desenvolvimento morfológico anormal e alterações na expressão de marcadores de diferenciação (Terreros-Roncal et al., 2021). O estudo de Terreros-Roncal demonstrou que pacientes com DP apresentaram aumento generalizado em diversas populações de células neurogênicas (neuroblastos proliferativos positivos para HuC/HuD e células granulares imaturas positivas para DCX), as quais exibiam prejuízos na maturação. Além disso, também apresentaram expressão reduzida de NeuN e astrogliose do GD, o que indica alteração mais grave na integridade do nicho neurogênico (Terreros-Roncal et al., 2021). O prejuízo no processo de neurogênese do hipocampo nos modelos animais e em tecido *pós-morte* de pacientes com DP ressaltam sua relevância para as manifestações neuropsiquiátricas observadas nesta doença, sendo necessário detalhamento dessas alterações.

1.2.2 Neuropatologia da Doença de Parkinson

A alteração morfológica encefálica característica da DP aparece na seção transversal do tronco cerebral com perda de áreas pigmentadas escuras na SNpc e no locus coeruleus (Figura 1.6). Essa perda está correlacionada com a morte dos neurônios dopaminérgicos na SNpc e neurônios noradrenérgicos no locus coeruleus. A morte dos neurônios dopaminérgicos na via nigroestriatal e a consequente redução dos níveis de dopamina no estriado representam as bases

neurobiológicas para o aparecimento dos sintomas motores da DP, caracterizados por bradicinesia, rigidez e tremor de repouso (Schapira et al., 2017). Além da morte neuronal, os encéfalos de pacientes com DP apresentam também agregados proteicos, compostos em sua maioria pelo acúmulo da proteína α -syn, característica do grupo de doenças conhecidas como sinucleopatias. Estes agregados proteicos são chamados de corpos de Lewy (Parkinson, 2002; Przedborski, 2017) e estão presentes em diversas regiões encefálicas envolvidas no surgimento dos sintomas não motores da DP, que podem ocorrer antes do aparecimento dos sintomas motores clássicos (Chaudhuri et al., 2006; Schapira et al., 2017).

Figura 1.6 – Representação esquemática de uma seção transversal do tronco cerebral com perda de áreas pigmentadas escuras na SNpc evidenciada a direita na DP.



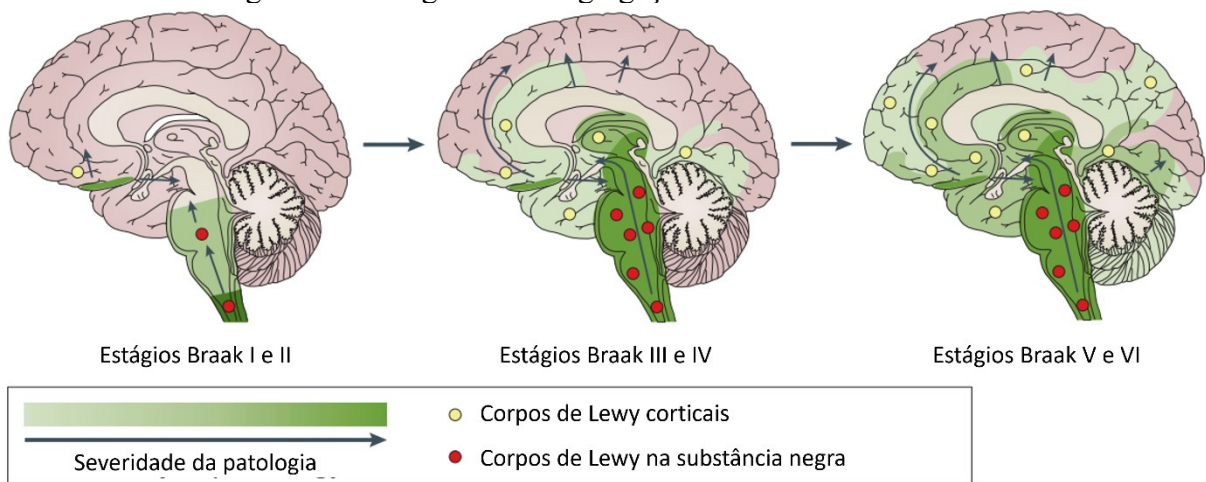
Legenda: 3N, 3ª fibras nervosas; CP, pedúnculo cerebral; RN, núcleo vermelho, PD, doença de Parkinson. Fonte: Poewe *et al*, 2017.

A α -syn é uma pequena proteína de 14,5 kDa e 140 aminoácidos, que é dividida em três sub-regiões: região N-terminal, altamente conservada, contém 7, 11 repetições de resíduos que formam uma hélice após a ligação à membrana, as seis mutações missense conhecidas que causam DP familiar estão dentro desta região. Região hidrofóbica central (componente não A β ou domínio NAC): associada a uma maior propensão da proteína em formar fibrilas. Cauda ácida: contém principalmente resíduos carregados negativamente e amplamente desdobrados (Wales et al., 2013). A função fisiológica da α -syn, assim como sua estrutura nativa, não é totalmente compreendida, com inúmeras funções propostas (Emamzadeh, 2016). Uma das principais funções da α -syn é o envolvimento da proteína na liberação de neurotransmissores, devido à sua localização nos terminais pré-sinápticos e à sua propensão de se ligar a pequenas membranas vesiculares esféricas (Bendor et al., 2013; Wales et al., 2013). Há uma hipótese de

que a α -syn se liga às vesículas sinápticas para modular o tráfego vesicular dentro da sinapse (Emamzadeh, 2016). A α -syn também está presente no núcleo dos neurônios, o que poderia sugerir que ela desempenha funções celulares adicionais além da sinapse, como na regulação transcricional (Maroteaux et al., 1988; Pinho et al., 2019; Surguchov, 2015; Wales et al., 2013).

Estudos realizados por Braak demonstraram que as inclusões de α -syn se espalham por diferentes partes do encéfalo em uma ordem previsível, sendo possível distinguir 6 estágios de progressão (Braak et al., 2003; Goedert et al., 2013). As inclusões de α -syn ocorrem em neurônios colinérgicos e monoaminérgicos do tronco cerebral inferior em casos assintomáticos (estágio I e estágio II de Braak), infiltram neurônios semelhantes no mesencéfalo e no prosencéfalo basal naqueles com sintomas motores da DP (estágio III e estágio IV de Braak), e depois são encontrados posteriormente nas regiões límbicas e neocorticais do cérebro com progressão da doença (estágio V e VI de Braak) (Figura 1.7).

Figura 1.7 - Progressão da agregação de α -sinucleína na DP.



Fonte: Adaptado de Poewe *et al*, 2017.

1.2.3 Tratamento da Doença de Parkinson

Usualmente os pacientes com DP recebem um tratamento sintomático, focado na melhora dos sinais e sintomas motores (tremor, rigidez, bradicinesia) e não motores (por exemplo, constipação, cognição, humor, sono) (Armstrong & Okun, 2020). O manejo dos pacientes pode diferir dependendo da gravidade e duração da doença (Zesiewicz, 2019).

A principal estratégia de tratamento para DP é a reposição de dopamina, sendo a levodopa o medicamento mais eficaz disponível para tratar os sintomas motores, porém em alguns casos outros medicamentos, como por exemplo, inibidores da monoamina oxidase tipo B (MAOIBs), amantadina, anticolinérgicos, β -bloqueadores ou agonistas da dopamina podem

ser iniciados primeiro para evitar complicações motoras relacionadas à levodopa (Connolly & Fox, 2014; Zesiewicz, 2019). Os sintomas não motores requerem abordagens não-dopaminérgicas, como inibidores seletivos da recaptação de serotonina para sintomas psiquiátricos, inibidores da colinesterase para cognição. A terapia de reabilitação e os exercícios complementam os tratamentos farmacológicos. Indivíduos que apresentam complicações, como piora dos sintomas e comprometimento funcional como tremor resistente à medicação e discinesias, se beneficiam de tratamentos avançados, como terapia com suspensão enteral de levodopa-carbidopa ou estimulação cerebral profunda (Armstrong & Okun, 2020).

Entretanto essas intervenções terapêuticas disponíveis não tem o poder de prevenir ou parar a progressão da DP, sendo então necessária, a busca de novas abordagens para o tratamento. O conhecimento dos efeitos da DP em outras regiões e funções do encéfalo, além dos núcleos da base, como já é bastante estudado, tem o potencial de criação de diferentes intervenções que possam trazer mais qualidade de vida para os pacientes. Os efeitos neurotóxicos da α -syn sugerem que pode haver um prejuízo neurogênese adulta, podendo ser considerada um alvo para a prevenção da perda celular e restauração das funções neurológicas. Assim, a estimulação da neurogênese endógena ou terapia de substituição celular com neurônios diferenciados derivados de células-tronco levanta novas esperanças para o desenvolvimento de tecnologias eficazes e seguras para o tratamento da neurodegeneração da DP (Salmina et al., 2021).

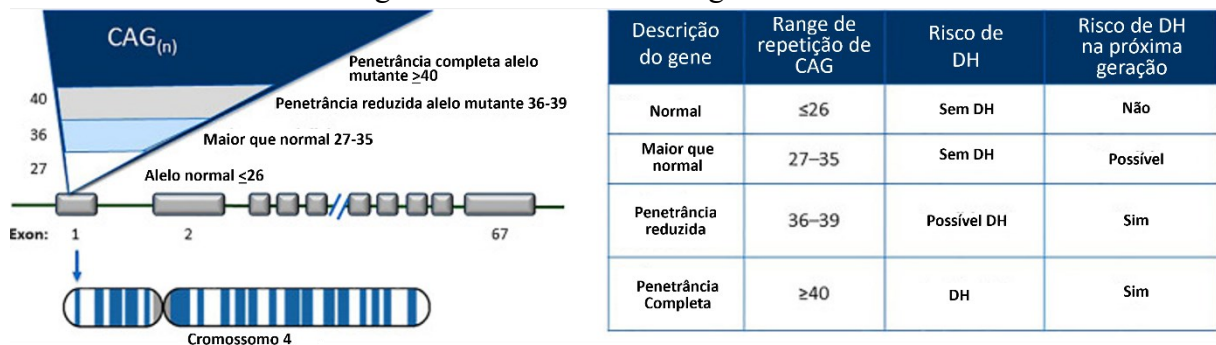
1.3 DOENÇA DE HUNTINGTON

A definição clássica da DH, descrita por George Huntington em seu ensaio “*On Chorea*” de 1872, é uma doença do sistema nervoso com coreia hereditária de início na idade adulta (Huntington, 1872). De acordo com o grupo de pesquisa colaborativa da Doença de Huntington, a DH é a doença neurodegenerativa autossômica dominante mais comum causada por uma repetição de citosina-adenina-guanina (CAG) expandida e instável no gene da huntingtina (HTT) (GROUP, 1993). Esse gene codifica a proteína huntingtina (htt) com um trecho de poliglutamina (polyQ) localizado no terminal N e resulta em disfunção motora, déficits cognitivos e distúrbios psiquiátricos (MacDonald et al., 1993).

O início da DH na idade adulta significa que, na maioria das vezes, os sintomas geralmente se tornam perceptíveis na meia-idade, entre 30 e 55 anos. No entanto, podem começar entre 1 e 80 anos, dependendo de fatores genéticos e ambientais. O comprimento de repetição do trinucleotídeo CAG é o principal preditor da gravidade da doença e influencia a

variabilidade na idade de início da DH (Wexler et al., 2004). Quando o comprimento da repetição CAG, no exon 1 do gene HTT (também chamado de gene IT15) localizado no cromossomo 4p16.3, está acima do valor crítico de 39, a doença certamente se desenvolverá. A penetrância reduzida é observada em indivíduos com 36 a 39 repetições no gene HTT (Figura 1.8). O alelo está associado à doença, conseqüentemente, quanto maior o número de repetições, mais cedo os sintomas se iniciam (Langbehn et al., 2004). Além disso, a expansão das repetições é instável, resultando em alongamento e um início mais precoce em gerações sucessivas (Schöls et al., 2004). O comprimento da expansão é responsável por 50 a 70% da variância na idade de início, que também é condicionada por outros fatores genéticos ou ambientais (Langbehn et al., 2004).

Figura 1.8 – Proteína huntingtina mutada.



Fonte: Adaptado de (Gatto et al., 2020).

Apesar de ser uma doença rara, a DH é a mais comum das doenças autossômicas dominantes do adulto (Walker, 2007). As estimativas da prevalência da DH sugerem uma diferença de mais de dez vezes entre as regiões do mundo (Rawlins et al., 2016). Em geral a prevalência é estável, afetando 4 a 10 pessoas por 100.000 habitantes (Medina et al., 2022). As exceções existem nas populações onde se verifica o efeito fundador, como na Tasmânia e na Venezuela, na região do Lago Maracaibo (Avila-Giron, 1973). Nesses casos a prevalência chega a cerca de 12 por 100.000 habitantes na Tasmânia e de 700 por 100.000 habitantes na Venezuela (Pridmore, 1990). A incidência da DH também varia entre as diferentes raças, de acordo com Rawlins (2016), taxas mais baixas foram encontradas em asiáticos e as mais altas entre os caucasianos (Rawlins et al., 2016). Entre os negros as taxas de prevalência são muito baixas variando entre 0,5 a cada 100.000 habitantes na África do Sul (Hayden et al., 1980) e 1,84 por 100.000 habitantes no Zimbábue (Scrimgeour & Pfumojena, 1992) Na América do Norte, Folstein e colaboradores (1987) relataram prevalência entre negros de 6,37 por 100.000 e em brancos de 4,79 por 100.000 (Folstein et al., 1987). No Brasil, segundo a Associação

Brasil Huntington (ABH), ainda não existem estatísticas oficiais, mas estimativas indicam que o número de pessoas portadoras do gene da DH varie entre 13 e 19 mil. De acordo com Castilhos e colaboradores (2019), a prevalência mínima de DH no estado do Rio Grande do Sul foi estimada em 1,85 por 100.000 habitantes (Castilhos et al., 2019). Por outro lado, um estudo de um aglomerado geográfico da DH em um município da Zona da Mata Brasileira, em Minas Gerais, encontrou uma taxa de prevalência mínima de 7,2 por 10.000 pessoas (Agostinho et al., 2015). Contudo esses dados não representam a prevalência geral da doença no Brasil, certamente uma pesquisa ampliada no país levará a uma estimativa de prevalência diferente.

1.3.1 Sintomas da Doença de Huntington

Uma tríade de sintomas é apresentada na DH: déficits cognitivos, distúrbios psiquiátricos e disfunções motoras. Além dos sintomas relativos ao SNC, distúrbios periféricos também estão presentes. Devido à heterogeneidade fenotípica clínica da DH, a idade em que os sintomas motores aparecem é considerada a idade de "início da doença" e divide o curso da DH em períodos pré-manifesto ou pré-motor e manifesto (Ross et al., 2014). Isso significa que, na prática clínica, os pacientes, na maioria dos casos, são diagnosticados com DH somente quando a coreia está presente e os sinais motores são proeminentes (Marshall et al., 2007) (Figura 1.9).

As alterações motoras, associadas à perda de coordenação dos movimentos voluntários, progridem lentamente. Os movimentos involuntários dos músculos (especialmente os membros superiores, inferiores e faciais) tornam-se mais graves, o tremor, a distonia, assim como a falta de coordenação motora e a lentidão para iniciar os movimentos evoluem de hipercinesia para hipocinesia e os pacientes perdem gradualmente a habilidade de movimentos de fala e deglutição em estágios mais avançados da doença (Ross & Tabrizi, 2011; Van Dellen et al., 2005). No entanto, a fase pré-motora, com aparecimento de sintomas comportamentais pode preceder a coreia em até 10 anos (Marshall et al., 2007).

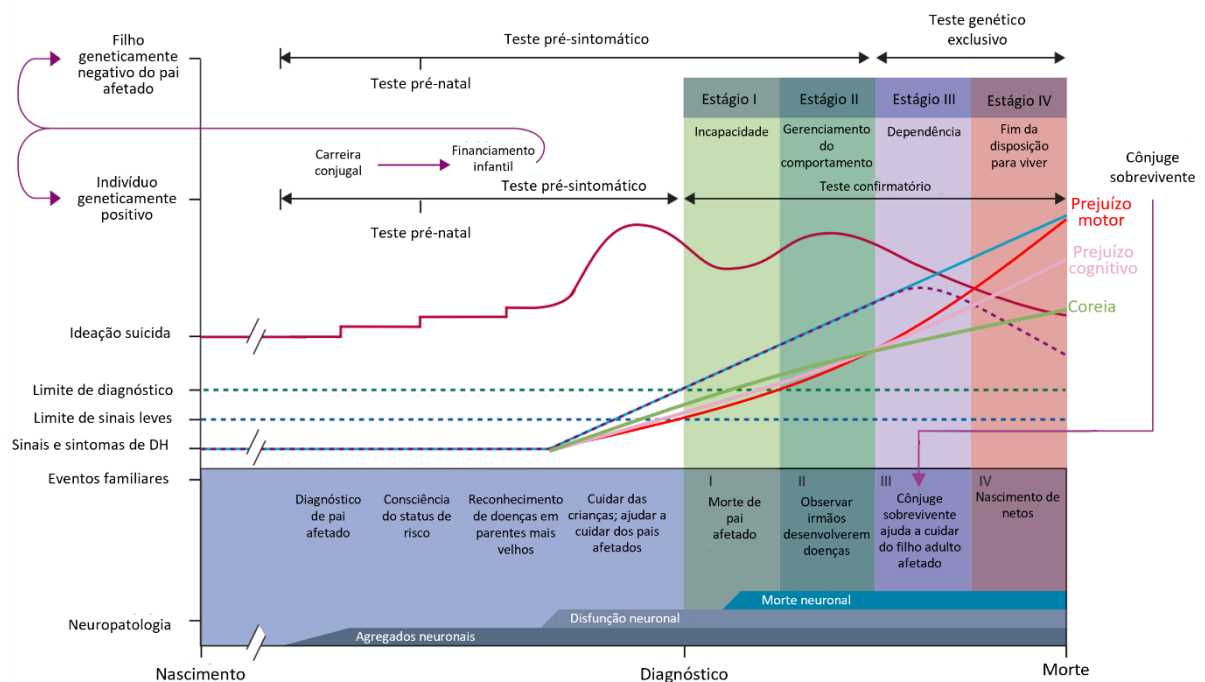
As manifestações psiquiátricas são muito frequentes, entre 33 e 76% dos casos. Depressão e apatia são comuns, assim como ansiedade e irritabilidade, que são sintomas dos estágios iniciais e permanecem durante todo o curso da doença. O risco de suicídio aumenta nas fases iniciais da doença e em pacientes assintomáticos (van Duijn et al., 2014). Depressão, isolamento, comprometimento cognitivo inicial e idade jovem parecem funcionar como fatores de risco para o suicídio (Orth et al., 2011). Segundo Farrer (1986), o suicídio na DH é cinco vezes mais frequente do que na população em geral, e estima-se que, ao longo da doença, mais de 25% dos afetados tenham comportamentos suicidas (Farrer, 1986; Paoli et al., 2017).

Agressão, desinibição, impulsividade, distúrbios sexuais, psicose, sintomas obsessivos e compulsivos também podem ser observados na fase pré-motora (Paoli et al., 2017).

Diversos estudos clínicos indicam uma série de prejuízos cognitivos que comprometem a função executiva, a atenção, a memória episódica, a memória de trabalho, a aprendizagem e funções perceptivo-sensoriais na DH (Papoutsi et al., 2014). O distúrbio cognitivo pode ser visto muitos anos antes do início dos sintomas motores e segue um padrão subcortical caracterizado por dificuldade do reconhecimento de emoção, de velocidade de processamento, de função visuoespacial e executiva (McColgan & Tabrizi, 2018; Papoutsi et al., 2014; Stout et al., 2011).

Evidências emergentes sugerem que a patogênese periférica também ocorre na DH em órgãos, incluindo coração, músculo esquelético, tireóide, fígado e trato digestivo. A perda de peso é frequentemente observada em indivíduos afetados, começando de forma pré-sintomática e sendo mantida durante os estágios sintomáticos da doença (Jiang et al., 2023).

Figura 1.9 – Ciclo de vida na doença de Huntington.

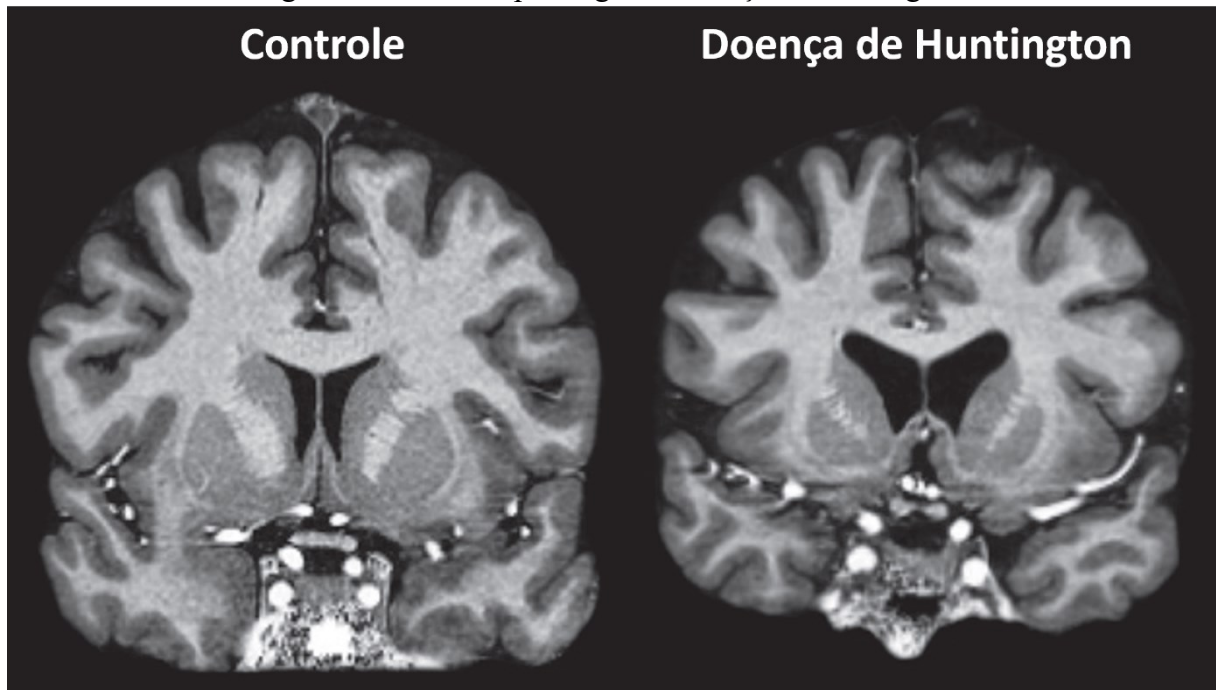


Legenda: Esta figura descreve a evolução sequencial dos acontecimentos e a natureza recorrente da doença de Huntington na perspectiva de uma criança nascida de um progenitor afetado. A linha do tempo dos eventos familiares mostra eventos que podem ocorrer em sequências diferentes para indivíduos diferentes; independentemente do momento, tais eventos podem ter implicações clinicamente significativas. Fonte: Adaptado de Walker 2007.

1.3.2 Neuropatologia da Doença de Huntington

A proteína htt é expressa em todo o corpo, fazendo várias interações, porém suas funções não são totalmente definidas (Saudou & Humbert, 2016). Sabe-se que a htt é essencial durante o desenvolvimento, além disso, ela estimula a transcrição do gene do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, sigla em inglês para *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) através da inibição de um elemento silenciador (elemento repressor 1, também conhecido como elemento silenciador restritivo de neurônios, NRSE) localizado no promotor do gene BDNF. Através de um mecanismo semelhante, a htt controla a transcrição de muitos outros genes neuronais que transportam um RE1/NRSE nos seus promotores. A htt de tipo selvagem também regula o tráfego axonal rápido, o transporte de vesículas (incluindo o transporte de BDNF) e a transmissão sináptica e por isso tem um papel crucial na função cerebral normal (Cattaneo et al., 2005). Sendo assim, a falta da htt por si só levaria a perda de funções. No entanto, a DH não é causada por uma simples perda de função do gene da HTT (Cattaneo et al., 2005) e sim por um ganho de função tóxica da proteína htt mutante (mhtt) que ocorre devido a uma expansão polyQ que forma uma conformação anormal (Poirier et al., 2005; Ross & Tabrizi, 2011). A mhtt é mais suscetível à proteólise, em relação à proteína htt do tipo selvagem e seu truncamento é conhecido por promover a geração e agregação de fragmentos N-terminais (Lunkes & Mandel, 1998; Walker, 2007; Wellington et al., 2000). Estudos em tecidos *pós-morte* de indivíduos com a DH revelam atrofia disseminada do caudado e putâmen com uma perda neural ocorrendo ao longo de um gradiente caudo-rostral, dorso-ventral e médio-lateral, também afetando o globo GP e o núcleo accumbens em menor extensão (Vonsattel & DiFiglia, 1998) (Figura 1.10). O estriado é suscetível aos efeitos de mhtt, particularmente, os neurônios espinhosos médios GABAérgico (MSNs, do inglês *medium spiny neurons*), que se projetam para o GP e SN (McColgan & Tabrizi, 2018; Radulescu, 2017). Isso leva a um aumento significativo do volume ventricular lateral. Além disso, no decorrer da DH outras regiões cerebrais também são afetadas, como hipocampo, amígdala, tálamo e tronco cerebral (Halliday et al., 1998; Petrella et al., 2018; Rosas et al., 2003).

Figura 1.10 – Neuropatologia da doença de Huntington.



Legenda: Atrofia na doença prodrômica de Huntington mostrada por ressonância magnética. Atrofia bilateral do caudado e do putâmen e um aumento concomitante no tamanho do ventrículo lateral são observados no portador do gene em comparação com o controle. Este paciente prodrômico apresenta apenas sinais e sintomas sutis que são insuficientes para diagnosticar a DH. Há também alterações sutis na substância cinzenta cortical e atrofia geral da substância branca subcortical. Fonte: Adaptado de (Bates et al., 2015).

Embora os neurônios tenham sido as principais células estudadas, os astrócitos também contribuem para o processo patológico da DH (Khakh et al., 2017). Os astrócitos são células responsivas a insultos no SNC, um processo que é conhecido como astrogliose (Sofroniew, 2015). Nesse processo, alterações podem ser observadas no astrócito e incluem aumento na proliferação, alterações morfológicas (ex.: tamanho do citosol), expressão genética diferenciada (ex.: aumento da expressão de GFAP) e, conseqüentemente, alterações funcionais (Sofroniew 2015). A astrogliose foi observada em vários modelos animais da DH e também em humanos com esta condição (Wilton & Stevens, 2020). A resposta astrocitária que ocorre na astrogliose é associada a funções benéficas essenciais, no entanto, em circunstâncias específicas pode levar a efeitos nocivos que podem contribuir para distúrbios no SNC, um processo chamado de astrocitopatia (Sofroniew, 2015). O papel da astrogliose na progressão da DH não é bem compreendido. No entanto, algumas evidências apontam que nesta condição há um desequilíbrio de funções neuroprotetoras e neurotóxicas, favorecendo a neurotoxicidade (Palpagama et al., 2019). Os astrócitos apresentam algumas características específicas nesta condição. Assim, como em neurônios, a mHtt também é expressa e agregada em astrócitos. Além disso, estudos sugerem que existe uma regulação negativa dos transportadores de glutamato GLT-1, um transportador expresso na membrana dos astrócitos que captura e

internaliza o glutamato presente na fenda sináptica. O resultado dessa regulação negativa é absorção prejudicada de glutamato e excitotoxicidade, o que pode contribuir para o fenótipo observado (Palpagama *et al.* 2019). Diante de várias características alteradas nos astrócitos na DH, verifica-se que estes podem ser o alvo de novas terapias. Ao menos em modelos animais para DH, o transplante de astrócitos já se mostrou benéfico (Khakh *et al.*, 2017; Wilton & Stevens, 2020).

Muito da pesquisa em Huntington tem focado na degeneração estriatal que está relacionada ao componente motor da DH. Enquanto outras regiões encefálicas têm recebido menos atenção, pacientes com a DH apresentam perda celular em regiões não estriatais, incluindo o hipocampo (DiFiglia *et al.*, 1997; Halliday *et al.*, 1998; Rosas *et al.*, 2003; Spargo *et al.*, 1993). Estudos pré-clínicos têm relatado alterações na plasticidade hipocampal em diferentes modelos da DH (Nithianantharajah *et al.*, 2008; Zuccato *et al.*, 2010) e essas alterações são acompanhadas por comprometimento na performance cognitiva (Ciamei & Morton, 2008) e no desenvolvimento do fenótipo depressivo (Plácido *et al.*, 2023). Além disso, uma redução na neurogênese hipocampal está presente muito antes do aparecimento dos sintomas motores em diferentes modelos transgênicos da DH (da Fonsêca *et al.*, 2018; Lazic *et al.*, 2004; Simpson *et al.*, 2011). Esta redução parece ter um impacto funcional uma vez que a recuperação dos déficits neurogênicos com inibidores seletivos da recaptação de serotonina como a fluoxetina (Grote *et al.*, 2005) e a sertralina (Peng *et al.*, 2008) resultou numa melhoria do fenótipo característico de vários modelos transgênicos da DH, nomeadamente das linhas R6/1, R6/2, e N171-82Q (de Paula Nascimento-Castro *et al.*, 2018; W. Duan *et al.*, 2008; Grote *et al.*, 2005; Peng *et al.*, 2008).

1.3.3 Tratamento da DH

Infelizmente, até o momento, nenhuma cura eficaz foi elucidada para lidar com as causas da DH, embora tenham sido descobertas algumas estratégias que visam reduzir a manifestação da doença nos pacientes acometidos (Eje *et al.*, 2023). O tratamento da DH é composto por três categorias principais de medicamentos para controlar sintomas como depressão e ansiedade, suplementos alimentares para manter o peso e um estilo de vida saudável e terapias incluindo física, cognitiva e ocupacional para manter o movimento físico e a fala no nível certo, porém este tratamento não se concentra na causa da doença (Qureshi *et al.*, 2022). A tetrabenazina (TBZ) é o primeiro medicamento aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) para a DH, além disso a deutetrabenazina também já é aprovada pela FDA. O TBZ e a

deutetrabenazina tem como alvo a via dopaminérgica através da inibição do transportador vesicular de monoamina (inibidor VMAT2), resultando na diminuição da biodisponibilidade da dopamina nas sinapses e na redução da sinalização da dopamina. Eles são bastante eficazes na redução dos movimentos espasmódicos e involuntários com possíveis efeitos colaterais, como tontura, insônia e inquietação (Kim et al., 2021). No entanto, muitos outros medicamentos aprovados para outros sintomas (depressão, psicose, DP, DA) foram testados e são usados para a DH. Esse uso é chamado de prescrição off-label. Tranquilizantes como clonazepam (Klonopin) e drogas antipsicóticas como haloperidol e clozapina podem ajudar a controlar movimentos, explosões violentas e alucinações. Embora esses medicamentos possam ser úteis, um efeito colateral comum é a sedação e, em alguns casos, esses medicamentos podem causar rigidez. Vários medicamentos, incluindo fluoxetina, sertralina e nortriptilina, podem ajudar a controlar a depressão e os rituais obsessivo-compulsivos que algumas pessoas com doença de Huntington desenvolvem. Medicamentos como o lítio podem ajudar a controlar emoções extremas e mudanças de humor. Os efeitos colaterais de muitos dos medicamentos usados para tratar os sintomas da DH podem incluir hiperexcitabilidade, fadiga e inquietação. A terapia fonoaudiológica pode ajudar a amenizar problemas com deglutição, o prejuízo da fala e a dificuldade em expressar pensamentos complexos. Os pacientes de fisioterapia e terapia ocupacional encontram dificuldades para caminhar e se mover, a fisioterapia pode ajudar a manter os músculos funcionais e mais fortes. A terapia ocupacional pode auxiliar o paciente na alimentação, vestuário e higiene pessoal. Não há cura para a DH, mas os medicamentos acima mencionados, juntamente com os cuidados de suporte, podem aliviar muitos sintomas da DH e ajudar os pacientes a levar uma vida o mais normal possível. Suplementos alimentares de alto teor calórico pode ajudar a manter o peso e problemas comportamentais (Qureshi et al., 2022).

Com o objetivo de encontrar uma cura para a DH algumas pesquisas focam na compreensão dos mecanismos moleculares causadas pela mutação do gene HTT e são altamente promissoras (Palaiogeorgou et al., 2023). Uma nova análise de dados de ensaios clínicos indica que a terapia com pridopidina pode retardar o declínio da capacidade funcional total em pessoas com DH. A pridopidina aumenta a disponibilidade do BDNF corticoestriatal por meio da ativação do S1R, levando a efeitos neuroprotetores (Lenoir et al., 2022). Estratégias de modificação da doença desenvolvidas para reduzir a expressão de Htt estão sendo investigadas como um tratamento potencial para a DH (Kanazawa, 2006). Algumas abordagens incluem o uso de interferência do ácido ribonucleico (RNAi) para silenciamento de genes, CRISPR-Cas9 (Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Espaçadas em Associação com a nuclease Cas9, do inglês *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) para

tesoura molecular, oligonucleotídeo anti-sentido (ASO, do inglês *antisense oligonucleotides*) também conhecidas como terapias de redução visando a mensagem genética da huntingtina, o mRNA. Ainda em estudos a droga AMT-130 transporta um micro-ARN artificial especificamente concebido para silenciar o gene da huntingtina. O direcionamento adicional para o “RNA”, que é um intermediário entre a informação no gene da DH e a proteína huntingtina, deu resultados promissores (Tabrizi et al., 2018).

No entanto, os tratamentos atuais para HD ainda são limitados. As terapias aplicadas centram-se no tratamento dos sintomas, uma vez que ainda não estão disponíveis terapias neuroprotetoras para prevenir o aparecimento da doença e atenuar a progressão da mesma (Palaiogeorgou et al., 2023).

1.4 NEUROPLASTICIDADE NAS DOENÇAS DE PARKINSON E DE HUNTINGTON

O termo plasticidade foi definido em 1890 por Willian James como a “posse de uma estrutura fraca o suficiente para ceder a uma influência, mas, forte o suficiente para não ceder de uma vez” (James, 1890). A neuroplasticidade pode ser conceituada como alterações funcionais e estruturais no sistema nervoso permitindo adaptação ao meio ambiente, aprendizagem, memória, bem como reabilitação após lesão cerebral (James, 1890; Spolidoro et al., 2009). A neuroplasticidade ocorre tanto no desenvolvimento, quanto na vida adulta, de três formas diferentes: funcional, ocorrendo mediante alterações na fisiologia neuronal e sináptica; morfológica ou estrutural, implicando em alterações nos axônios, dendritos e nas sinapses; e comportamental, através de mudanças relacionadas com os fenômenos de aprendizagem e memória (Lent, 2015). As mudanças comportamentais refletem diretamente o funcionamento neural e são o produto das mudanças funcionais e morfológicas (Lent, 2010).

A plasticidade funcional ou sináptica ocorre em neurônios hipocampais maduros sob a forma de fortalecimento, enfraquecimento e/ou remodelamento das sinapses existentes. A estimulação elétrica de alta frequência em um neurônio pré-sináptico hipocampal durante alguns segundos produz um aumento na magnitude da resposta pós-sináptica do neurônio estimulado. Esse fenômeno é conhecido como potenciação de longa duração (LTP, do inglês, *long-term potentiation*) (Bliss & Lomo, 1973). A LTP corresponde a um processo de facilitação do sistema nervoso, cujo estabelecimento depende da duração e da frequência do estímulo repetitivo, ou numa analogia, depende do ‘treinamento’, portanto de um processo de ‘aprendizagem’. Outro tipo de plasticidade sináptica é a depressão de longa duração (LTD, do inglês, *long-term depression*), considerado um modelo de ‘esquecimento’ por reduzir a

capacidade de um conjunto de sinapses de provocar uma resposta (Bruel-Jungerman et al., 2007; Castro et al., 2017; Fuchs & Flügge, 2014).

A plasticidade morfológica ou estrutural pode ocorrer ao longo da vida adulta. Alterações morfológicas, em número e volume, podem ocorrer nas sinapses, nos espinhos dendríticos e nas próprias células neurais (Fuchs & Flügge, 2014). Regiões selecionadas do cérebro dos mamíferos mantêm a capacidade de gerar novos neurônios ao longo da vida, um processo denominado neurogênese adulta. Essas regiões incluem a zona subventricular (ZSV) dos ventrículos laterais e a zona subgranular (ZSG) do giro dentado (GD) hipocampal (Gage, 2002).

O estudo da neurogênese hipocampal adulta é relevante para muitas mudanças relacionadas à idade que afetam o hipocampo, seja no envelhecimento cognitivo normal, nas doenças neurodegenerativas e nas tentativas de melhorar as habilidades cognitivas. As células-tronco neurais adultas foram propostas como uma fonte endógena de células saudáveis ou para o tratamento de doenças neurodegenerativas (Gil-Mohapel et al., 2010; Lie et al., 2004; Mohapel & Brundin, 2004). Ao longo da vida, a neurogênese adulta contribui para a reserva neural, que é o potencial para a plasticidade estrutural que permite a compensação em face do declínio cognitivo relacionado à idade ou à doença (Klempin & Kempermann, 2007). O processo de neurogênese adulta parece vital para algumas formas de funcionamento cognitivo normal, como aprendizagem espacial e memória, e estudos recentes demonstraram que a neurogênese é interrompida em uma série de distúrbios neurodegenerativos que incluem: a doença de Alzheimer (DA) (Jin et al., 2004; Li et al., 2008); a DP (Crews et al., 2008; Hoglinger et al., 2004); e a DH (Curtis et al., 2003; Gil et al., 2004; Lazic et al., 2004; Lazic et al., 2006; Terreros-Roncal et al., 2021). Alterações na estrutura e função do hipocampo são subjacentes ao declínio cognitivo e aos sintomas psiquiátricos observados em pacientes com várias doenças neurodegenerativas (Terreros-Roncal et al., 2021). Portanto, uma melhor compreensão dos mecanismos que regem a neuroplasticidade e como ela é afetada por doenças neurodegenerativas ajudaria a melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

1.4.1 Neurogênese Hipocampal Adulta

A neurogênese é o processo de geração de novos neurônios a partir de células tronco neurais ou de células progenitoras. Na ZSG do GD do hipocampo, células progenitoras em divisão dão origem a células-filhas que se diferenciam, migram e formam novos neurônios granulares que se integram funcionalmente à citoarquitetura existente (van Praag et al., 2005),

estendendo as projeções axonais para a região CA3 do hipocampo (Cameron & McKay, 1998) e projeções dendríticas em direção à camada molecular (Kempermann et al., 2004). A maioria das células no SNC são geradas durante o período embrionário e no período pós-natal precoce. De acordo com os preceitos de Ramon Y Cajal (1914) acreditava-se que o SNC adulto não poderia gerar novos neurônios, pois seria algo fixo, sem capacidade de regeneração (Ramon y Cajal, 1914). Contudo, desde a década de 60 estudos já demonstravam que esse processo pode ocorrer em roedores adultos (Altman, 1962; Altman & Das, 1965). A dúvida se esse fenômeno poderia ocorrer também em humanos permaneceu até 1998, quando o estudo de Eriksson *et al* (1998) demonstrou a ocorrência de neurônios formados na idade adulta. Utilizando tecido humano *pós-morte*, Eriksson e colaboradores observaram neurônios adultos marcados com BrDU, que havia sido aplicado nos indivíduos ainda vivos para avaliar um quadro de carcinoma. O BrDU, um análogo da timidina, é capaz de entrar no DNA durante a fase S de divisão celular. Assim, as células que estavam em divisão durante o período de aplicação do BrDU incorporaram essa molécula no DNA e puderam ser vistas através de imuno-histoquímica (Eriksson et al., 1998). A detecção de um neurônio positivo para BrdU indica, portanto, que o neurônio se originou de uma célula que sofreu divisão exatamente quando o BrdU foi aplicado, uma vez que o BrdU tem uma meia-vida biológica curta.

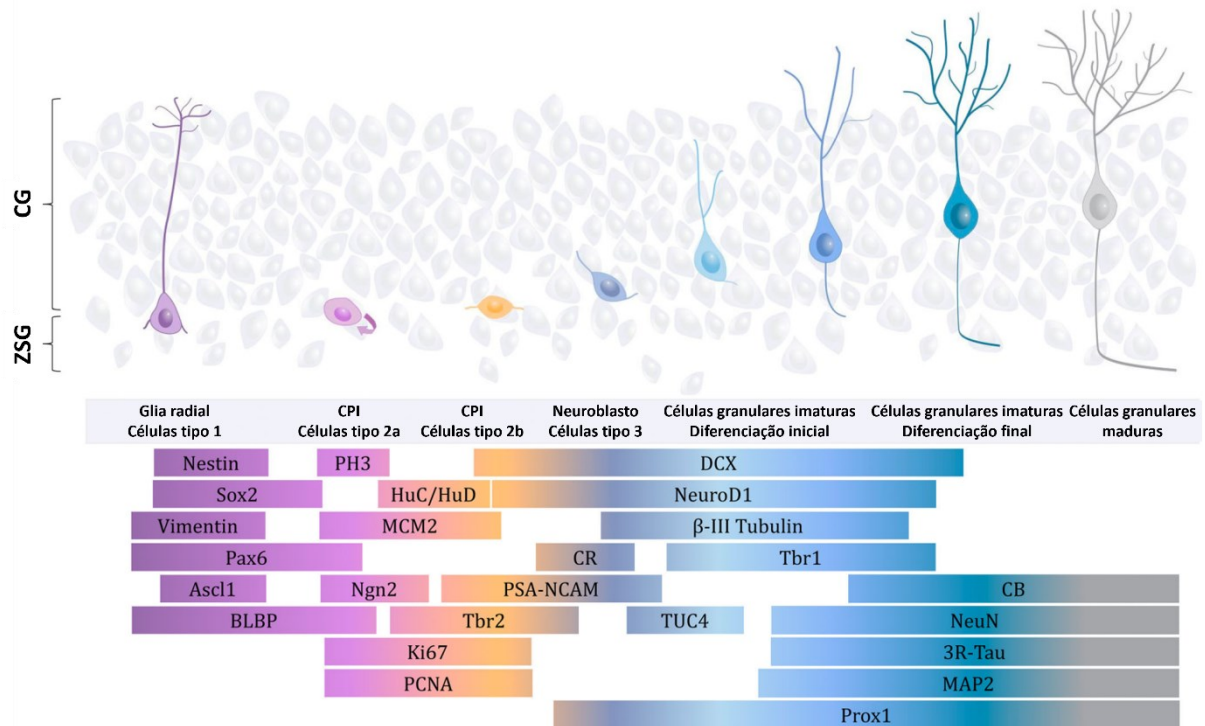
A metodologia utilizada por Eriksson, de aplicação de BrDU não pode ser mais utilizada em humanos, devido a comprovada toxicidade desse composto. No entanto, vários estudos posteriores utilizando marcadores endógenos confirmaram a existência de neurogênese adulta em humanos (Boekhoorn et al., 2006; S. Cipriani et al., 2018; Curtis et al., 2003; Dennis et al., 2016; Ernst et al., 2014; Flor-García et al., 2020; Huttner et al., 2014; Moreno-Jimenez et al., 2021; Tobin et al., 2019).

A neurogênese adulta é um processo altamente regulado e complexo, com estágios de desenvolvimento distintos que podem ser estudados individualmente (Gage, 2019). A sequência de etapas da neurogênese adulta consiste basicamente na proliferação das células-tronco, especificação do destino dos progenitores neurais para a diferenciação em neuroblastos e posterior maturação, organização dos axônios e dendritos, formação de sinapses funcionais, e sobrevivência seletiva de neurônios novos (X. Duan et al., 2008; Ge et al., 2008). As células tipo glia radial (células do tipo 1) são encontradas no nicho de células tronco e podem dar origem as células que irão manter a taxa celular de autorrenovação (células tipo 2a) e a progenitores intermediários (células do tipo 2b) que apresentam capacidade de proliferação. Ocorre então uma transição da fase mitótica para a fase pós-mitótica, onde essas células do tipo 2b passam pelo estágio de diferenciação, onde podem dar origem a neuroblastos (células do

tipo 3), que subsequentemente darão origem a neurônios maduros finalizando o estágio de maturação (Figura 1.11) (Gonçalves et al., 2016; Kempermann et al., 2015).

As células geradas na ZSG do GD da formação hipocampal tem sua posição final na camada granular do GD (García-Verdugo et al., 2002). Em cada fase, as células expressam diferentes proteínas, que podem ser rastreadas, através da utilização de técnicas laboratoriais específicas (von Bohlen Und Halbach, 2007). As células do tipo 1 são um grupo de células-tronco neurais semelhantes à glia radial com morfologia distinta, que expressam proteína ácida fibrilar glial marcadora astrocítica (GFAP, do inglês *glial fibrillar acid protein*), nestina e SOX2 (Zhang & Jiao, 2015). As células do tipo 2b que estão em constante processo mitótico expressam em seu núcleo a proteína Ki-67, que é expresso em todas as fases do ciclo celular (G1, S, G2 e M) exceto a fase de repouso e no início da fase G1, por causa de sua meia-vida curta de cerca de 1 hora, raramente é detectável em células na fase G0. (Kee et al., 2002; Zacchetti et al., 2003). Outra proteína expressa durante a divisão celular é o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) que é uma proteína auxiliar da DNA polimerase, expressa durante a divisão celular principalmente nas fases G1 e S e está diminuído na fase G2 (Galand & Degraef, 1989; Kurki et al., 1986). Em seguida, no estágio de diferenciação, a célula adquire um fenótipo neuronal, se tornando um neuroblasto. Neste estágio ocorre também o processo de migração e arborização dendrítica, onde estas células expressam a proteína associada aos microtúbulos doublecortina (DCX), uma fosfoproteína que controla os processos de polimerização e estabilização do citoesqueleto, desempenhando um papel chave no posicionamento final dos neurônios novos (Figura 1.11) (Boseret et al., 2007; Burgess & Reiner, 2000; Cai et al., 2009). No estágio final da neurogênese os novos neurônios devem encontrar seu lugar no circuito do hipocampo, formando suas conexões com a rede local de interneurônios e se tornando funcional. Nesse estágio essas novas células neuronais expressam proteínas como NeuN, MAP2 e calbindina (Kempermann et al., 2004).

Figura 1.11 – Diagrama esquemático mostrando as principais etapas da neurogênese do hipocampo adulto.



Legenda: Na parte inferior está demonstrada a expressão de marcadores específicos de cada estágio. A expressão de Nestin, SRY-box 2 (Sox2), Vimentina, caixa pareada 6 (Pax6), fator de transcrição BHLH da família Achaete-Scute 1 (Ascl1), proteína de ligação lipídica cerebral (BLBP), fosfo-histona 3 (PH3), proteínas neuronais humanas C e D (HuC/D), proteína de manutenção do minicromossomo 2 (MCM2), neurogenina 2 (Ngn2), proteína cerebral T-box 2 (Tbr2), Ki67, antígeno nuclear de células em proliferação (PCNA), doblecortina (DCX), diferenciação neurogênica 1 (NeuroD1), tubulina β-III, calretinina (CR), molécula de adesão de células neurais de ácido polissialílico (PSA-NCAM), próspero homeobox 1 (Prox1), proteína cerebral T-box 1 (Tbr1), transformada após divisão/ulip/CRMP-4 (TUC-4), calbindina (CB), núcleos neuronais (NeuN), tau de três repetições (3RTau) e proteína 2 associada a microtúbulos (MAP-2) são mostrados. DGC, célula granular dentada; CG, camada granular; CPI, células progenitoras intermediárias; ZSG, zona subgranular. Fonte: Adaptado de Terreros-Roncal et al., 2023.

1.4.2 Regulação da Neurogênese Hipocampal Adulta

Uma característica da neurogênese hipocampal adulta é que o processo é regulado por fatores como o ambiente e o estado emocional ou fisiológico de um indivíduo. Em outras palavras, os neurônios recém-gerados em adultos podem, teoricamente, ser produzidos sob demanda em resposta a sinais ambientais, o que poderia proporcionar um grau de plasticidade na reorganização de circuitos hipocampais dependentes da neurogênese em adultos. A regulação da neurogênese pode ocorrer de maneira endógena, através de moléculas como neurotrofinas, por exemplo, o fator BDNF, sigla em inglês para *Brain-Derived Neurotrophic Factor*), fatores de crescimento como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e o fator de crescimento de fibroblastos-2 (FGF-2), bem como a influência de hormônios e citocinas

(Kang & Hébert, 2015; Wang et al., 2015; Zhao et al., 2008). Além disso, diversos estímulos externos já foram documentados como promotores da neurogênese, incluindo medicamentos antidepressivos (Malberg et al., 2000), a prática de exercícios físicos (Tharmaratnam et al., 2017) e a exposição a um ambiente enriquecido (AE) (Kempermann, Brandon, et al., 1998; van Praag et al., 1999, 2000).

A exposição ao AE, que por exemplo em animais, inclui uma área maior de gaiola, objetos novos e rodas para exercícios, tem mostrado aumentar significativamente o número de neurônios recém-gerados em adultos e o volume da camada de células granulares, melhorando também a velocidade de aprendizado espacial em roedores (Kempermann et al., 1997). Além disso, o ato de correr voluntariamente aumentou seletivamente a proliferação de novos neurônios em camundongos adultos (van Praag et al., 1999), enquanto o enriquecimento ambiental promoveu a sobrevivência dos neurônios recém-gerados em camundongos adultos (Kempermann, Brandon, et al., 1998; Kempermann et al., 2002). Esses processos são mediados por vários tipos de sinalização (Alvarez et al., 2016; Bergami et al., 2015; Ge et al., 2007; Tashiro et al., 2006). A estimulação glutamatérgica, através de receptores NMDA, é crucial para a sobrevivência de neurônios imaturos (Tashiro et al., 2006), e os neurônios sobreviventes são funcionalmente integrados aos circuitos existentes dentro de 1 mês (Jessberger & Kempermann, 2003). É importante notar que os efeitos do AE na sobrevivência e integração de neurônios recém-gerados em adultos se limitam às três primeiras semanas após o nascimento dos neurônios (Tashiro et al., 2007).

Outros sistemas de neurotransmissores também regulam a neurogênese adulta. Por exemplo, a serotonina (5-HT) desempenha um papel importante nesse processo, em que inibidores da recaptação da serotonina aumentam a neurogênese (Encinas & Enikolopov, 2008). O agonista α 2-adrenérgico aumenta a neurogênese hipocampal, aumentando a sobrevivência e a diferenciação de neuroblastos, possivelmente aumentando os níveis de BDNF em aferentes noradrenérgicos locais (Rizk et al., 2006). Esse efeito envolve o aumento da liberação de noradrenalina por meio do bloqueio dos receptores pré-sinápticos (Hagg, 2005). A dopamina também é conhecida por seus efeitos na neurogênese adulta. Por exemplo, os agonistas dos receptores de dopamina tipo D2 podem aumentar a neurogênese em modelos da DP em camundongos (Borta & Höglinger, 2007; Yang et al., 2008). A perda de dopamina na via nigroestriatal resulta na diminuição da proliferação na ZSV de roedores adulto (Baker et al., 2004; Höglinger et al., 2004; Winner et al., 2011). A diminuição das células PCNA-positivas na ZSV foi observada logo após a injeção de MPTP em camundongos modelos de DP. Curiosamente, o número de células PCNA-positivas retornou à linha de base durante a

reinervação dopaminérgica (Hoglinger et al., 2004), indicando uma relação entre a depleção de dopamina e a redução de células em proliferação na ZSV. A diminuição nas células progenitoras da ZSV recém-geradas com um déficit de dopamina nigroestriatal pode ser revertida por estimulação de dopamina através do receptor D3 (Winner et al., 2011).

É fundamental destacar que diversos fatores exercem influência negativa sobre a neurogênese hipocampal em adultos, como por exemplo, o estresse crônico (Cameron & Gould, 1994; Gould et al., 1998; Tanapat et al., 1998), a depressão (Dranovsky & Hen, 2006; Miller & Hen, 2015) e o envelhecimento (Kuhn et al., 1996). É frequentemente sugerido que o envelhecimento exerça um impacto considerável na regulação negativa da neurogênese hipocampal em adultos. Embora seja incontestável que a neurogênese declina com a idade e persiste a uma fração mínima dos níveis observados na juventude, o uso do termo "regulador" pode ser questionável. O declínio não parece ser o resultado de um mecanismo de controle ativo, mas, em vez disso, parece ser uma consequência intrínseca das alterações relacionadas à idade. No entanto, o envelhecimento é uma variável que geralmente deve ser considerada ao se analisar a neurogênese em adultos. Mas, os números sozinhos precisam ser interpretados com cautela. Por exemplo, mesmo que o nível de referência da neurogênese em adultos seja muito baixo na idade mais avançada, a regulação relativa que é possível a partir desse ponto de partida pode ser muito maior do que na juventude (Kempermann, Kuhn, et al., 1998).

1.4.3 Neurogênese Hipocampal Adulta na Doença de Parkinson e na Doença de Huntington

Em estudos *pós-morte* humanos de DP, foi observado o comprometimento da neurogênese adulta, com pacientes apresentando atrofia do hipocampo (Bruck et al., 2004). Além disso, marcadores de proliferação celular e diferenciação neuronal hipocampal são reduzidos no cérebro de pacientes com DP (Camicioli et al., 2003; Hoglinger et al., 2004; Laakso et al., 1996; Regensburger et al., 2014; Riekkinen et al., 1998). Estudos em modelos murinos mostraram que alterações na neurogênese hipocampal adulta também podem contribuir para o fenótipo neurodegenerativo (Marxreiter et al., 2013). Evidências sugerem que a neurogênese hipocampal prejudicada está associada a um déficit serotoninérgico inicial em modelos animais da DP (Kohl et al., 2016). Além disso, a dopamina promove a sobrevivência de células recém-nascidas no GD (Takamura et al., 2014) e a ativação do receptor de dopamina aumenta a proliferação e a sobrevivência celular de neurônios recém gerados (Winner et al., 2009).

Com relação à DH, estudos em tecido cerebral *pós-morte* revelaram um aumento da proliferação e neurogênese na camada subependimal adjacente ao núcleo caudado (Curtis et al., 2003; Curtis et al., 2005). Além disso, modelos químicos de DH com injeção de ácido quinolínico apresentam proliferação aumentada na ZSV e novos neurônios foram observados no estriado (Tattersfield et al., 2004). Contudo, a maioria dos estudos em modelos animais não demonstram diferenças na proliferação e diferenciação na ZSV (Gil et al., 2004; Gil et al., 2005; Lazic et al., 2004; Lazic et al., 2006; Phillips et al., 2005; Simpson et al., 2011). Por outro lado, estudos na ZSG demonstram que a proliferação celular e a diferenciação neuronal apresentam diminuição em modelos animais da DH (Kandasamy et al., 2010; Lazic et al., 2004; Lazic et al., 2006; Phillips et al., 2005), inclusive no modelo YAC128 (Simpson et al., 2011).

1.5 JUSTIFICATIVA

As doenças neurodegenerativas são um desafio significativo que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, pois atualmente carecemos de tratamentos modificadores eficazes. A pesquisa nesta área é de extrema importância, uma vez que tem o potencial de melhorar significativamente a qualidade de vida daqueles que sofrem com essas condições debilitantes. Além disso, a investigação neuropatológica desempenha um papel crucial na compreensão dos mecanismos subjacentes a essas doenças. Estudos *pós-morte* representam o padrão-ouro para a observação detalhada dos elementos complexos das cascatas fisiopatológicas associadas a essas patologias, especialmente no que se refere à avaliação da neurogênese hipocampal em tecidos *pós-morte* humanos com DP.

A DH é notória por sua causa genética identificada, o que possibilita testes genéticos, intervenções precoces e estratégias de aconselhamento genético. Além disso, evidências substanciais indicam que o estilo de vida desempenha um papel relevante na progressão da DH e na idade de início dos sintomas. Essa perspectiva abre caminho para a exploração de estratégias não farmacológicas, como o enriquecimento ambiental, como uma abordagem potencialmente eficaz para retardar ou atenuar os sintomas pré-motores e motores associados à DH.

Portanto, esta pesquisa busca não apenas contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas eficazes, mas também aprofundar nossa compreensão dos mecanismos subjacentes às doenças neurodegenerativas, com foco especial na DP e na DH, onde a combinação de fatores genéticos e estilo de vida desempenha um papel crítico. Essas investigações têm o potencial de fornecer conhecimentos valiosos que podem orientar

intervenções clínicas e estratégias de tratamento personalizado, abrindo portas para uma abordagem mais eficaz e abrangente no cuidado de pacientes afetados por essas condições debilitantes.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo Geral

Estudar a neurogênese hipocampal adulta em tecido cerebral *pós-morte* de indivíduos com a DP, bem como investigar o efeito do ambiente enriquecido nos déficits comportamentais, nos níveis de neurotransmissores monoaminérgicos e na astrogliose nos camundongos YAC128.

1.6.2 Objetivos Específicos

- Estudar a neurogênese hipocampal adulta humana em tecido cerebral *pós-morte* na DP;
- Determinar se a exposição dos camundongos YAC128 ao AE entre os 2 e 4 meses de idade é capaz de:
 - Alterar a performance motora e cognitiva, bem como, sintomas do tipo-depressivo;
 - Modular os níveis de monoaminas no hipocampo, estriado e córtex pré-frontal (CPF) de camundongos selvagens e YAC128;
 - Modular a expressão de GFAP hipocampal em camundongos selvagens e YAC128.

2 CAPÍTULO II. ALTERED HIPPOCAMPAL DOUBLECORTIN EXPRESSION IN PARKINSON'S DISEASE INDIVIDUALS

2.1 INTRODUCTION

Parkinson's disease (PD) is a complex neurodegenerative disorder primarily characterized by the selective degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta (SNpc), leading to a movement disorder (Kalia & Lang, 2015). PD is categorized as an α -synucleinopathy due to the accumulation of α -synuclein aggregates in the brain (Walker *et al.*, 2019). In PD, these α -synuclein inclusions are primarily found in the brainstem and limbic regions. However, in Parkinson's disease dementia (PDD), they extend into the neocortex (Outeiro *et al.*, 2019; Walker *et al.*, 2019). This progressive spread into the neocortex, as observed in PDD, is linked to the development of cognitive impairment and dementia in individuals previously diagnosed with PD.

PD also manifests as a progressive degeneration affecting various regions of the central nervous system, giving rise to a diverse array of non-motor symptoms, such as hyposmia, sleep disorders, and neuropsychiatric dysfunctions, which often precede the onset of motor dysfunction by more than a decade (Kalia & Lang, 2015; Warth Perez Arias *et al.*, 2023). While our understanding of the neuroanatomical and neuropharmacological bases of non-motor abnormalities in PD remains incomplete, the neuropsychiatric dysfunctions associated with PD (Schapira *et al.*, 2017; Titova *et al.*, 2017; Wesnes & Burn, 2013) are intricately linked to structural and functional alterations in the hippocampus (Bruck *et al.*, 2004; Camicioli *et al.*, 2003; Carlesimo *et al.*, 2012; Churchyard & Lees, 1997; Riekkinen *et al.*, 1998). Of particular note is the hippocampus's remarkable neuroplasticity and its capacity to generate new neurons even in adulthood (Eriksson *et al.*, 1998), which could play a significant role in the context of PD.

Adult neurogenesis is a highly regulated and intricate process with distinct developmental stages that can be individually studied (Gage, 2019). These stages include precursor cell proliferation, newly formed neurons' subsequent survival, migration to specific locations, differentiation into fully functional mature neurons, and seamless integration into the existing neural network. In the subgranular zone (SGZ) of the dentate gyrus (DG), neural precursor cells divide, giving rise to immature cells. These newborn cells then differentiate into neurons, migrate into the granular cell layer (GCL) of the DG while extending neuronal processes, and ultimately integrate into the GCL population of granule neurons (Kuhn *et al.*,

1996). Notably, the microtubule-associated protein doublecortin (DCX) plays a crucial role during this maturation process. DCX is transiently expressed in these immature neurons as a marker for ongoing neurogenesis (Brown *et al.*, 2003; Francis *et al.*, 1999; Rao & Shetty, 2004).

The dynamic interplay of these stages and molecular markers underscores the complexity of adult hippocampal neurogenesis and its potential relevance to the neuropsychiatric manifestations observed in PD. Höglinger *et al.* (2004) demonstrated that the generation of neural precursor cells is compromised in PD due to dopaminergic denervation (Höglinger *et al.*, 2004). Additionally, a more recent study by Terreros-Roncal demonstrated morphological abnormalities in DCX-positive cells in patients with α -synucleinopathies, further implicating the importance of these cellular changes in neurodegenerative conditions (Terreros-Roncal *et al.*, 2021). Based on these findings, our study is focused on characterizing DCX expression in the DG of individuals with PD without dementia; thus, it would provide evidence for the early occurrence of neurogenesis alterations before the onset of PDD.

2.2 MATERIALS AND METHODS

2.2.1 Human Samples

Postmortem human brain tissue from clinicopathological confirmed cases of PD (n = 6) and age-matched non-neurodegenerative disease controls (n = 6) were obtained from the Brain Tissue Bank of Newcastle (NBTR, Newcastle Brain Tissue Resource). The control group comprised individuals with no discernible clinical indications of psychiatric or neurological disorders. On the other hand, PD cases were not only confirmed neuropathologically but also lacked cognitive symptoms typically associated with dementia (McKeith *et al.*, 2005) (Table 2.1).

Table 2.1 – Human tissue cohort

Group	Gender	Age	PMD	pH	NFT Braak stage	Thal phase	CERAD	Braak LB stage
Ct	M	64,0	93	5.9	I	0	0	0
Ct	M	79,0	39	6.94	II	3	0	0
Ct	F	81,0	31	6.23	III	3	0	0
Ct	M	85,0	45	6.43	III	4	1	0
Ct	M	92,0	50	5.36	III	1	0	0
Ct	F	92	92	6.35	III	4	1	0
PD	M	61,0	90	5.9	I	2	0	4
PD	M	78,0	50	6.7	III	1	0	6

PD	M	81,0	52	6.4	III	0	0	4
PD	M	84,0	80	6.48	III	3	0	4
PD	M	90,0	18	5.8	II	0	0	4
PD	F	92	45	6.31	I	0	0	5

Human cases are separated by disease classification according to non-diseased controls (Ct) and Parkinson's disease (PD). Sex, *postmortem* delay (PMD), pH levels, neurofibrillary tangle (NFT) Braak stage, Thal phase, Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD), Lewy body (LB) Braak stage are provided.

2.2.2 Tissue Processing

To prepare 10 μm slices, the brain's right hemisphere was fixed by immersion in 4% buffered aqueous formaldehyde for 4 to 6 weeks. It was then dissected in coronal planes at approximately 0.7 cm intervals according to the Newcastle Brain Tissue Resource (NBTR) procedure. The small tissue blocks were then processed through increasing concentrations of alcohol and chloroform under vacuum conditions in a Leica tissue processor and embedded in paraffin wax for sectioning and subsequent immunostaining (Johnson *et al.*, 2011). For this work, blocks 18 to 21 were selected that contain the region of the hippocampal formation, a niche of adult neurogenesis, the target of this study. All brains underwent standard neuropathological assessment using internationally accepted criteria, including NFT Braak stages, Braak LB stages, CERAD stages, and Thal A β phases (Alafuzoff *et al.*, 2008; McKeith *et al.*, 2005; Mirra *et al.*, 1991; Thal *et al.*, 2002).

Blocks containing the hippocampus were sectioned in 10 μm using a rotary microtome (ThermoFisher Scientific HM355S). Sections for histological analysis were mounted onto charged glass slides (Superfrost Plus, Thermo Scientific, UK). Mounted sections were then dried at 37°C for 48 hours. Once dried, sections were stored at room temperature before staining.

2.2.3 Immunohistochemistry Detection of DCX and NeuN

Previous studies have demonstrated that slight variations in sample processing and histological protocols can alter the ability to accurately detect neuronal and glial markers within the human brain (Flor-García *et al.*, 2020; Kempermann *et al.*, 2018). Furthermore, it has been recognized that different antibodies can exhibit significant variability when applied to human tissue, and their sensitivity to fixation or variations in histological procedures may not be

uniform. Therefore, this study determined optimal antibody detection by testing different antibodies and concentrations (Table 2.2).

Table 2.2 – Primary and secondary antibodies used for immunohistochemistry optimization.

Primary Antibodies	Concentration	Reference
Monoclonal Mouse Anti-NeuN	1:50; 1:100; 1:200; 1:400	Millipore, MAB377B
Polyclonal Rabbit anti-DCX	1:750; 1:1000; 1:1500; 1:2500;	Abcam 18723
Polyclonal Goat anti-DCX	1:1000; 1:1500	SC-8066
Monoclonal mouse anti-DCX	1:50	Abcam 54739
Secondary Antibodies		
Polyclonal Alexa fluor 488 Donkey Anti-rabbit IgG	1:500	711-545-152
Polyclonal Cy3 Donkey Anti-Rabbit IgG	1:500	711-165-152
Polyclonal Alexa fluor 488 Donkey Anti-mouse IgG	1:500	711-545-150
Monoclonal Alexa Fluor 594 Goat anti-rabbit	1:500	A11012

Briefly, paraffin-embedded slide-mounted tissue sections were dewaxed (5 min, xylene), rehydrated (5 min, 99, 95, 70% ethanol), and washed in Tris-buffered saline (TBS; 5 mM Tris, 145 mM NaCl, pH 7.4). Afterward, the slides were incubated in 0.5% sodium borohydride (NaBH₄) diluted in PBS 0.1M for 30 min to block background fluorescence. Optimal nuclear antigen detection was determined by subjecting sections to various antigen retrieval methods (Table 3). Sections were blocked with 10% normal goat serum (NGS) containing TBS for 1h. Following, primary antibodies (rabbit anti-DCX, Ab 18723 [1:1000] and mouse-NeuN, MAB377B [1:100]) with 10% NGS and TBS were applied on the sections and incubated overnight at 4 degrees. Then the slides were washed in TBS and followed by secondary antibody incubation (1h, RT, Alexa Fluor 594 goat anti-rabbit, A11012 [1:500] and Alexa fluor 488 donkey anti-mouse, 711-545-150 [1:500]) in TBS and 10% NGS (Table 2.2). Autofluorescence was quenched (1% Sudan Black B in 70% ethanol, 5 min), and slides were coverslipped with Prolong Diamond Mountant containing DAPI (Fisher Scientific). Sections were imaged via a wide-field fluorescence (Nikon Eclipse 90i microscope, DsQi1Mc camera and NIS elements software V 3.0, Nikon) or confocal (Lecia SP 8, LAS X software, Leica-microsystems) microscope.

Table 2.3 – Methods of antigen retrieval.

Antigen retrieval	Method
Citrate	Submersion in pre-heated citrate buffer (10 mM Citric acid, pH 6) with microwave heat-assisted antigen retrieval (800 W, 10 min).
EDTA	Submersion in pre-heated EDTA buffer (10 mM EDTA, pH 8) and subsequent heating in pressure cooker (heated under maximum pressure for 2 min).
EDTA + Citrate	Submersion in pre-heated EDTA buffer (10 mM EDTA, pH 8) and subsequent heating in pressure cooker (heated under maximum pressure for 2 min) followed by submersion in pre-heated citrate buffer (10 mM Citric acid, 0.05% Tween 20, pH 6) with microwave heat-assisted antigen retrieval (800 W, 10 min).

2.2.4 Image acquisition and cell count

Multiple adjacent single images of the DG of the hippocampus were captured at 200× magnification using a Nikon Eclipse 90i microscope and DsFi1 camera (Nikon, Surry UK). One slice per individual was analyzed. For each slice, 9 to 24 images were taken. The multiple adjacent images were then manually stitched together based on overlapping landmarks to create a large image of the entire granular cell layer (GCL) of the DG of the hippocampus (Figure S1).

All DCX-positive cells in the entire GCL and the SGZ of each DG were manually counted. To determine cell positioning, the SGZ and the GCL were identified. The SGZ was defined as the 1-3 cell thickness portion of the GCL adjacent to its hilar border (Figure S2). To determine the cell density, a region of interest was framed (40 µm x 40 µm), and the number of DAPI nucleus and NeuN-positive cells were counted inside the frame. One slice per individual was analyzed. For each slice, 9 to 24 images were captured. To determine the area of the nuclei of each DCX-positive cell, the DAPI channel was used. The nuclei contour of each DCX-positive cell was drawn, and the area was measured using Fiji software (Schindelin *et al.*, 2012).

2.2.5 Statistical Analysis

Statistical analysis used Stata/MP 14.2 (StataCorp, College Station, TX, EUA) and GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, Boston, Massachusetts, USA). All data were assessed for normality by the Shapiro-Wilk test. The results obtained were analyzed by Paired Student's T-Test (normal distribution), Mann Whitney (not normal distribution), and Wilcoxon (not normal distribution). Data are presented as mean ± SEM. Pearson's correlation coefficient was used for normal distribution, and Spearman's correlation was used for non-normal

distribution to determine associations between variables. For all analyses, p values < 0.05 were considered statistically significant.

2.3 RESULTS

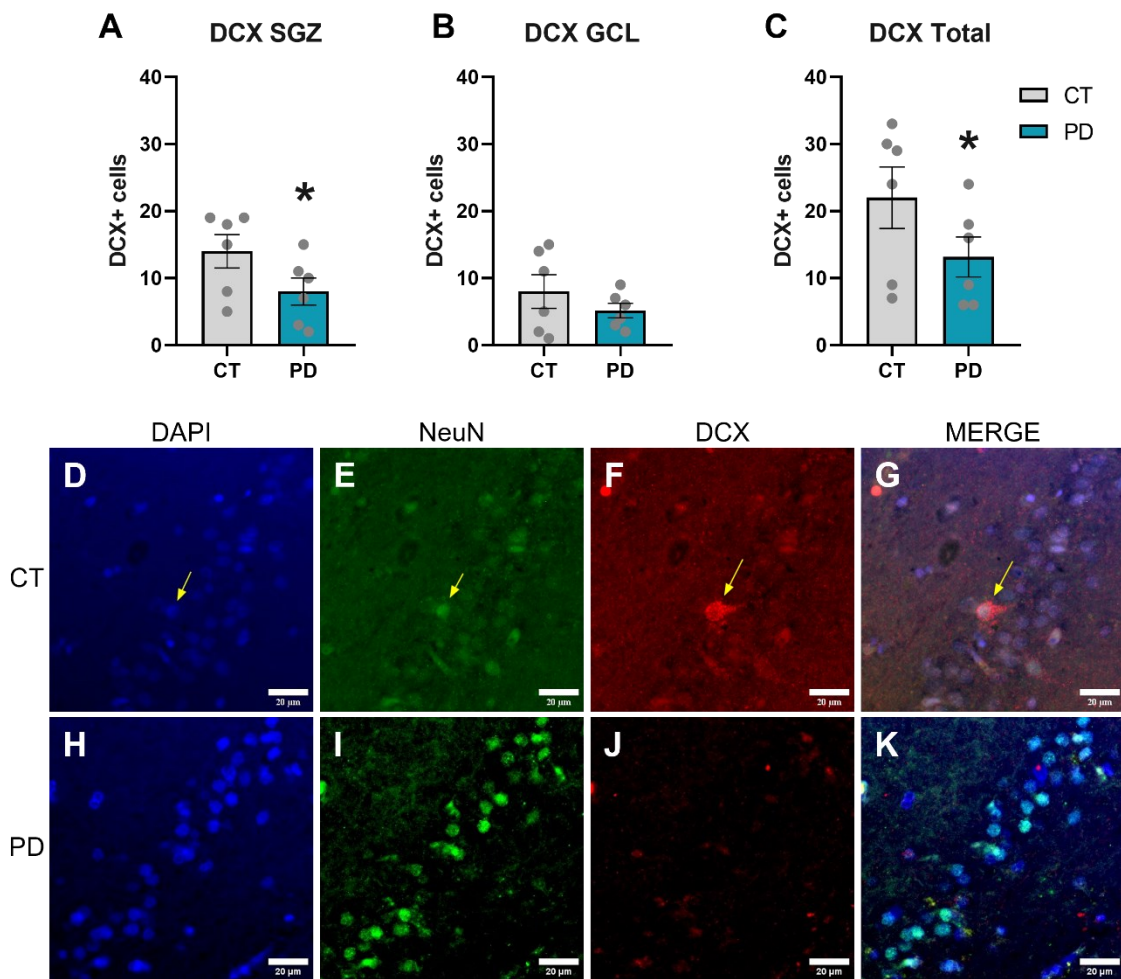
We examined brain sections obtained from a cohort of six individuals diagnosed with PD and six age-matched control subjects (Table 2.1). Regarding *postmortem* delay (PMD), the control group exhibited a mean PMD of 58.3 ± 11.1 hours, while the PD group displayed a mean PMD of 55.8 ± 10.6 hours. The pH levels were measured, with the control group having a mean pH of 6.2 ± 0.2 and the PD group recording a mean pH of 6.3 ± 0.1 . Additionally, the mean age at the time of death for individuals in the control group was 82.2 ± 4.2 years, with an age range from 64 to 92 years. In contrast, the PD group had a mean age at death of 81.0 ± 4.5 years, with ages ranging from 61 to 92 years. Statistical analyses revealed no significant differences in PMD delay ($p = 0.85$), pH ($p = 0.53$), or age ($p = 0.06$) between the two study groups, indicating a comparable baseline for these critical demographic factors in our investigation.

2.3.1 PD decreases DCX expression in the DG of the hippocampus

A variety of antigen retrieval methods (Table 2.3) were initially evaluated for optimal nuclear antigen detection in the hippocampus sections, including Citrate and/or EDTA, utilizing diverse heating techniques such as a pressure cooker, water bath, and microwave, along with various cooling methods (rapid cooling in a buffer solution at room temperature or gradual cooling within the citrate solution) as outlined in Table 2.3. Our results indicated the citrate buffer antigen retrieval consistently achieved a superior result compared to EDTA (Figure S3). We conducted an antibody evaluation by testing three distinct anti-DCX antibodies at varying concentrations (Table 2.2). Notably, the rabbit anti-DCX antibody from Abcam (ab18723) exhibited superior labeling of neuroblasts at a dilution of 1:1000, surpassing the performance of the other tested antibodies.

DCX-positive cells were therefore assessed in the GCL and the SGZ using the rabbit anti-DCX antibody from Abcam in controls and PD cases. The t-test showed a significant difference in the number of DCX-positive cells in the SGZ ($p = 0.04$) and the total (GCL + SGZ) ($p = 0.04$) between the control and PD groups. There was no difference in the number of DCX-positive cells in the GCL ($p = 0.17$) (Figure 2.1).

Figure 2.1 - DCX-positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus.

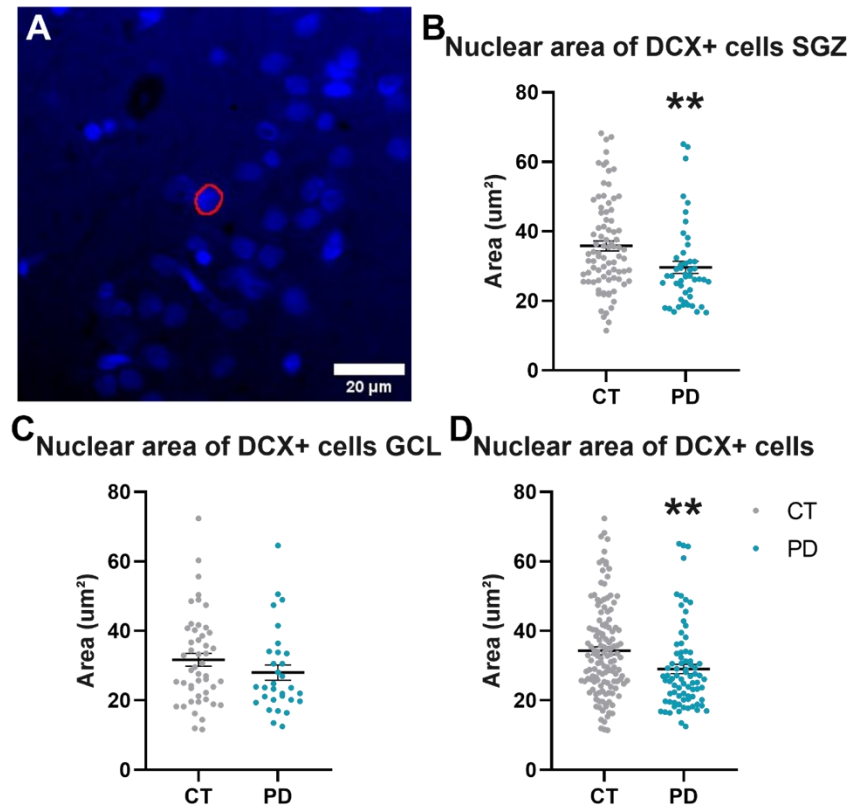


Legend: A: DCX-positive cells in the SGZ (paired T-test $p = 0.04$). B: DCX-positive cells in the GCL (paired t-test $p = 0.17$). C: Total DCX positive cells (paired t-test $p = 0.04$). D-G: Representative images of control samples. H-K: Representative images of PD samples. E, H: DAPI labelled cells. E, I: NeuN labelled cells. F, J: DCX labelled cells. G, K: Merge. Yellow arrow DCX and NeuN-positive cell. CT: Control; DCX: Doublecortin; GCL: Granular cell layer; PD: Parkinson's disease; SGZ: Subgranular zone. * $p < 0.05$. Scale bar: 20μm.

2.3.2 Diminished nuclear area of DCX-positive cells in PD samples

We utilized FIJI software to measure the nuclear area of each DCX-positive cell along the entire dentate gyrus of the analysed slice of each individual. The Mann-Whitney test revealed a statistically significant reduction in the mean nuclear area of DCX-positive cells in the SGZ ($p < 0.01$) and the entire layer ($p < 0.01$) of the PD group. However, when the GCL was evaluated separately, no statistically significant difference was found ($p = 0.15$) (Figure 2.2).

Figure 2.2 – Nuclear area of DCX-positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus.

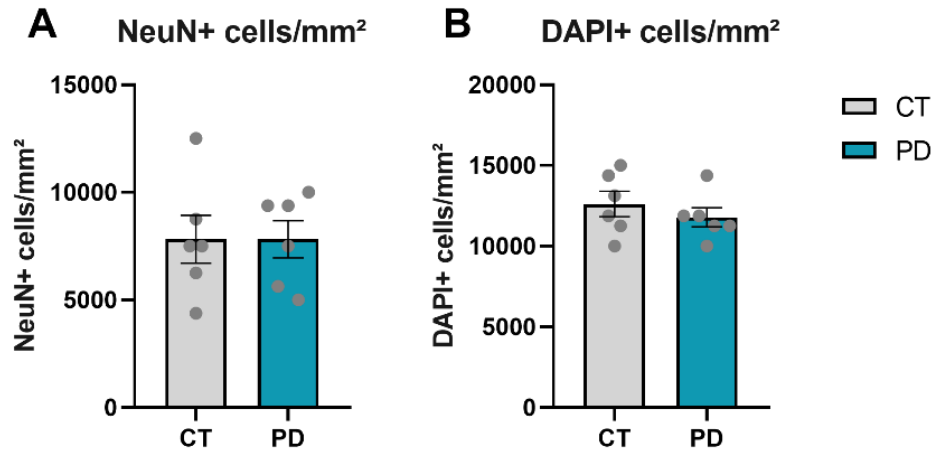


Legend: A: Example of nuclear area. B: Nuclear area of DCX-positive cells in the SGZ (Mann Whitney test $p < 0.01$). C: Nuclear area of DCX-positive cells in the GCL (Mann Whitney test $p = 0.15$). D: Nuclear area of total DCX-positive cells (Mann Whitney test $p < 0.01$). CT: control; DCX: Doublecortin; GCL: Granular cell layer; PD: Parkinson disease; SGZ: Subgranular zone. ** $p < 0.01$. Scale bar: 20 μm .

2.3.3 PD does not impact NeuN expression, cell density, or colocalization of DCX and NeuN in the DG region of the hippocampus

We assessed NeuN-positive cells within a 40 μm x 40 μm frame delineated in the GCL using FIJI software. Our analyses revealed no significant difference in the number of NeuN-positive cells between the groups ($p > 0.99$). Furthermore, when quantifying cell density by counting DAPI-positive cells in the same frame, no statistically significant difference was observed between the groups ($p = 0.37$) (Figure 2.3).

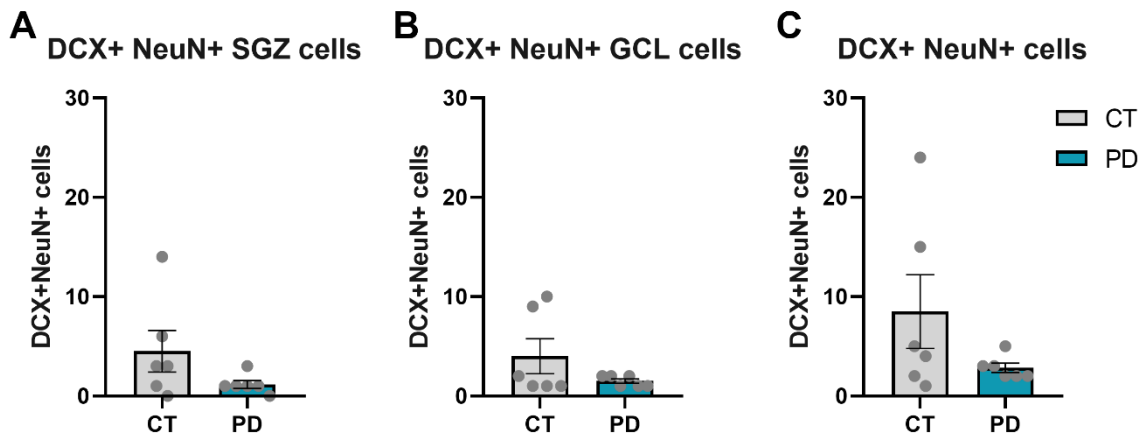
Figure 2.3 – Cell density.



Legend: NeuN-positive cells by area (paired t-test $p > 0,99$). B. DAPI-positive cells by area (paired t-test $p = 0,37$). CT: Control; PD: Parkinson's disease.

We quantify the number of DCX-positive cells co-expressing NeuN in the SGZ and the GCL. Our analysis revealed no significant differences between the groups in the SGZ ($p = 0.19$), in the GCL ($p = 0.44$), nor across the entire layer ($p = 0.31$) (Figure 2.4).

Figure 2.4 – DCX and NeuN positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus.

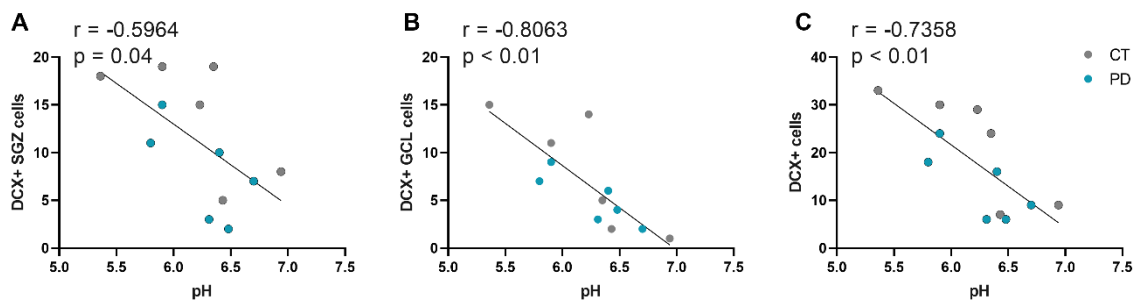


Legend: A: DCX and NeuN positive cells in the SGZ (Wilcoxon matched-pairs signed rank test $p = 0.19$). B: DCX and NeuN positive cells in the GCL (Wilcoxon matched-pairs signed rank test $p = 0.44$). C: Total DCX and NeuN positive cells (Wilcoxon matched-pairs signed rank test $p = 0.31$). CT: control; DCX: Doublecortin; GCL: Granular cell layer; PD: Parkinson disease; SGZ: Subgranular zone.

2.3.4 Inverse correlation between pH levels and DCX-positive cells

We used the Pearson (Figure S4) and Spearman (Figure S5) correlation tests to investigate potential associations between our cohort's demographical and pathohistological data with DCX expression. No correlation was observed between age or PMD and our findings. However, the nuclear area of DCX-positive cells showed an inverse correlation with the Braak LB stages ($r = -0.6734$; $p = 0.02$) (Figure S4). Additionally, there was an inverse Pearson correlation between pH levels and DCX-positive cells in the SGZ ($r = -0.5964$; $p = 0.04$), in the GCL ($r = -0.8033$; $p < 0.01$), and in total ($r = -0.7358$; $p < 0.01$) (Figure 2.5). Of note, even when examined separately for both the control group ($r = -0.8331$; $p = 0.04$) and the PD group ($r = -0.8418$; $p = 0.04$), the correlation between pH levels and the presence of DCX-positive cells in the GCL remained statistically significant.

Figure 2.5 – Pearson correlations with pH levels and DCX-positive cells.



Legend: A: DCX-positive cells in the SGZ. B: DCX-positive cells in the GCL. C: Total DCX-positive cells. CT: control; DCX: Doublecortin; GCL: Granular cell layer; PD: Parkinson disease; SGZ: Subgranular zone.

2.4 DISCUSSION

This study aimed to assess the presence of hippocampal DCX-positive cells *postmortem* brain tissue samples from healthy individuals and those diagnosed with PD. We observed DCX expression in both control and PD brains. Interestingly, we found a decrease in the total number of DCX-positive cells in the DG and a reduction in DCX-positive cells in the SGZ of PD brains. One possible explanation for the decline in DCX-positive cells in the DG and SGZ of PD brains could be related to dopaminergic denervation. Hoglinger *et al.* (2004) previously demonstrated a reduction in the number of neural precursors labeled with nestin and β 3-tubulin in the DG of individuals with PD, suggesting that this reduction may be a

consequence of dopaminergic denervation (Hoglinger *et al.*, 2004). This aligns with the notion that dopaminergic dysfunction in PD may have broader effects on neurogenesis and cell proliferation within the hippocampus. Furthermore, O'Sullivan and collaborators established a negative correlation between the expression of Musashi1, a marker for neural stem cells and neural progenitor cells, and the progression of PD in patients' subventricular zone (SVZ). Additionally, they revealed a positive correlation between Musashi1 expression and the cumulative lifetime usage of levodopa, demonstrating the impact of dopaminergic modulation on the proliferation of precursor cells within the adult forebrain (O'Sullivan *et al.*, 2011).

However, in contrast with our findings, Terreros-Roncal *et al.* (2021) observed increased DCX expression in PD patients (Terreros-Roncal *et al.*, 2021). Furthermore, Gatt *et al.* (2017) reported an increase in DCX-labeled cells, specifically in the SGZ of patients with Dementia with Lewy Bodies (DLB) and PDD (Gatt *et al.*, 2017). This finding suggests that the relationship between DCX expression and neurodegenerative disorders may vary depending on the specific condition and stage of the disease. In summary, while our study provides evidence of decreased DCX-positive cells in the DG and SGZ of PD brains, the contrasting findings from other studies highlight the complexity of neurogenesis regulation in neurodegenerative disorders. These discrepancies may be attributed to various factors, including differences in patient cohorts, disease stages, and methodological approaches, emphasizing the need for further research to better understand the underlying mechanisms and clinical implications.

The observed decrease in the nuclear area of DCX-positive cells within the PD group, both in the SGZ and across the entire granular layer, represents a noteworthy finding in our study. Our results align with the recent work of Terreros-Roncal *et al.* (2021), who reported similar reductions in the nuclear area for DCX-positive cells and calretinin-positive cells in patients afflicted with α -synucleinopathies, also with Montalbano *et al.*, 2023, who finds a reduced nuclear area in the neurons of DLB cases (Montalbano *et al.*, 2023). This consistency across studies emphasizes the potential significance of alterations in these neuroblast populations in neurodegenerative diseases characterized by α -synuclein pathology. It is worth mentioning that chromatin decondensation equates to an increased nuclear volume and occurs during DNA damage repair periods (Dos Santos *et al.*, 2021). Conceivably, the smaller size of the nuclear implies failure to maintain genomic stability. This would be consistent with various studies reporting deficits in DNA damage repair in models of α -synucleinopathies (Paiva *et al.*, 2017; Schaser *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2016) and in other neurodegenerative conditions (Madabhushi *et al.*, 2014).

However, it's important to note that our study did not reveal significant differences in the number of neurons expressing NeuN nor the total cell population labeled with DAPI within the DG between the control and PD groups. These findings suggest that the overall neuronal density within this region remains relatively stable in PD. In contrast to our results, previous studies reported hippocampal atrophy in PD patients (Bruck *et al.*, 2004; Camicioli *et al.*, 2003; Laakso *et al.*, 1996; Riekkinen *et al.*, 1998). While our findings do not indicate direct hippocampal atrophy, they do suggest that the observed reduction in the number of neuroblasts, as evidenced by the decreased number and nuclear area of DCX-positive cells, may play a pivotal role in driving the observed decrease in hippocampal volume. This possibility underscores the complex interplay between neurogenesis and neurodegeneration in the context of PD and warrants further investigation into the underlying mechanisms and their potential implications for disease progression and cognitive function.

Regarding the colocalization of NeuN and DCX, it is worth noting that while we observed fewer co-labeled cells in the PD group, we did not identify a statistically significant difference. This may be attributed to substantial variability within the control group. In contrast, Terrenos-Roncal *et al.* (2021) reported a decline in DCX and NeuN-positive cells in their PD samples, highlighting a discrepancy between the studies that could be attributed to differences in sample characteristics, age, and sample size. One crucial factor to consider is the characteristics of the study samples. Terrenos-Roncal's study compared three PD samples to fifteen control samples, with varying ages randomly distributed within the control group (Terrenos-Roncal *et al.*, 2021). Equally, the controls used in the Terrenos-Roncal (2021) study are free from age-related neuropathological changes, such as NFTs and plaques; this is far from real-world pathology seen in the non-neurodegenerative aged population (Braak and Tredici, 2014). In our present study, we have controlled for age-related AD-indicative pathology between PD and control groups, which is more representative of the general population. In contrast, our study involved an equal number of PD and control samples closely matched in age. This distinction in study design may account for the conflicting results observed.

Furthermore, age can be a critical factor in neurodegenerative research, as aging can impact neurogenesis and neuronal populations within the brain. The age and sample size variability between the studies could introduce unique characteristics and challenges in interpreting the results. However, our investigation did not reveal a significant correlation between the age of subjects and the presence of DCX-positive cells, which differs from findings reported by Knoth *et al.* (2010) and Dennis *et al.* (2016) (Dennis *et al.*, 2016; Knoth *et al.*, 2010). Interestingly, previous studies have demonstrated that as individuals age, there is a

decrease in the population of immature neurons labeled with PSA-NCAM (Boldrini *et al.*, 2018). However, it is essential to consider the intriguing results of Sorrells *et al.* (2018), who reported the absence of DCX and NeuN co-labeled cells in the DG of individuals over 35 years old (Sorrells *et al.*, 2018). These discrepancies in findings may stem from various technical factors, including differences in PMD and tissue pH levels, as suggested by previous studies (Boekhoorn *et al.*, 2006; Flor-García *et al.*, 2020; Kempermann *et al.*, 2018; Terreros-Roncal *et al.*, 2023).

As part of our analysis, we explored the potential influence of PMD and pH levels on our results. Interestingly, we found that PMD did not significantly impact the assessed cells. However, pH negatively correlated with the number of DCX-positive cells in the hippocampus. This observation is consistent with the findings of Monoranu *et al.* (2009), who suggested that pH can serve as an indicator of the quality of *postmortem* brain tissue used in neuroscientific research and is negatively correlated with specimens subjected to prolonged agonal states (Monoranu *et al.*, 2009). It's important to recognize that the agonal effects associated with prolonged illness can influence several chemical substances in the brain (Hardy *et al.*, 1985). Furthermore, pH levels impact post-translational modifications of proteins and RNA (Lucassen *et al.*, 2020), emphasizing the multifaceted nature of tissue quality assessment in *postmortem* studies. These considerations emphasize the importance of meticulously accounting for technical variables when interpreting results in the context of neurogenesis research.

In addition, the analysis of the nuclear area in DCX-positive cells revealed a significant correlation with pathological parameters, indicating a reduction in this parameter in PD samples. This observation suggests the presence of morphological abnormalities potentially induced by the disease, as similarly reported by Terreno-Roncal *et al.* (2021).

In summary, our findings emphasize the significant impact of PD on hippocampal DCX expression, suggesting potential modifications in the adult hippocampal neurogenesis of individuals with PD. Importantly, these alterations were observed in the absence of a diagnosis of PDD, indicating that these changes may precede the onset of prominent cognitive symptoms.

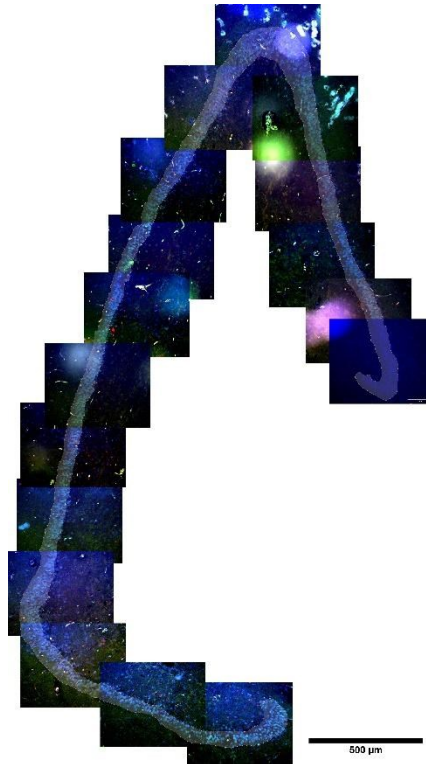
Despite the clinical relevance, our understanding of alterations in hippocampal neurogenesis in the human brain with PD remains limited, with a scarcity of studies in this critical area. These findings shed light on a relatively unexplored aspect of PD pathology, suggesting that these neurogenic alterations could contribute, at least partially, to the manifestation of non-motor symptoms associated with this complex neurological disorder. Further research in this domain is warranted to elucidate the underlying mechanisms and potential therapeutic implications.

2.5 CONCLUSION

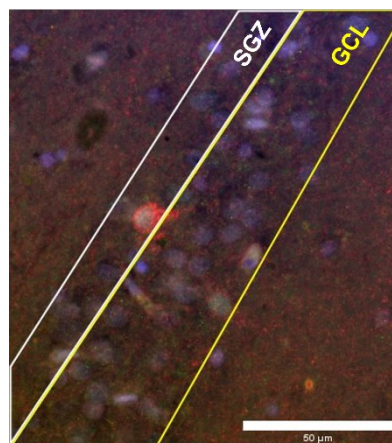
This study utilized an improved methodology to analyze DCX-positive cells in paraffin-embedded tissue sections, revealing a reduction in these cells within PD brains, indicating a potential influence on neuroblasts. These results contribute to our understanding of neurogenesis in PD, emphasizing the importance of more studies with human tissue and meticulous consideration of diverse factors in future research. These findings may contribute to advancing our understanding of the pathophysiology of PD and potentially guide future therapeutic strategies aimed at neurogenesis modulation.

Altered Hippocampal Doublecortin Expression in Parkinson's Disease Individuals

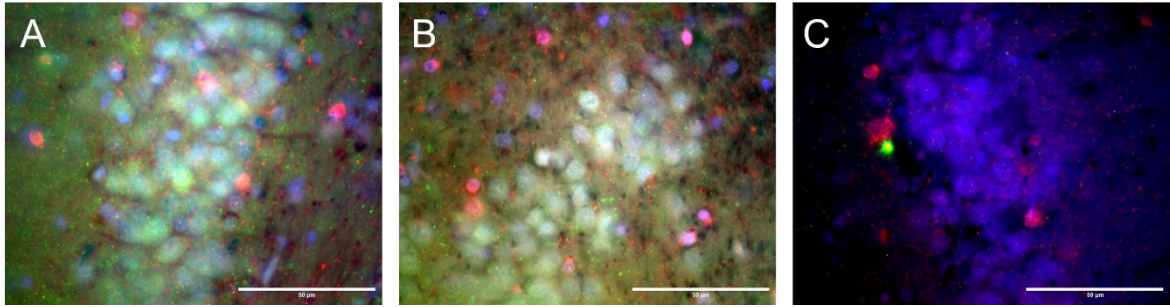
Supplementary Material



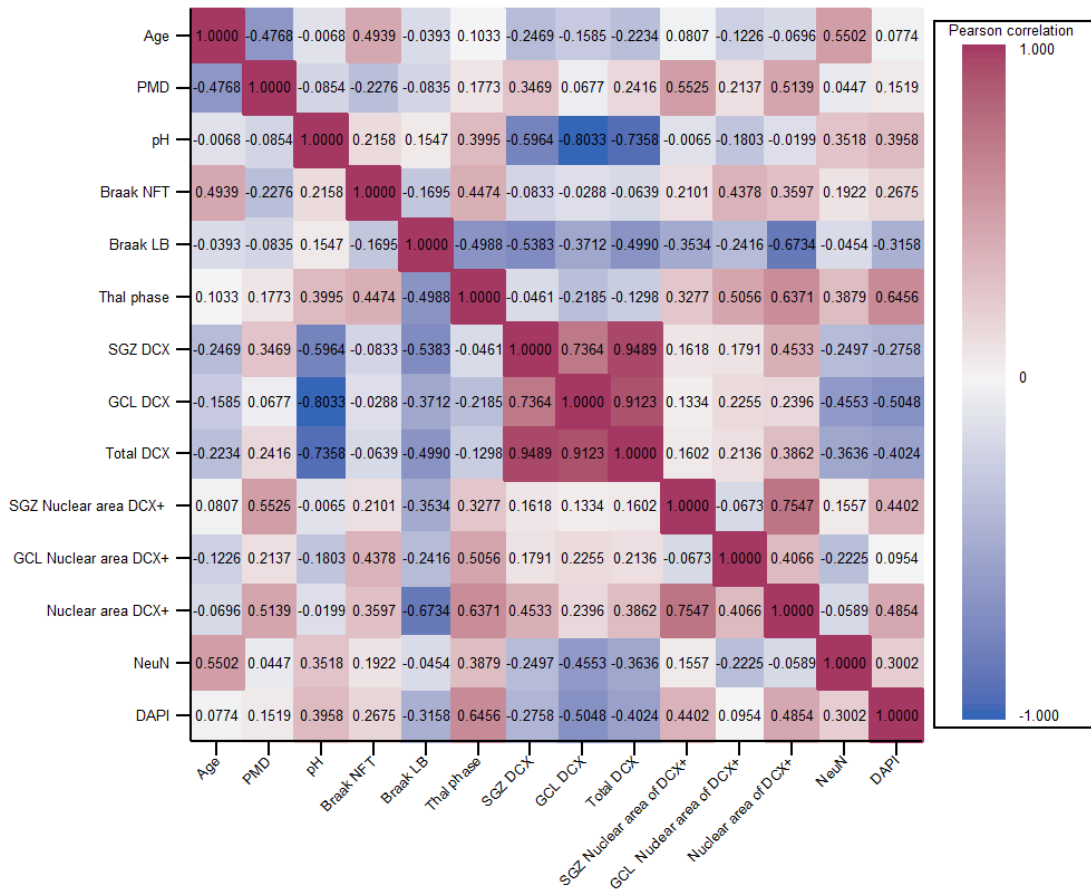
Supplemental figure S1: Example of manually stitched images of the dentate gyrus of the hippocampus, labeled for DCX (red), NeuN (green), and DAPI (blue). Scale bar 500μm.



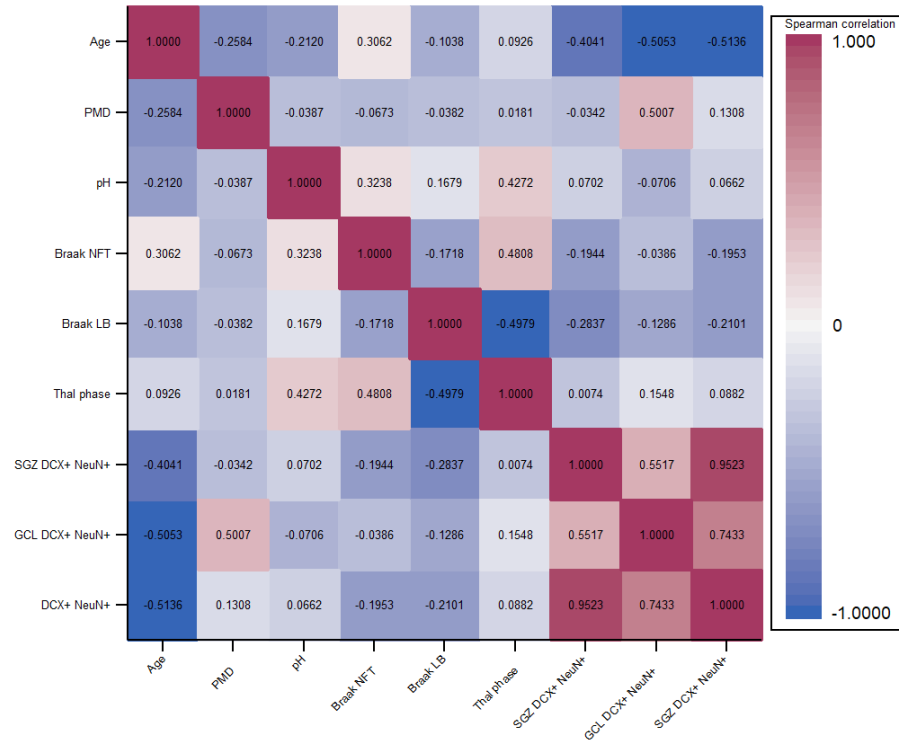
Supplemental figure S2: Example of image with GCL and SGZ dentate gyrus delimitation. GCL: Granular cell layer. SGZ: Subgranular zone. Scale bar 50μm.



Supplemental figure S3: Immunohistochemistry for DCX in the SGZ of the DG of the hippocampus with different antigen retrieval. A: Citrate. B: EDTA. C: EDTA and Citrate. Scale bar: 50µm



Supplemental figure S4: Pearson correlation matrix.



Supplemental figure S4: Spearman correlation matrix.

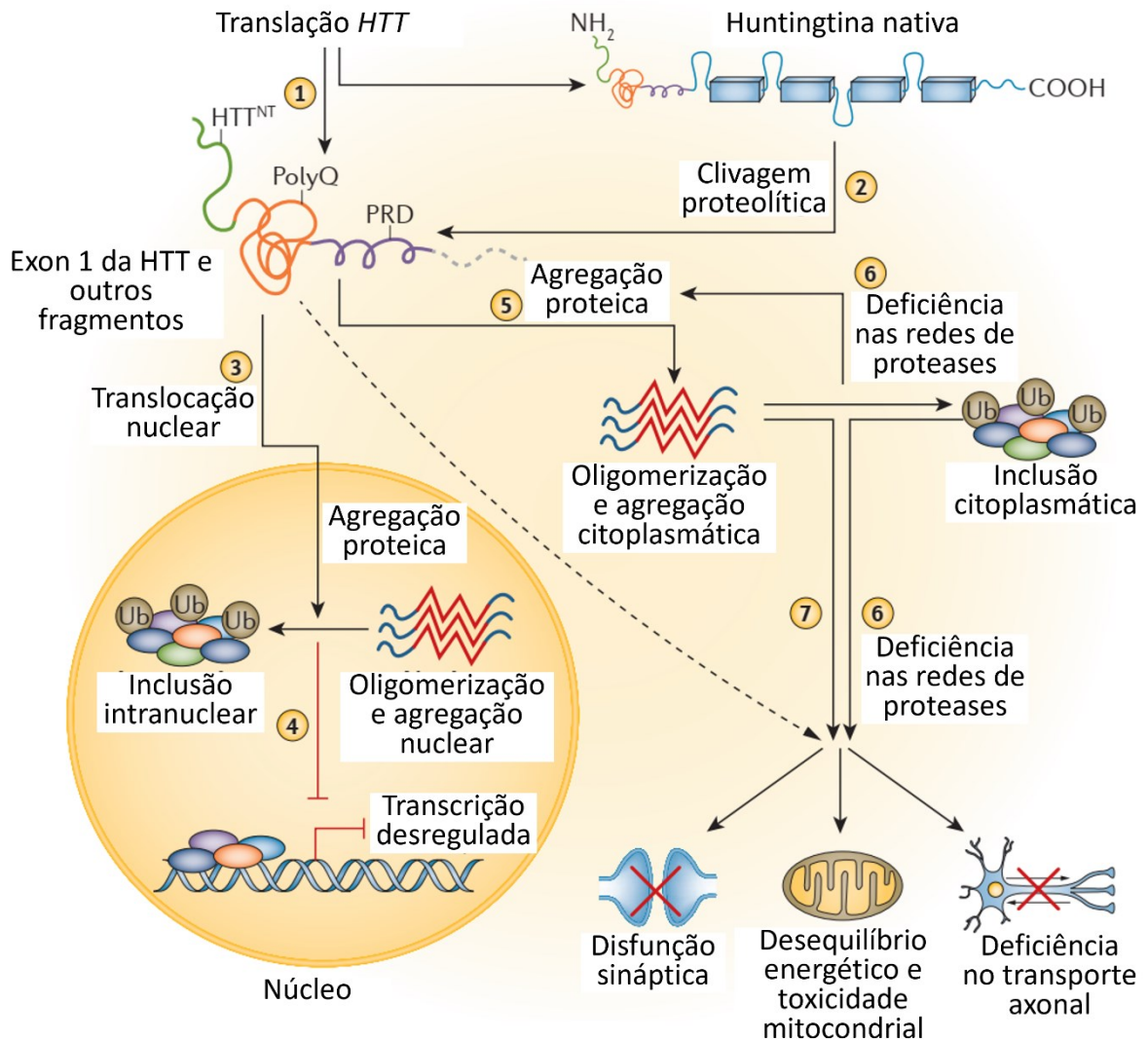
3 CAPÍTULO III. EFEITOS DO AMBIENTE ENRIQUECIDO NA PLASTICIDADE COMPORTAMENTAL NO MODELO ANIMAL YAC128 DA DOENÇA DE HUNTINGTON

3.1 INTRODUÇÃO

A definição clássica da DH, descrita por George Huntington em seu ensaio “On Chorea” de 1872, é uma doença do sistema nervoso com coreia hereditária de início na idade adulta (Huntington, 1872). De acordo com o grupo de pesquisa colaborativa da Doença de Huntington, a DH é a doença neurodegenerativa autossômica dominante mais comum causada por uma repetição de citosina-adenina-guanina (CAG) expandida e instável no gene da huntingtina (HTT) (Group, 1993). Esse gene codifica a proteína huntingtina (htt) com um trecho de poliglutamina (polyQ) localizado no terminal N e resulta em disfunção motora, déficits cognitivos e distúrbios psiquiátricos (MacDonald et al., 1993).

Na DH uma expansão polyQ forma uma conformação anormal da htt mutante (mhtt) e confere um ganho de função tóxica (Poirier et al., 2005; Ross & Tabrizi, 2011). A mhtt também é mais suscetível à proteólise, em relação à proteína htt do tipo selvagem e seu truncamento é conhecido por promover a geração e agregação de fragmentos N-terminais (Lunkes & Mandel, 1998; Walker, 2007; Wellington et al., 2000). Estudos em tecidos *pós-morte* de indivíduos com a DH revelam atrofia disseminada do caudado e putâmen com uma perda neural ocorrendo ao longo de um gradiente caudo-rostral, dorso-ventral e médio-lateral, também afetando o GP e o núcleo accumbens em menor extensão (Vonsattel & DiFiglia, 1998). O estriado é suscetível aos efeitos de mhtt, particularmente, os neurônios espinhosos médios GABAérgico (MSNs), que se projetam para o GP e substância negra (SN) (McColgan & Tabrizi, 2018; Radulescu, 2017). Isso leva a um aumento significativo do volume ventricular lateral. Além disso, no decorrer da DH outras regiões cerebrais também são afetadas, como hipocampo, amígdala, tálamo e tronco cerebral (Halliday et al., 1998; Petrella et al., 2018; Rosas et al., 2002; Rosas et al., 2003).

Figura 3.1 – Mecanismos de ação da huntingtina.



Fonte: Adaptado de Bates *et al*, 2015.

Como discutido no capítulo I, seção 1.3.3. até o momento, nenhuma cura eficaz foi encontrada para a DH. Na busca de uma cura para a DH é necessário focar na compreensão dos mecanismos moleculares causadas pela mutação do gene HTT (Figura 3.1) e em estratégias de modificação da doença desenvolvidas para reduzir a expressão de mhtt (Kim et al., 2021). Atualmente, os tratamentos disponíveis para a DH ainda são limitados, e a maioria deles se concentra no alívio dos sintomas da doença. No entanto, é crucial destacar que o desenvolvimento de terapias modificadoras do curso da doença é uma prioridade significativa em nossa busca por soluções eficazes. Estas terapias, muitas vezes baseadas em avanços recentes na pesquisa molecular e genética, têm o potencial de não apenas tratar os sintomas, mas também de modificar a progressão da DH.

Estudos recentes têm enfatizado a necessidade premente de terapias neuroprotetoras que possam prevenir o aparecimento da DH e retardar seu avanço (Palaiogeorgou et al., 2023). Essas terapias podem representar uma esperança real para melhorar a qualidade de vida dos pacientes afetados pela DH, diminuindo o impacto da doença e prolongando a função neurológica. Portanto, o estudo das terapias modificadoras do curso da DH é de extrema importância, pois não apenas aborda os sintomas da doença, mas também oferece uma perspectiva promissora para um tratamento mais eficaz e, possivelmente, a busca por uma cura para essa condição neurodegenerativa devastadora.

3.1.1 Modelos animais para estudar a doença de Huntington

O conhecimento que temos sobre a DH derivou em grande parte da utilização de modelos animais de estudo. O emprego de modelos permite que os estágios iniciais do processo da doença, bem como estratégias terapêuticas, sejam estudados, superando assim as limitações associadas à utilização de tecidos cerebrais *pós-morte* (Farshim & Bates, 2018).

O primeiro modelo animal para DH foi desenvolvido na década de 70, através da injeção de ácido caínico diretamente no estriado dos animais causando degeneração da região (Coyle & Schwarcz, 1976). Foram então criados outros modelos baseados em lesão excitotóxica ou disfunção mitocondrial, como injeção intraestriatal de ácido quinolínico (um agonista do receptor NMDA) ou administração sistêmica de ácido 3-nitropropiónico (inibidor do complexo II da cadeia respiratória mitocondrial), respectivamente (Beal, Brouillet, et al., 1993; Beal, Hyman, et al., 1993; Beal et al., 1986).

A identificação do gene mutante da DH permitiu a geração de modelos que ajudaram a avançar nos conhecimentos mecanicistas da neurodegeneração, possibilitando a geração de uma variedade destes modelos incluindo vermes (Li & Le, 2013), moscas (Green et al., 2012), camundongos, porcos, ovelhas e macaco (Baxa et al., 2013; Jacobsen et al., 2010; Mangiarini et al., 1996; Slow et al., 2003; Yang et al., 2010; Yang et al., 2008).

Há uma ampla variedade fenotípica desses modelos, sendo que alguns dificilmente expressam fenótipo visível até ficarem muito velhos e outros apresentam neuropatologia desde o nascimento, permitindo assim, o estudo de diferentes graus de progressão da patologia humana. Essas variações não existem apenas entre espécies, mas também entre modelos distintos gerados na mesma espécie. A espécie que tem sido mais extensivamente utilizada para o estudo da DH é o camundongo, devido a sua reconhecida eficiência, economia e facilidade de manipulação (Gray et al., 2008; Heng et al., 2007; Mangiarini et al., 1996; Schilling et al.,

1999; Slow et al., 2003). Eles podem diferir entre si no que diz respeito ao tipo de mutação expressa, à porção da proteína incluída no transgene, ao promotor empregado, aos níveis de expressão da proteína mutante e até mesmo à cepa de base, tornando cada um deles único (Farshim & Bates, 2018).

Modelos de camundongos de DH são gerados usando abordagens transgênicas ou knock-in. Os animais transgênicos podem ser subdivididos em: 1) animais que expressam pequenos fragmentos N-terminais do gene HTT humana ou quimera humana/camundongo aleatoriamente no seu genoma (Carter et al., 1999; Hodges et al., 2008; Mangiarini et al., 1996; Schilling et al., 1999; Schilling et al., 2004). 2) animais transgênicos que expressam o comprimento total do gene HTT humano com diferentes números de repetições de CAG expandida na forma de DNA bacteriano (BAC, *bacterial artificial chromosome*) e levedura (YAC, *yeast artificial chromosome*) (Gray et al., 2008; Hodgson et al., 1999; Seo et al., 2008; Slow et al., 2003). Já na abordagem de animais knock-in estão as linhagens com repetições de CAG de comprimento patológico introduzida no gene HTT (homólogo do humano) de camundongo (Heng et al., 2007; Kennedy et al., 2003; Levine et al., 1999; Lin et al., 2001; Menalled et al., 2003; Shelbourne et al., 1999; Wheeler et al., 1999; Wheeler et al., 2002) (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 – Modelos da doença de Huntington em camundongos.

Modelo	Linhagem	Repetições CAG	Promotor	Característica genética	Referência
<i>Transgênicos fragmentos N-terminal</i>					
R6/1	C57BL/6J, BALB/cByJ, B6CBA/Ca misto	116	HTT	Exon 1 <i>HTT</i> Contendo fragmento genômico	Bayram-Weston <i>et al.</i> , 2012; Brooks <i>et al.</i> , 2012; Favies <i>et al.</i> , 1997.
R6/2	C57BL/6J DBA/2J B6 CBA/Ca Misto	116, 168, 251, 116, 168, 293 128, 160	HTT	Exon 1 <i>HTT</i> Contendo fragmento genômico	Mangiarini <i>et al.</i> , 1996; Menalled <i>et al.</i> , 2009; Carter <i>et al.</i> , 1999. Cummings <i>et al.</i> , 2012; Morton <i>et al.</i> , 2009.
N171-82Q	B6C3H misto	82	Prnp	Primeiros 171 aa <i>HTT</i> humana	Schilling <i>et al.</i> , 1999
Tg100	B6SJL misto	100	Rat <i>NSE</i>	Primeiros 3 kb cDNA <i>HTT</i> humana	Laforet <i>et al.</i> , 2001
<i>Transgênico comprimento total</i>					
BACHD	C57BL/6 FVB/N	97 (CAA-CAG)	Éxon 1 floxado completo, <i>HTT</i> humano	Exon 1 <i>HTT</i> humana	Menalled <i>et al.</i> , 2009; Gray <i>et al.</i> , 2008
YAC128	C57BL/6 FVB/N	125	Comprimento total	<i>HTT</i> humana	Van Raamsdonk <i>et al.</i> , 2007
BAC97 YAC18	FVB/N	18 and 97	Comprimento total	Exon 1 <i>HTT</i> humana	Southwell <i>et al.</i> , 2012.

(Hu97/18)		(CAA-CAG)			
YAC128 BAC21 (Hu128/21)	FVB/N	125	Comprimento total	Exon 1 <i>HTT</i> humana	Southwell <i>et al</i> , 2017
<i>Knock-in</i>					
CAG140	C57BL/6J	146	Htt murina endógena	Éxon 1 Htt quimérica humano/camundongo	Menalled <i>et al</i> , 2003.
zQ175	C57BL/6	198	Htt murina endógena	Éxon 1 Htt quimérica humano/camundongo	Heikkinen <i>et al</i> , 2012; Menalled <i>et al</i> , 2012.
<i>Hdh</i> Q20, <i>Hdh</i> Q50 <i>Hdh</i> Q80 <i>Hdh</i> Q92 <i>Hdh</i> Q111	C57BL/6	20 50 80 92 111	Htt murina endógena	Éxon 1 Htt quimérica humano/camundongo	Wheeler <i>et al</i> , 1999; Wheeler <i>et al</i> , 2000; Trueman <i>et al</i> , 2008
<i>Hdh</i> Q50, <i>Hdh</i> Q100 <i>Hdh</i> Q150 <i>Hdh</i> Q200 <i>Hdh</i> Q 250 <i>Hdh</i> Q 315 <i>Hdh</i> Q 365	C57BL/6	50 100 150 200 250 315 365	Htt murina endógena	CAG expandido no exon 1 camundongo Htt	Sathasivan <i>et al</i> , 2013; Lin <i>et al</i> , 2001, Woodman <i>et al</i> , 2007; Heng <i>et al</i> , 2007; Heng <i>et al</i> , 2010.
<i>Hdh</i> Q150	CBA/Ca	150	Htt murina endógena	CAG expandido no exon 1 camundongo Htt	Woodman <i>et al</i> , 2007.

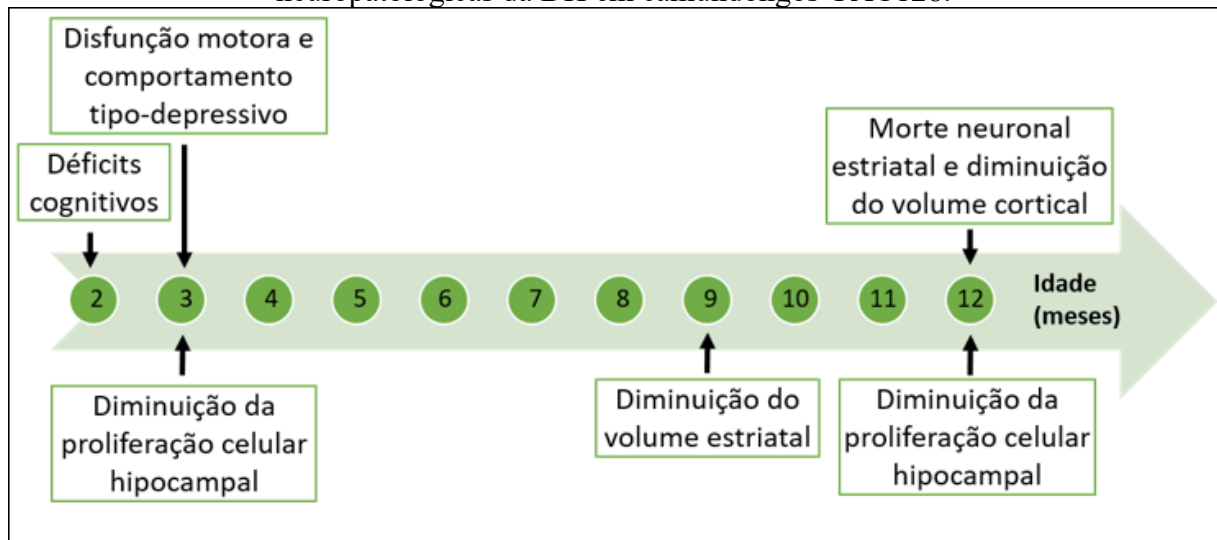
Fonte: Adaptado de Farshim e Bates, 2018.

3.1.2 Modelo animal YAC128 da DH

Atualmente, existem alguns modelos de animais transgênicos disponíveis para estudar a DH (Ehrnhoefer *et al.*, 2009; Hickey & Chesselet, 2003). Os camundongos YAC128 expressam o gene inteiro humano da DH com aproximadamente 128 repetições de CAG e apresentam uma degeneração seletiva dos neurônios estriatais com uma deterioração motora progressiva e uma sobrevivência longa (Slow *et al.*, 2003). Sendo assim, essa linhagem é considerada a mais representativa da condição humana (Van Raamsdonk, Warby, *et al.*, 2007). Os camundongos YAC128 exibem comprometimento motor bifásico com um período inicial de hiperatividade seguido por uma fase hipoativa, semelhante ao que é observado em indivíduos humanos portadores da DH (Van Raamsdonk, Metzler, *et al.*, 2007). O aparecimento dos déficits motores está correlacionado com a perda dos neurônios estriatais nos camundongos YAC128 (Slow *et al.*, 2003). Estudos têm indicado que os camundongos transgênicos YAC128 desenvolvem déficits cognitivos moderados, que precedem o aparecimento das anormalidades motoras e estes progridem com a idade (Van Raamsdonk, Pearson, Slow, *et al.*, 2005), bem como também apresentam comportamento tipo-depressivo nos estágios iniciais da DH (Pouladi *et al.*, 2009) (Figura 3.2).

As similaridades entre o fenótipo dos camundongos YAC128 com a condição humana faz deste modelo transgênico uma boa ferramenta para estudar os mecanismos implicados na fisiopatologia dessa doença e para testar potenciais estratégias terapêuticas que possam modificar o curso da progressão da DH (Gil-Mohapel, 2012).

Figura 3.2 – Linha do tempo que correlaciona as mudanças comportamentais e neuropatológicas da DH em camundongos YAC128.



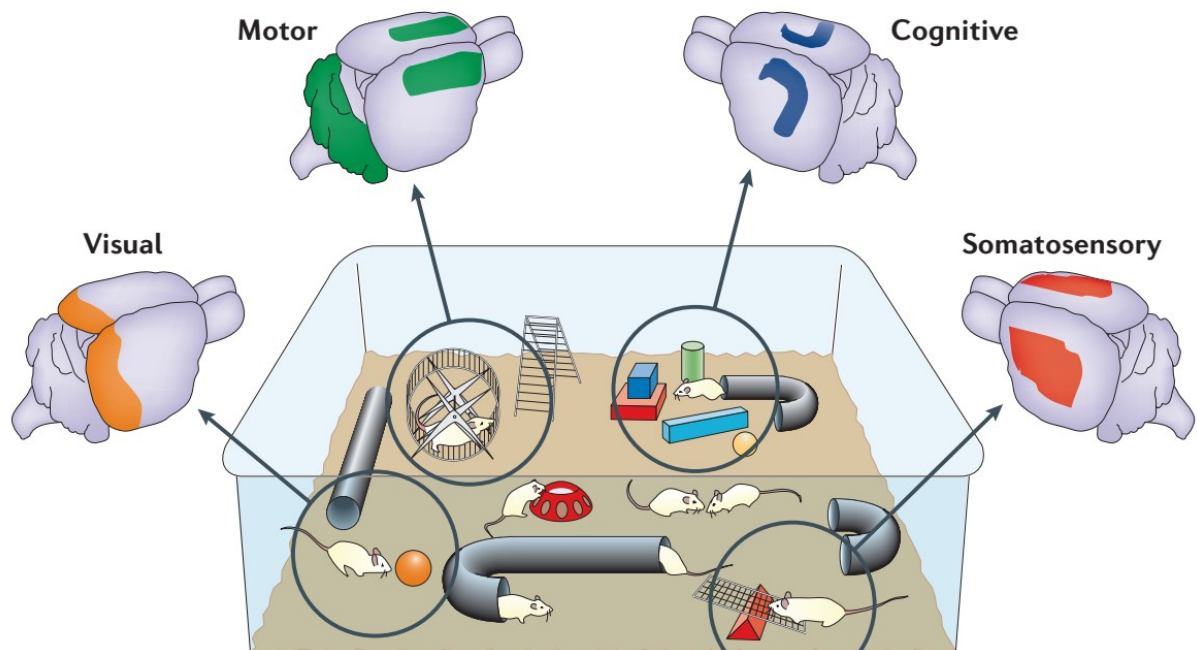
Legenda: Os camundongos YAC128 apresentam déficits cognitivos aos 2 meses de idade, disfunção motora, comportamento tipo-depressivo e diminuição da proliferação celular hipocampal aos 3 meses, seguido por neuropatologia seletiva no estriado aos 8 meses e diminuição do volume cortical aos 12 meses. Fonte: Adaptado de (Pouladi et al., 2009)

3.2 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

O ambiente enriquecido (AE) é definido como uma combinação de estímulos complexos de objetos inanimados e sociais que influenciam aspectos morfofuncionais encefálicos por aumentar a estimulação sensorial, cognitiva, motora e de interação social (Gelfo et al., 2011) quando comparado com a condição padrão de habitação.

O AE é um paradigma amplamente usado para investigar a influência da experiência sensorial no encéfalo e no comportamento (Diamond, 2001; Rosenzweig, 1966; van Praag et al., 2000). Os animais “enriquecidos” são criados em grandes grupos em gaiolas largas onde uma variedade de brinquedos, túneis, material de nidificação e escadas estão presentes e trocados com frequência. Além disso, os animais normalmente têm a oportunidade de praticar atividades físicas voluntárias nas rodas. Assim, os animais no AE têm a oportunidade de interações sociais aprimoradas, estímulos multissensoriais contínuos proporcionados pela novidade de novos objetos e altos níveis de atividade física (Spolidoro et al., 2009) (Figura 3.3).

Figura 3.3 – Enriquecimento ambiental.



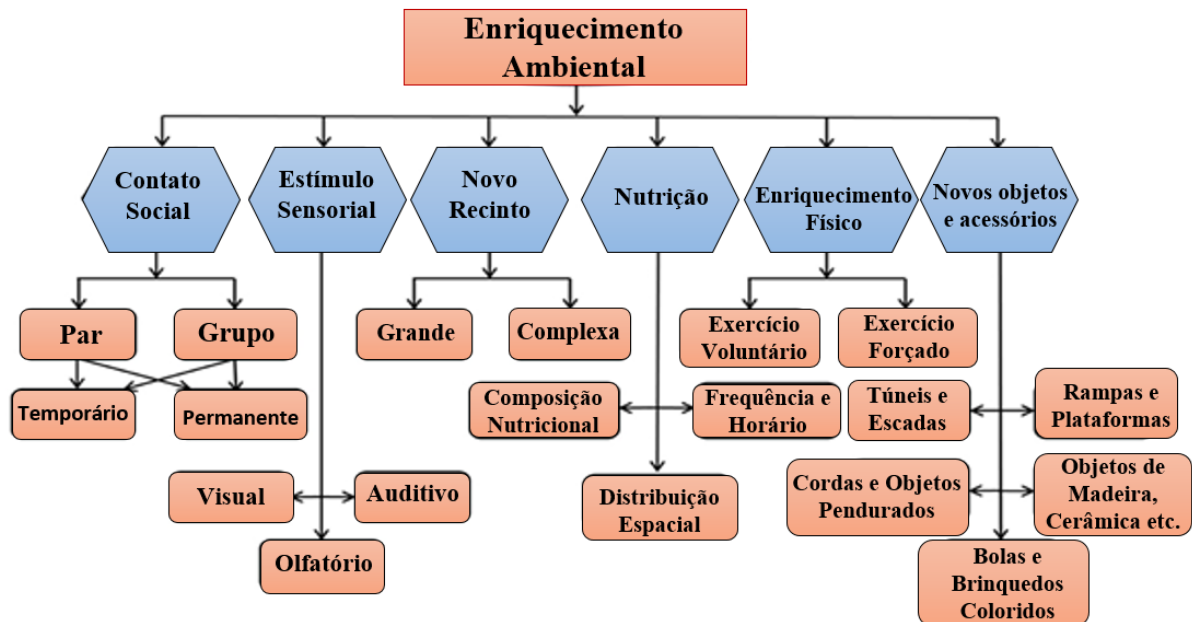
Legenda: Enriquecimento ambiental e os efeitos da estimulação sensorial, cognitiva e motora aprimorada em diferentes áreas do cérebro. Adaptado de Nithianantharajah & Hannan, 2006.

O AE pode promover ativação neuronal, sinalização celular e plasticidade em várias regiões do encéfalo. O aumento da estimulação sensorial e visual ativa os córtices somatossensorial e visual, respectivamente. O aumento da estimulação cognitiva, como por exemplo, a codificação de informações relativas ao espaço, o reconhecimento de objetos, a novidade e a modulação da atenção são capazes de ativar o hipocampo e outras áreas corticais. Além disso, o reforço da atividade motora e exploratória estimula áreas como o córtex motor e cerebelo (Nithianantharajah & Hannan, 2006).

Muitos estudos com roedores têm demonstrado os benefícios do AE para a estimulação de diferentes regiões do encéfalo, influenciando a neuroquímica e neuroanatomia, refletindo no aumento das atividades sensoriais-motoras, interações sociais, performances cognitivas e estimulação da plasticidade cerebral (Rosenzweig, 1966). Em roedores, o AE pode ser proporcionado de diferentes maneiras: fornecendo contato social (par, grupo, permanente, temporário), atividade física utilizando rodinhas de corrida, recintos novos, maiores e mais complexos, objetos e acessórios novos, estímulo sensorial (visual, auditivo e olfatório), e uma melhor nutrição (Singhal et al., 2014) (Figura 3.4). Abordagens equivalentes ao AE podem ser aplicadas em humanos. A exposição ao AE em humanos é capaz de promover estimulação mental, os exercícios aeróbicos modulam a neuroplasticidade e melhoram a capacidade de

resposta aos novos desafios e funções psicossociais (Singhal et al., 2014). Além disso, o AE é bem conhecido por prevenir o declínio cognitivo relacionado com a idade (Freret et al., 2012) e amenizar esta ocorrência nos modelos de doenças neurodegenerativas em roedores (Nithianantharajah & Hannan, 2006; van Praag et al., 2000). Mesmo quando aplicado em roedores adultos saudáveis, o AE de uma forma geral promove uma melhora na execução da memória espacial (Huang et al., 2007; Kempermann, Brandon, et al., 1998) e memória não espacial (Bruel-Jungerman et al., 2005; Rampon et al., 2000; Tang et al., 2001). Em roedores, o AE também possui efeito tipo-ansiolítico (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Galani et al., 2007) e tipo-antidepressivo (Hattori et al., 2007; Jha et al., 2011; Llorens-Martín et al., 2007; Xu et al., 2009).

Figura 3.4 – Métodos de enriquecimento ambiental para roedores em cativeiro.



Legenda: Enriquecimento ambiental para roedores em cativeiro pode ser obtido fornecendo contato social (par, grupo, permanente, temporário), atividade física utilizando rodinhas de corrida, recintos novos, maiores e mais complexos, objetos e acessórios novos, estímulo sensorial (visual, auditivo e olfatório), e uma melhor nutrição.

Fonte: Adaptado de Singhal et al., 2014.

Algumas alterações neurobiológicas que podem estar relacionadas com a exposição ao AE têm sido estudadas. Estudos com roedores alojados em um AE demonstram que há um aumento na espessura cortical (Bennett et al., 1969; DIAMOND et al., 1964), bem como no volume hipocampal (Kempermann et al., 1997). A exposição ao AE aumenta a plasticidade cerebral por meio de diferentes fatores de crescimento, como o BDNF (Ickes et al., 2000), e aumento da concentração de serotonina e noradrenalina hipocampal (Brenes et al., 2009; Galani et al., 2007).

Devido a perda de função da htt selvagem nos cérebros de indivíduos portadores da DH, a expressão de BDNF está reduzida, o que ocorre também em diversos modelos animais da DH (Pang et al., 2006; Zuccato & Cattaneo, 2007; Zuccato et al., 2001; Zuccato et al., 2005; Zuccato et al., 2008). Esta redução da expressão de BDNF se correlaciona com os déficits dependentes do hipocampo como aprendizagem e memória (Giralt et al., 2009; Grote & Hannan, 2007; Martinowich et al., 2007), e com a diminuição da neurogênese hipocampal (Gil-Mohapel et al., 2011), que ocorrem antes do início do aparecimento dos sintomas motores em diferentes modelos animais da DH (Lione et al., 1999; Murphy et al., 2000; Nithianantharajah et al., 2008; Pang et al., 2006).

Ainda, alterações em diferentes sistemas de neurotransmissores, por exemplo, colinérgicos (Bennett et al., 1969; Del Arco et al., 2007; Rosenzweig, 1966; van Praag et al., 2002), serotoninérgicos (Rasmuson et al., 1998), dopaminérgico (Bezard et al., 2003; Bowling et al., 1993; Del Arco et al., 2007; Faherty et al., 2005; Wagner et al., 2005; Zhu et al., 2005) e glutamatérgico (Bredy et al., 2004; Foster et al., 1996; Melendez et al., 2004; Mlynarik et al., 2004; Naka et al., 2005; Wood et al., 2005) podem ocorrer como consequência de viver em um ambiente enriquecido (AE). De acordo com Mora *et al.* (2007), o enriquecimento ambiental produz mudanças relevantes nas funções de diferentes sistemas de neurotransmissores em áreas específicas do encéfalo de animais jovens (Mora et al., 2007). Sendo assim, a modulação causada pela exposição a um AE nos neurotransmissores pode ter como consequência a modulação da neurogênese, levando à melhora dos sintomas em condições neurodegenerativas.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Animais

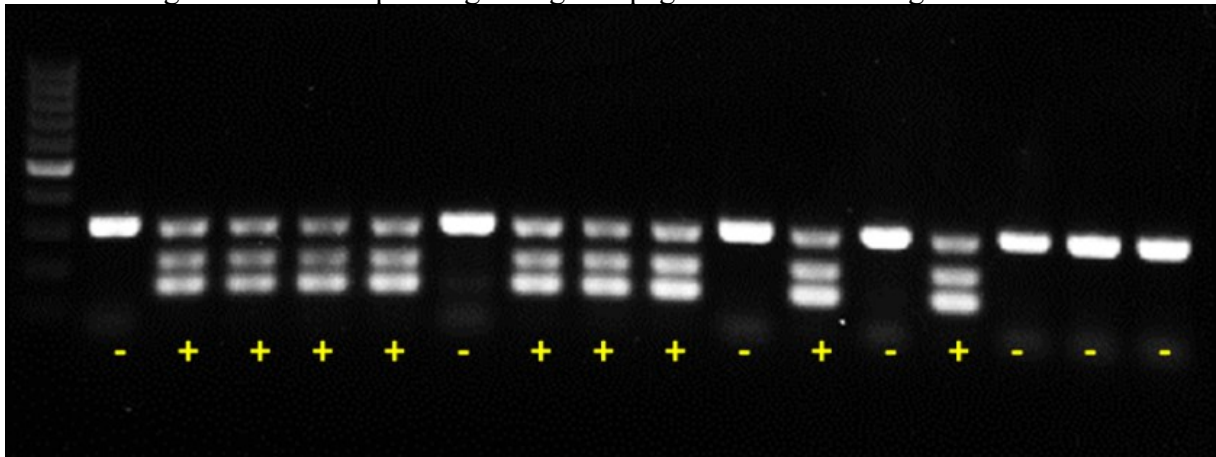
Os camundongos transgênicos YAC128 e selvagens foram gentilmente doados pelo Dr. Brian R. Christie da University of Victoria, Canadá. A colônia destes animais foi mantida em gaiolas opacas de plástico (30 x 20 x 13 cm) no biotério setorial do Departamento de Bioquímica na Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, Brasil), em estantes ventiladas e climatizadas a 21-23°C, com livre acesso a água e comida, sob um ciclo claro-escuro de 12:12h (07:00-19:00h) até o início do protocolo experimental. O presente estudo foi realizado com animais transgênicos YAC128 (n = 52) e selvagens (n = 47) de ambos os sexos (48 fêmeas e 51 machos), com idade de 2 meses no início do experimento (Protocolos CEUA:

PP00944 e 4502210318). Os animais foram genotipados de acordo com o protocolo descrito em (da Fonsêca et al., 2018; de Paula Nascimento-Castro et al., 2018).

3.3.2 Genotipagem dos animais

Amostras de tecido da orelha, coletadas no momento do desmame dos camundongos foram utilizadas para extração do DNA. As amostras foram incubadas em 300µL de solução de lise (250µL de solução de lise nuclear, 50µL de EDTA, 2µL de proteinase K (20mg/ml) e 2µL de solução de RNase) por 3 horas a 55°C. Após a digestão, foram adicionados 100µL de solução de precipitação proteica. Os tubos foram agitados, mantidos no gelo por aproximadamente 5 minutos e centrifugados a 14000g durante 4 minutos. O sobrenadante foi coletado e transferido para um tubo eppendorf contendo 300µL de álcool isopropílico. As amostras foram novamente centrifugadas a 14000g durante 1 minuto e, posteriormente, o sobrenadante foi descartado. Foram adicionados 300µL de etanol 70% e, em seguida, os tubos foram centrifugados a 14000g por 1 minuto. O álcool foi descartado e, após a secagem completa do tubo, o DNA foi reidratado com 50µL de água livre de nuclease. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em tubos de 200µL por meio da adição de mix contendo 5µL de Master Mix e 0,5µL de cada par de primer. Por último, são adicionados 2 µL de cada amostra de DNA (volume final: 10 µL). O ciclo utilizado para a amplificação foi: primeiro ciclo de 3 min. a 94°C, seguido de 35 ciclos de 30s a 94°C, 30s a 63°C e 30s a 72°C seguidos por 10min a 72°C e a 4°C até a realização da eletroforese. Os primers utilizados para a identificação do genótipo foram: LYA1= 5' CCTGCTCGCTTCGCTACTTGGAGC 3', LYA2= 5' GTCTTGCGCCTTAAACCAACTTGG 3', RYA1= 5' CTTGAGATCGGGCGTTCGACTCGC 3', RYA2= 5' CCGCACCTGTGGCGCCGGTGATGC 3', e utilizados como controle positivo: Actina R= 5' AGCCTCAGGGCATCGGAACC 3', Actina F= 5' GGAGACGGGGTCACCCACAC 3'. O produto da amplificação foi adicionado em gel de agarose 1,5% com 10,000X Syber e visualizado em fotodocumentador ChemiDoc (Figura 3.5) (Hofstetter et al., 1997).

Figura 3.5 – Exemplo do gel da genotipagem dos camundongos YAC128.



Legenda: Os símbolos (+) indicam animais positivos para a mutação (YAC128) e o (-) indicam animais negativos para a mutação (selvagens). Fonte: Autor, 2016.

3.3.3 Condições de habitação

Ambiente Controle: O ambiente controle (AC) consistia em gaiolas opacas de plástico medindo 41 x 34 x 16 cm onde ficavam até 6 animais cada, com água e comida disponíveis.

Ambiente Enriquecido: O AE consistia em gaiolas opacas de plástico medindo 41 x 34 x 16 cm onde ficavam até 6 animais cada, com água e comida disponíveis. Além disso, nessas gaiolas os objetos expostos no quadro 3.1 eram inseridos alternadamente de 1 a 2 vezes por semana, sendo de 3 a 5 objetos por gaiola.

Quadro 3.1 - Objetos utilizados no AE.

Rodas de correr de plástico e metal de cores diferentes	Blocos de montar de plástico de cores e tamanhos diferentes
	
Tubos de policloreto de polivinila (PVC) de 40mm de diâmetro	Material para toca e ninho de plástico e algodão
	

Fonte: Autora, 2021. (Barra de escala = 1 cm)

3.3.4 Protocolo Experimental

O protocolo experimental foi realizado em duas cohorts diferentes, cada uma delas com animais machos e fêmeas, selvagens e YAC128. Aos 60 dias de idade, cada cohort de animais foi dividida em 2 grandes grupos (Figura 3.6):

I) Ambiente Controle (AC): camundongos YAC128 e selvagens foram mantidos em caixas opacas de plástico (41 x 34 x 16 cm), de 4 a 6 animais por caixa, sem qualquer objeto;

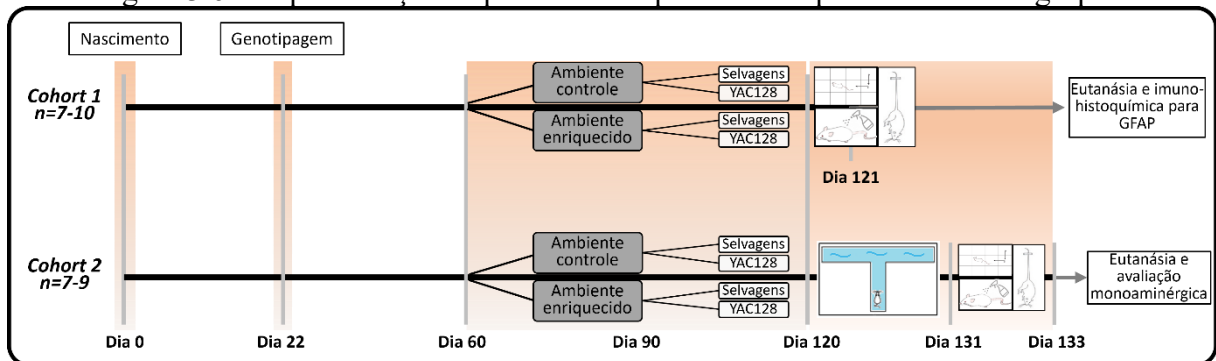
II) Ambiente Enriquecido (AE): camundongos YAC128 e selvagens foram mantidos em caixas opacas de plástico (41 x 34 x 16 cm), de 4 a 6 animais por caixa, com diferentes objetos de diferentes formas, tamanhos, cores e texturas, além de terem acesso a uma roda de corrida voluntária. A maioria dos objetos e suas localizações foram renovadas duas vezes na semana para garantir a novidade (Bouet et al., 2011).

Os animais ficaram expostos por 60 dias consecutivos aos respectivos ambientes (Figura 3). Durante a limpeza das caixas, que era realizada semanalmente, alguns objetos não foram mudados e nem limpos, bem como uma parte do material de nidificação da caixa anterior foi colocada na caixa limpa a fim de limitar comportamentos interindividuais aversivos dos machos (Van Loo et al., 2003).

Aos 121 dias de vida os animais da cohort 1 iniciaram uma bateria de testes comportamentais sendo eles o Teste de Campo Aberto (TCA), Teste da Borrifada da Sacarose (TBS) e por fim o Teste de Suspensão pela Cauda (TSC). Em seguida foram eutanasiados e tiveram o tecido cerebral processado para avaliar a expressão de GFAP através de imunohistoquímica.

Aos 121 dias de vida os animais da cohort 2 iniciaram uma bateria de testes comportamentais sendo eles Teste do Labirinto Aquático em T (TLAT) do dia 121 ao dia 131; TCA, no dia 132; seguido pelo TBS, também no dia 132; e por fim o TSC, também no dia 132. Após os testes, no dia 133 de vida, os animais da cohort 2 foram pesados, em seguida, eutanasiados e tiveram o tecido cerebral processado para avaliar as monoaminas Dopamina (DA), Serotonina (5HT) e Noradrenalina (NA) na região da formação hipocampal, do estriado e do córtex pré-frontal.

Figura 3.6 - Representação esquemática do protocolo experimental e dos grupos.



Legenda: As duas cohortes de animais foram genotipadas com 22 dias (desmame) e, quando completarem 60 dias de idade, foram randomicamente divididas em 4 grupos cada: Camundongos Selvagens AE e AC e Camundongos YAC128 AE e AC. Permaneceram nos respectivos ambientes até os 120 dias de vida. Após, a cohort 1 passou por testes comportamentais, eutanásia e avaliação imuno-histoquímica para GFAP e a cohort 2 passou por testes comportamentais, eutanásia e avaliação monoaminérgica.

3.3.5 Testes Comportamentais

Ao completar 4 meses de idade e após 2 meses de exposição nos respectivos ambientes (AE ou AC), os animais foram avaliados por meio de uma bateria de testes comportamentais descritos a seguir:

a) Teste do campo aberto

Para avaliar os efeitos da exposição dos camundongos selvagens e camundongos YAC128 ao AE na atividade locomotora e exploratória, foi realizado o Teste do Campo Aberto (TCA) conforme descrito anteriormente (Walsh & Cummins, 1976). A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do estresse e do conflito provocado pelo ambiente novo (Prut & Belzung, 2003). O aparato consiste em uma caixa de madeira medindo $40 \times 60 \times 50$ cm. O chão da arena foi dividido virtualmente em 2 regiões: centro e periferia. A distância percorrida e o tempo gasto no centro e na periferia da arena foram medidos durante um período de 6 minutos usando o programa Any-Maze (versão 4.72, 2010; Stoelting Company, Illinois, EUA). O aparato foi limpo com uma solução de etanol a 10% entre os ensaios para eliminar os odores dos animais (Figura 3.7).

Figura 3.7 – Teste do campo aberto



Fonte: Do autor, 2019.

b) Teste da Borrifada da Sacarose

O TBS, adaptado do protocolo previamente descrito por Isingrini *et al.* (2010), consiste em borrifar uma solução de sacarose 10% sob o dorso do animal (Isingrini et al., 2010). Devido à sua viscosidade, a solução de sacarose suja o pelo do animal e ele inicia o comportamento de autolimpeza (*grooming*), indicando um sinal de autocuidado. A latência para iniciar o comportamento de autolimpeza e o tempo total de limpeza no período de 5 minutos foram registrados. Pela solução ser palatável, o tempo que o animal passa se limpando pode ser interpretado como uma mensuração de comportamento tipo-anedônico. O aparato foi limpo com uma solução de etanol 10% entre os testes, a fim de eliminar pistas olfativas aos animais (Figura 3.8).

Figura 3.8 – Teste da borrifada da sacarose.



Fonte: Do autor, 2019.

c) Teste de Suspensão pela Cauda

Para a avaliação do comportamento tipo-depressivo foi utilizado o TSC. O experimento consistiu em fixar a extremidade distal da cauda do animal com fita adesiva, a 60 cm de altura do chão, mantendo-o na vertical, de cabeça para baixo. Dessa forma, cada animal foi suspenso pela cauda durante 6 min, sendo quantificado o tempo total de imobilidade (em segundos) do animal. A imobilidade foi definida pela ausência de movimentos, incluindo balanços passivos do corpo. O animal submetido a essa situação de estresse inescapável apresenta dois tipos de comportamentos alternados, a agitação, característica da tentativa de escape, e a imobilidade. Fármacos antidepressivos, utilizados na clínica são capazes de reduzir o tempo de imobilidade de animais submetidos ao TSC, nesse sentido, o aumento do tempo de imobilidade está relacionado a comportamentos do tipo-depressivo (Cryan et al., 2005; Steru et al., 1985) (Figura 3.9).

Figura 3.9 – Teste de suspensão pela cauda.



Fonte: Do autor, 2019.

d) Teste do Labirinto Aquático em T

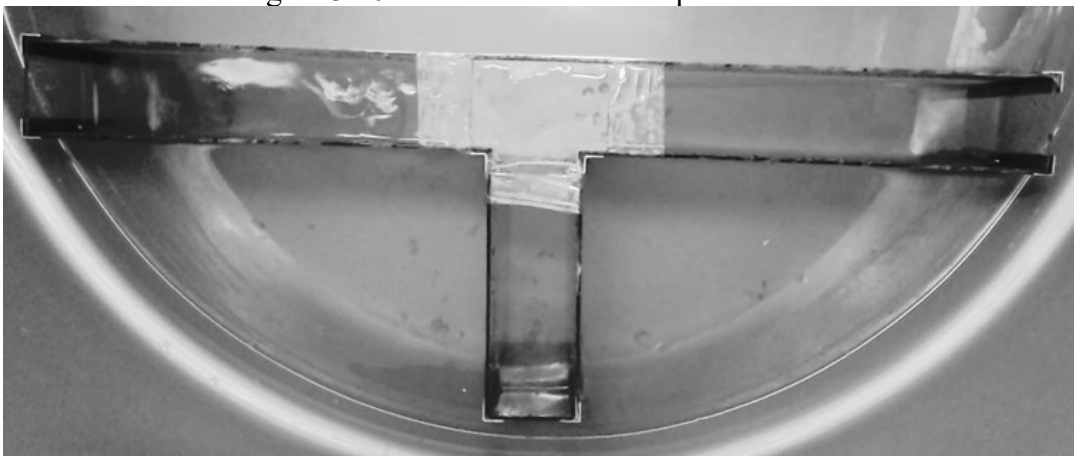
O teste de natação no labirinto em T foi utilizado para avaliação da aprendizagem procedural e espacial (localização da plataforma em um labirinto) (Van Raamsdonk, Pearson, Slow, et al., 2005). O aparato para o teste foi construído em acrílico transparente, com os braços de 30 cm de altura e 7 cm de largura. A base do labirinto tem 21,5 cm de comprimento e os dois braços laterais perpendiculares de 37 cm de comprimento. Para a execução do teste, o aparato foi preenchido com água até uma profundidade de 22,5 cm a $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Uma plataforma de fuga, de acrílico transparente, foi utilizada (Brooks et al., 2012). O tempo para alcançar a plataforma e o caminho percorrido (nº de entrada nos braços) foram registrados. Na 1ª fase, a plataforma é posicionada no final do braço direito do labirinto e os animais colocados na base

do labirinto. Os camundongos foram submetidos a 4 sessões por dia espaçadas por 45 minutos por 3 dias.

Além da fase de aprendizagem (1ª fase), foi realizado o teste de inversão de estratégia no labirinto em T (2ª fase). Após 1 dia de intervalo, a 2ª fase foi realizada para avaliação da capacidade dos animais de substituir uma estratégia aprendida anteriormente. A plataforma foi colocada no final do braço esquerdo do labirinto em T e, novamente, o tempo para alcançar a plataforma e o caminho percorrido (nº de entrada nos braços) foram registrados. Os camundongos foram submetidos a 4 sessões por dia espaçadas por 45 minutos por 3 dias.

Os resultados foram expressos como a média de tempo gasto para alcançar a plataforma por sessão. Adicionalmente, a análise de erros foi feita adotando uma pontuação de 0 ou 1 por sessão. Zero quando os animais adotam o braço correto do labirinto e um quando seguem o caminho errado (braço oposto a plataforma ou base do labirinto). Valores mais próximos a 1 representam maior número de erros. Esta análise de erros fornece uma melhor percepção de como os grupos realizaram as tarefas de maneira diferente. Para excluir a possibilidade de déficits motores influenciarem no desempenho do animal, a velocidade de natação no T-maze foi calculada. Após o teste de inversão de estratégia, a velocidade de natação dos camundongos foi avaliada fazendo o bloqueio da base do labirinto em T e, assim, foi mensurado o tempo que os animais levavam para nadar até a plataforma. Os camundongos tiveram cinco tentativas separadas por 45 minutos e as últimas 4 sessões foram usadas para calcular a velocidade de natação. O teste do labirinto em T foi escolhido porque os animais FVB/N possuem degeneração da retina (Huerta et al., 1999; Taketo et al., 1991) e esse teste não depende de pistas visuais externas (Van Raamsdonk, Pearson, Slow, et al., 2005) (Figura 3.10).

Figura 3.10 – Teste do labirinto aquático em T.



Fonte: Do autor, 2019.

3.3.6 Imuno-histoquímica para GFAP

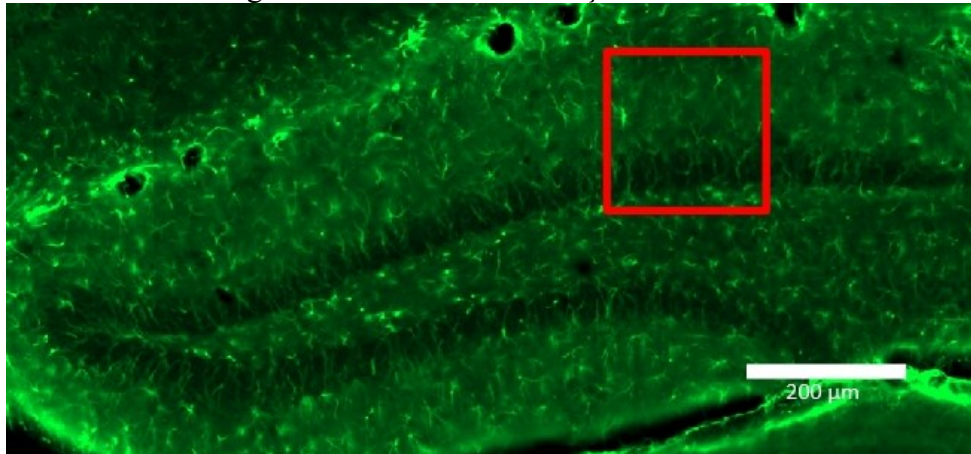
Aos 121 dias de idade, os animais foram anestesiados intraperitonealmente (i.p.) com quetamina (100 mg/Kg) e xilazina (8 mg/Kg) e perfundidos com solução salina 0,9%, seguida de paraformaldeído 4%. Os encéfalos foram removidos da calota craniana e ficaram por 12h em solução de paraformaldeído 4%, e depois foram colocados em solução de sacarose a 30%. Após a saturação, cortes seriados de 30µm de espessura foram feitos utilizando o vibratomo (Vibratome, Series 1000, St. Louis, MO, EUA). As fatias foram coletadas em 1/6 séries e mantidas em solução de PBS (salina tamponada de fosfato) com azida 0,05%. Para avaliar a astrocitose no GD da formação hipocampal realizou-se imuno-histoquímica para marcar GFAP em uma série de fatias cerebrais. Logo após a lavagem com PBS 0,1 M, o tecido foi bloqueado com solução de bloqueio a 5% (soro de cabra normal a 5% em PBS 0,1M e Triton X-100 a 0,25%) e incubado com um anticorpo primário de coelho anti-GFAP (DAKO, Z0334) 1:1000 por um período de 36 horas a uma temperatura de 4°C. As fatias foram lavadas (PBS 0,1M e Triton X-100 a 0,25%) e bloqueadas novamente (soro de cabra normal a 2% em PBS 0,1M com Triton X-100 a 0,25%) por 10 min em temperatura ambiente. Em seguida, incubou-se as fatias com um anticorpo secundário anti-coelho conjugado com biotina (1:200, Vector Laboratories) dissolvido em solução de bloqueio a 2% à temperatura ambiente durante 2 horas, ao abrigo de luz. Depois de lavados novamente (PBS 0,1M) as fatias receberam streptavidin conjugada com fluoróforo Alexa Fluor 488 diluído em PBS 0,1M e Triton X-100 a 0,25% durante 2 horas, ao abrigo de luz. Após novas lavagens (PBS 0,1M) as fatias foram montadas em lâminas gelatinizadas (revestidas de gelatina 2%). Depois de secar por cerca de 5 minutos as fatias foram cobertas com a lamínulas em meio de montagem DPX (Sigma-Aldrich) e armazenadas a 4°C.

3.3.6.1 *Quantificação Morfológica*

A quantificação morfológica foi realizada em imagens capturadas através do escaneador de lâminas ZEISS Axio Scan.Z1 (Jena, Turíngia, Alemanha), com objetiva de 20x, com auxílio do programa ZEN Wildfield 2012 Blue Edition. Todas as imagens foram capturadas com as mesmas configurações de iluminação e brilho. A densidade de células GFAP-positivas por mm² e a intensidade de fluorescência foram estimados através de quadros desenhados, com o programa ZEN Wildfield, no GD da formação hipocampal (Viola et al., 2009). Foram escolhidas quatro fatias por indivíduo, entre o Bregma 1,34 a 3,52, dos cortes coronais, sendo duas fatias aleatórias da porção dorsal do GD (Bregma 1,34 a 2,30) e duas fatias

aleatórias da porção ventral do GD (Bregma 2,30 a 3,52) (Franklin & Paxinos, 2019). Então foi desenhado um quadro de 0,04mm² nas respectivas fatias, resultado em dois quadros na região dorsal e dois na região ventral, possibilitando assim a avaliação separada por regiões. As células GFAP-positivas em cada quadro e na intersecção das bordas inferior e esquerda de cada quadro foram contatadas (Figura 3.11).

Figura 3.11 – Área de avaliação de GFAP.



Legenda: Imuno-histoquímica para GFAP, exemplificando em vermelho área de avaliação de densidade de células positivas e intensidade de fluorescência para GFAP no GD da formação hipocampal. Fonte: Do autor, 2019.

3.3.7 Análise dos níveis de monoaminas

Os animais da cohort 2 foram eutanasiados no dia 133 de vida, após a realização dos testes comportamentais, e tiveram o tecido cerebral processado para avaliar as monoaminas. Os níveis de monoaminas DA, NA e 5-HT foram avaliados por HPLC (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*) e detectados por fluorescência (De Benedetto *et al.*, 2014) em homogenatos de córtex pré-frontal, hipocampo e estriado dos camundongos selvagens e YAC128. As amostras cerebrais foram homogeneizadas em ácido perclórico 0,2 M contendo 3 mM de cisteína a 1:5 (p:v). O homogenato foi centrifugado a 12.000 x g, por 10 min a 4 °C e o sobrenadante resultante foi congelado (-80 °C) para análise subsequente. Uma curva padrão foi realizada com concentrações variando de 0,016 a 2,50 ng/uL e utilizada para estimar os níveis de DA, 5-HT e NA. O aparelho de HPLC utilizado era da Jasco® (sistema LC-2000 Plus), usando uma coluna ACE® C18 Ultra-Inert, a uma taxa de fluxo de 0,6 ml/minuto. As monoaminas foram eluídas em solução isocrática de acetato (ácido acético 12 mM, EDTA 0,26 mM) e metanol (86:14 v/v). A fluorescência foi monitorada utilizando comprimento de onda de excitação a 279 nm e comprimento de onda de emissão a 320 nm.

3.3.8 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica 13 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA) e GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, Boston, Massachusetts EUA). Todos os dados foram analisados quanto a sua normalidade, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnof. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias para genótipo (selvagem x YAC128) e ambiente (controle x enriquecido), seguida do teste de comparação múltiplas entre as médias *post-hoc* de Fisher LSD (diferença mínima significativa, do inglês *least significant difference*). Os dados de velocidade no TCA e tempo no TLAT foram analisados por ANOVA de medidas repetidas seguida de teste de *post-hoc* de Fisher LSD. Os dados do caminho para encontrar a plataforma no TLAT foram avaliados por teste de qui-quadrado. O coeficiente de correlação de Pearson e de Spearman foram utilizados para determinar associações entre variáveis com distribuição normal e sem distribuição normal respectivamente. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Peso Corporal

A avaliação do peso corporal dos camundongos, através de ANOVA de duas vias revelou que não houve efeito do genótipo [$F(1, 32) = 2.66$; $p = 0.11$], nem do ambiente [$F(1, 32) = 0.09$; $p = 0.77$], tão pouco da interação entre os dois fatores [$F(1, 32) = 2.20$; $p = 0.15$] (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Peso corporal de camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AC e ao AE.

Ambiente	Genótipo	Peso corporal (g)	N
Controle	Selvagem	26.78 \pm 0.74	09 (4F–5M)
	YAC128	26.9 \pm 1.00	10 (6F–4M)
Enriquecido	Selvagem	25.29 \pm 0.68	07 (4F–3M)
	YAC128	27.90 \pm 0.74	10 (4F–5M)

Dados representam média \pm E.P.M. F = Fêmeas M = Machos.

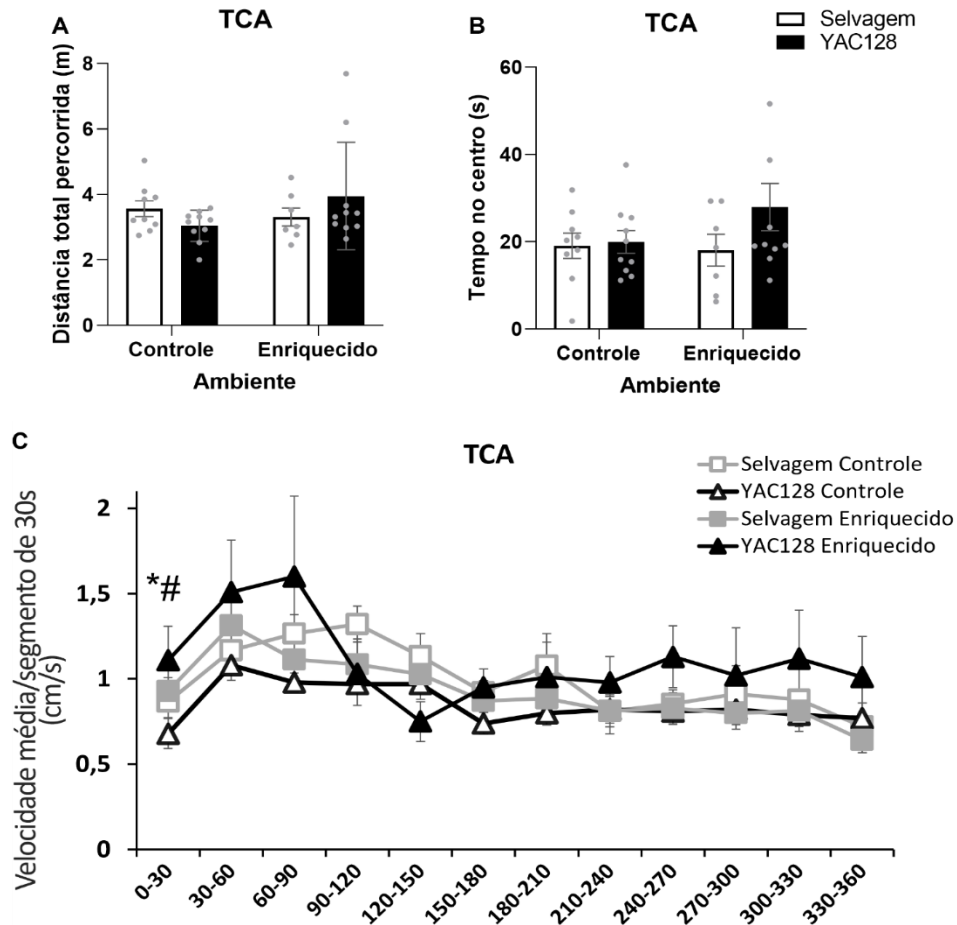
3.4.2 Avaliação Comportamental

3.4.2.1 Avaliação da locomoção e do comportamento do tipo-ansioso em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AE

Na distância total percorrida no TCA a ANOVA de duas vias não revelou efeitos do genótipo [$F(1, 32) = 0,11$; $p = 0,74$], nem do ambiente [$F(1, 32) = 0,52$; $p = 0,47$], ou interação entre ambiente e genótipo [$F(1, 32) = 3,19$; $p = 0,08$]. Quanto ao parâmetro do tempo de permanência no centro do aparato, a ANOVA de duas vias revelou que também não houve efeito significativo do genótipo [$F(1, 32) = 2,04$; $p = 0,16$], nem do ambiente [$F(1, 32) = 0,52$; $p = 0,47$], ou interação entre ambiente e genótipo [$F(1, 32) = 0,96$; $p = 0,33$] (Figura 3.12 A-B).

Ainda no TCA foi perceptível uma mudança de velocidade dos animais ao longo dos 6 min de avaliação. Então realizou-se uma avaliação da velocidade média dos animais a cada segmento de 30 segundos do teste. A ANOVA de duas vias de medidas repetidas revelou um efeito por segmento do teste [$F(11, 539) = 7,02$; $p < 0,01$] e um efeito da interação entre segmento e grupo [$F(3, 49) = 1,28$; $p = 0,01$]. O teste *post-hoc* de Fisher LSD demonstrou que, nos primeiros 30 segundos do TCA, os camundongos YAC128 expostos ao AC apresentaram uma velocidade média significativamente menor do que os camundongos selvagens expostos ao AC ($p = 0,02$) e do que os camundongos YAC128 expostos ao AE ($p < 0,01$) (Figura 3.12 C).

Figura 3.12 – Avaliação dos efeitos do AE no teste do campo aberto (TCA).



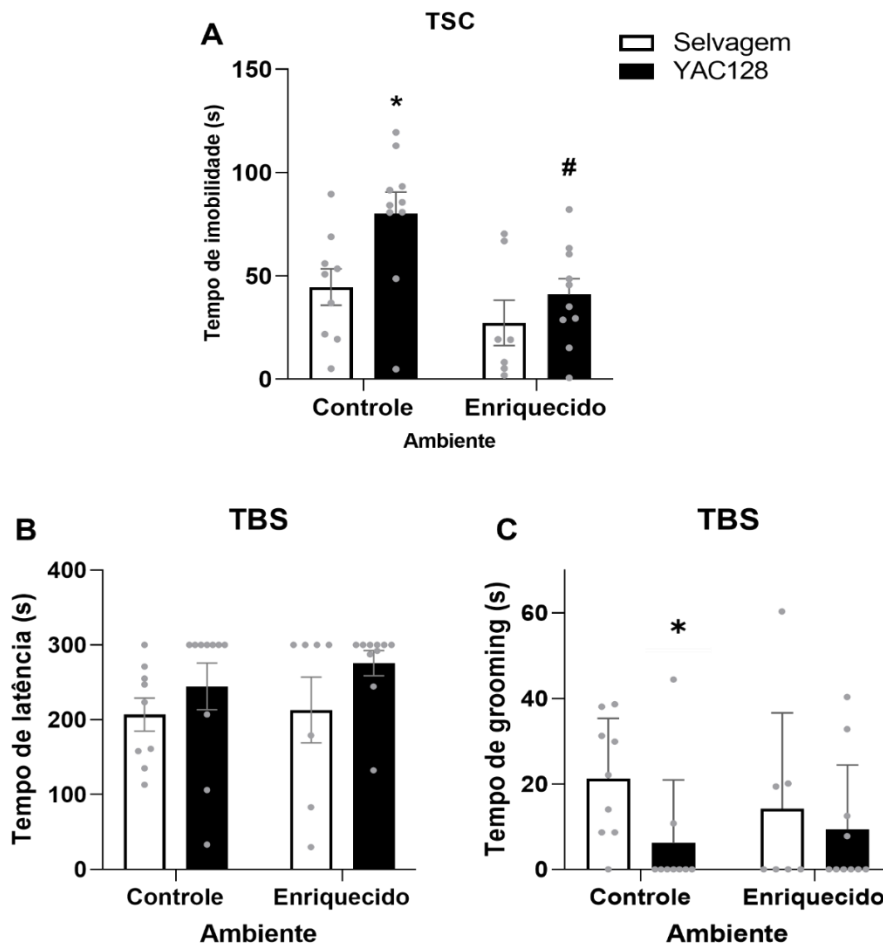
Legenda: Efeitos do AE em camundongos selvagens e YAC128 no teste do CA. A) Distância total percorrida no TCA. B) Tempo gasto no centro do TCA. C) Velocidade média por segmento de 30 s no CA. * $p < 0,05$ grupo YAC128 exposto as AC em comparação com o grupo selvagem exposto ao AC no mesmo segmento de tempo; # $p < 0,05$ grupo YAC128 exposto ao AC em comparação com o grupo YAC128 exposto ao AE no mesmo segmento de tempo.

3.4.2.2 Avaliação do comportamento do tipo-depressivo e anedônico em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AE

No TSC foi avaliado o tempo de imobilidade dos animais no período de 6 minutos. A ANOVA de duas vias mostrou efeito do genótipo [$F(1, 32) = 6,67, p = 0,01$], também mostrou efeito do ambiente [$F(1, 32) = 8,81, p < 0,01$]. No entanto, não houve efeito da interação entre genótipo e ambiente [$F(1, 32) = 1,32, p = 0,26$]. O teste *post-hoc* de Fisher LSD demonstrou que os camundongos YAC128 expostos ao AC permaneceram mais tempo imóveis do que os animais selvagens expostos ao AC ($p < 0,01$) e do que os camundongos YAC128 expostos ao AE ($p < 0,01$) (Figura 3.13 A).

A análise realizada a partir do TBS possibilitou verificar o tempo de latência para início da autolimpeza e o tempo de autolimpeza durante o período de 5 minutos. Na latência a ANOVA de duas vias não demonstrou efeito do genótipo [$F(1, 32) = 3,07$; $p = 0,09$], nem do ambiente [$F(1, 32) = 0,42$; $p = 0,52$] ou da interação entre genótipo e ambiente [$F(1, 32) = 0,19$; $p = 0,66$]. Quanto ao tempo de autolimpeza a ANOVA de duas vias demonstrou efeito do genótipo [$F(1, 31) = 4,47$; $p = 0,04$], mas não do ambiente [$F(1, 31) = 0,38$; $p = 0,53$] ou da interação entre genótipo e ambiente [$F(1, 31) = 2,20$; $p = 0,15$]. O teste *post-hoc* de Fisher LSD demonstrou que os camundongos YAC128 expostos ao AC apresentaram menor tempo de *grooming* do que camundongos selvagens expostos ao AC ($p < 0,05$) (Figura 3.13 B-C).

Figura 3.13 – Avaliação do comportamento do tipo-depressivo e tipo-anedônico em camundongos expostos ao AE.

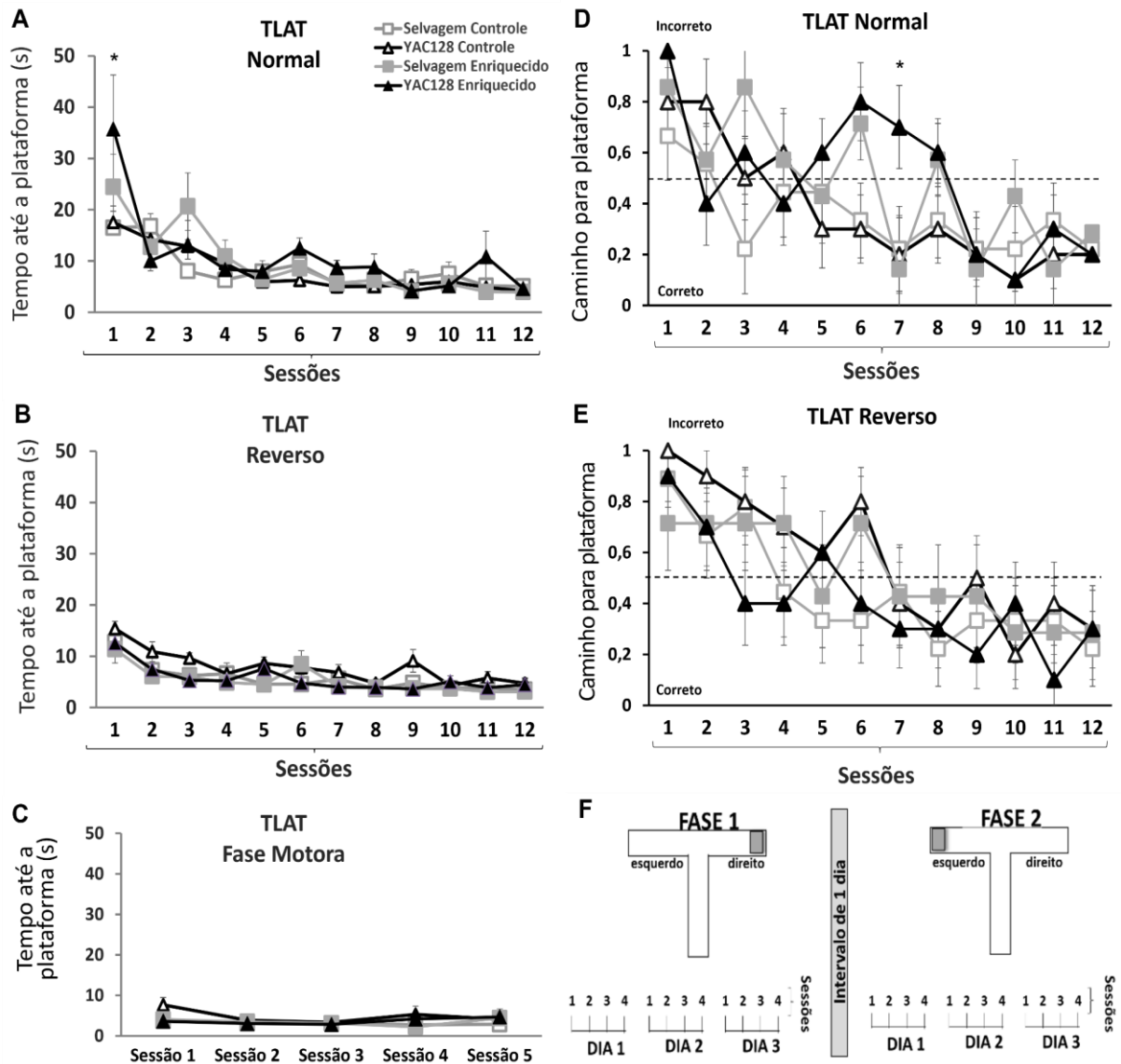


Legenda: Efeitos do AE em camundongos selvagens e YAC128 no TSC e no TBS. A) Tempo de imobilidade no TSC. B) Tempo de latência para início do *grooming* no TBS. C) Tempo de *grooming*. No TBS. * $p < 0,05$ em comparação com o grupo selvagem exposto ao AC. # $p < 0,05$ em comparação com o grupo YAC128 exposto ao AC.

3.4.2.3 Avaliação de aprendizado procedural e espacial em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao AE

A análise realizada no TLAT foi realizada para verificar o aprendizado procedural e espacial (Van Raamsdonk, Pearson, Slow, et al., 2005). A ANOVA de duas vias com medidas repetidas (sessões) revelou um efeito das sessões [$F(11, 352) = 14,64$; $p < 0,01$] e do ambiente ao longo das sessões [$F(11, 352) = 2,42$; $p < 0,01$]. O teste *post-hoc* de Fisher LSD demonstrou que na primeira sessão do dia 1 os animais transgênicos expostos ao AE levaram mais tempo para encontrar a plataforma do que os animais transgênicos expostos ao AC ($p < 0,01$). Além disso, em todos os grupos o tempo para alcançar a plataforma diminuiu ao longo das sessões comparando com o respectivo grupo na primeira sessão. A fase reversa do TLAT foi realizada para verificar a capacidade de mudança de estratégia e a ANOVA de duas vias com medidas repetidas (sessão) revelou um efeito ao longo das sessões [$F(11, 352) = 18,83$; $p < 0,01$]. O teste *post-hoc* de Fisher LSD demonstrou que todos os grupos encontraram a plataforma mais rapidamente em todas as sessões comparando com o respectivo grupo na primeira sessão. A fase motora do TLAT foi realizada a fim de descartar possíveis alterações motoras que interferissem na natação dos animais. Nessa fase não houve diferença significativa entre os grupos no tempo para alcançar a plataforma ao longo das sessões (Figura 3.14). O caminho percorrido por cada animal também foi avaliado. A natação na direção correta da plataforma (lado direito na fase normal e lado esquerdo na fase reversa) recebeu arbitrariamente uma pontuação 0, enquanto a natação ao lado oposto recebeu uma pontuação 1. O teste qui-quadrado revelou que na terceira sessão do segundo dia (sessão 7) os camundongos YAC128 expostos ao AE erraram significativamente mais vezes o caminho para plataforma ($\chi^2 = 8,49$; $p = 0,04$).

Figura 3.14 – Avaliação dos efeitos do AE no teste do labirinto aquático em T (TLAT).

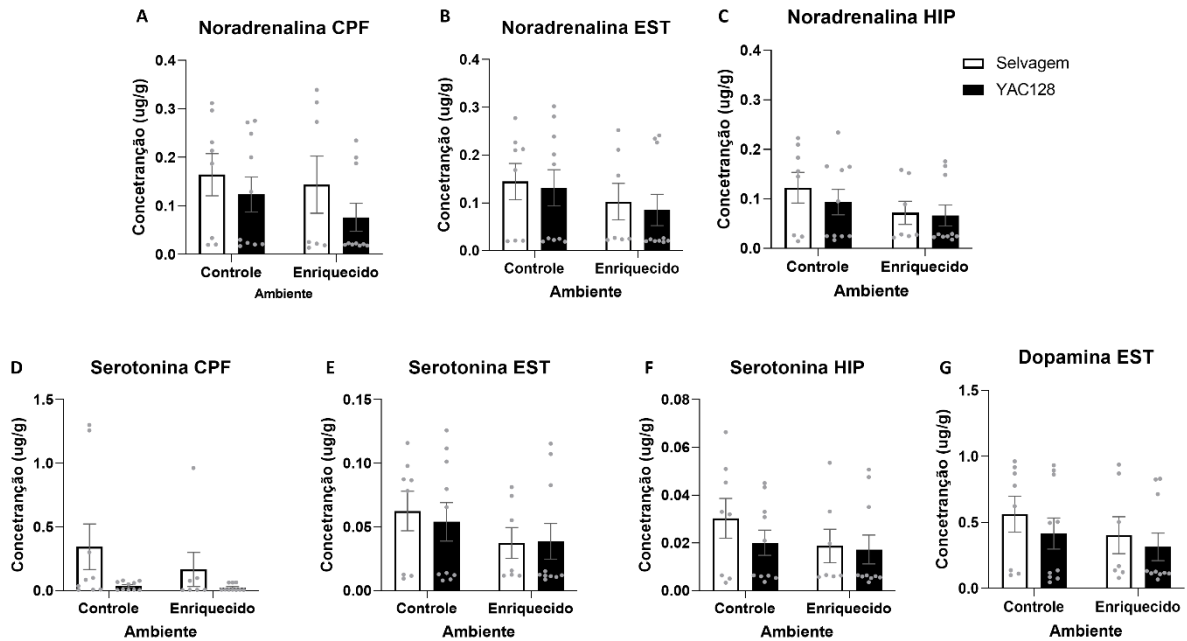


Legenda: Efeitos do AE em camundongos selvagens e YAC128 no TLAT. A) Tempo de natação até a plataforma na fase normal. B) Tempo de natação até a plataforma na fase reversa. C) Tempo de natação até a plataforma na fase motora. D) Caminho percorrido para chegar na plataforma na fase normal. E) Caminho percorrido para chegar à plataforma na fase reversa. F) Esquema do protocolo do TLAT.

3.4.3 Avaliação dos Níveis de Monoaminas

Os níveis de monoaminas (DA, NA e 5-HT) foram avaliados no hipocampo, córtex pré-frontal e estriado dos animais pela técnica de HPLC, baseado em suas autofluorescências. As monoaminas não apresentaram diferenças entre os grupos nas três regiões cerebrais analisadas (CPF, EST e HIP) (Figura 3.15).

Figura 3.15 – Avaliação dos efeitos do AE sobre as monoaminas encefálicas.



Legenda: Efeitos do AE sobre as monoaminas encefálicas em camundongos selvagens e YAC128. A) Noradrenalina do córtex pré-frontal (CPF). B) Noradrenalina no estriado (EST). C) Noradrenalina no hipocampo (HIP). D) Serotonina no CPF. E) Serotonina no EST. F) Serotonina no HIP. G) Dopamina no EST.

3.4.4 Efeito do AE Sobre a Expressão de GFAP no GD da Formação Hipocampal

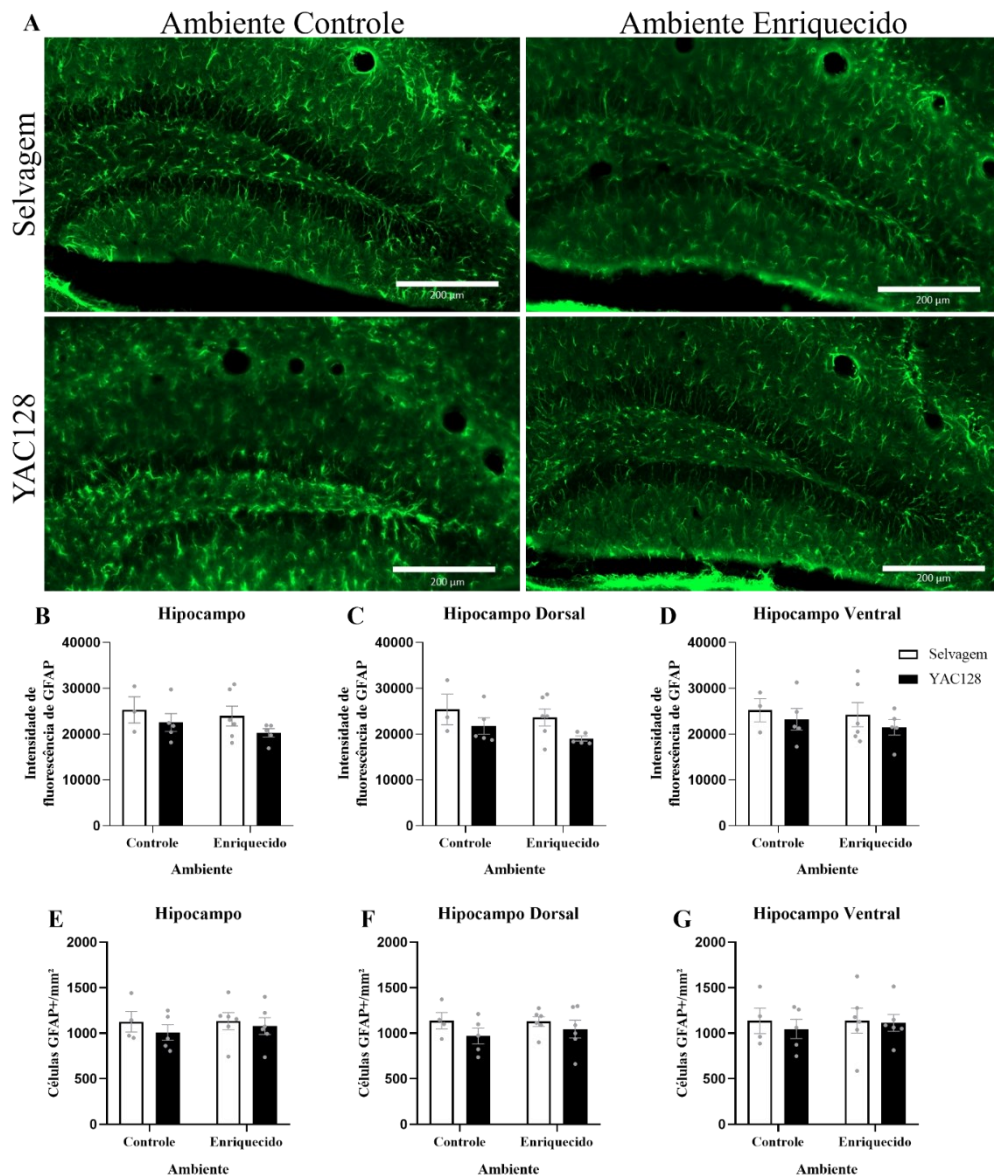
A imuno-histoquímica para GFAP foi utilizada para avaliar intensidade de fluorescência e a densidade de células da glia na região total do GD da formação hipocampal, sendo considerado também as sub-regiões dorsal e ventral do GD (Figura 3.16).

A ANOVA de duas vias revelou que a intensidade de fluorescência no GD total não sofreu efeito significativo do genótipo [$F(1, 15) = 2,46; p = 0,14$], nem do ambiente [$F(1, 15) = 0,78; p = 0,39$], tampouco da interação entre os dois fatores [$F(1, 15) = 0,05; p = 0,83$]. Por outro lado, ao avaliarmos a região dorsal do GD separadamente, revelou-se um efeito significativo do genótipo sobre intensidade de fluorescência [$F(1, 15) = 4,67; p < 0,05$]. Porém o ambiente [$F(1, 15) = 1,41; p = 0,25$] e a interação [$F(1, 15) = 0,07; p = 0,80$] dos dois fatores não causou efeito na intensidade de fluorescência dorsal. A região ventral do GD não sofreu efeito do genótipo [$F(1, 15) = 0,90; p = 0,36$], nem do ambiente [$F(1, 15) = 0,30; p = 0,59$], tampouco da interação entre os dois fatores [$F(1, 15) = 0,03; p = 0,87$] (Figura 3.16 B-D).

A quantidade de células GFAP-positivas foi analisada através de ANOVA de duas vias que revelou que no GD total não houve efeito significativo do genótipo [$F(1, 17) = 0,80; p = 0,38$], nem do ambiente [$F(1, 17) = 0,16; p = 0,70$], tampouco da interação entre os dois fatores [$F(1, 17) = 0,11; p = 0,74$]. Ao avaliarmos a região dorsal do GD separadamente, vimos que

não houve um efeito significativo do genótipo sobre quantidade de células positivas para GFAP [$F(1, 17) = 2,25$; $p = 0,15$]. Também não houve efeito do ambiente [$F(1, 17) = 0,15$; $p = 0,70$] nem da interação [$F(1, 17) = 0,27$; $p = 0,61$] dos dois fatores não causou efeito na intensidade de fluorescência dorsal. A região ventral do GD também não sofreu efeito do genótipo [$F(1, 17) = 0,23$; $p = 0,64$], nem do ambiente [$F(1, 17) = 0,08$; $p = 0,79$], tampouco da interação entre os dois fatores [$F(1, 17) = 0,07$; $p = 0,807$] (Figura 3.16 E-G).

Figura 3.16 - Imuno-histoquímica para GFAP em camundongos selvagens e YAC128.



Legenda: Imuno-histoquímica para GFAP em camundongos selvagens e YAC128 expostos ao ambiente controle e ao ambiente enriquecido. A) Figuras representativas da imuno-histoquímicas para GFAP no giro denteado do hipocampo. B-D) Efeitos do AE sobre a imunomarcagem de GFAP na formação hipocampal de camundongos selvagens e YAC128. B) Intensidade de fluorescência no hipocampo. C) Intensidade de fluorescência na região dorsal do hipocampo. D) Intensidade de fluorescência na região ventral do hipocampo. E-G) Efeitos do AE sobre a quantidade de células da glia da formação hipocampal. E) Quantidade de células da glia no hipocampo. F) Quantidade de células da glia na região dorsal do hipocampo. G) Quantidade de células da glia na região ventral do hipocampo.

3.5 DISCUSSÃO

A investigação dos mecanismos envolvidos na DH com o intuito de encontrar estratégias para a modulação dos sintomas pré-motores e motores utiliza-se de modelos animais como o camundongo transgênico YAC128. Estudos de enriquecimento ambiental usando modelos de camundongos transgênicos de doenças neurodegenerativas revelaram interações gene-ambiente e plasticidade dependente da experiência (Nithianantharajah & Hannan, 2006). Dentro desta perspectiva, neste estudo avaliou-se como o AE poderia afetar o comportamento do camundongo YAC128, modelo animal da DH.

Neste estudo, a avaliação do peso corporal não revelou diferenças significativas entre os grupos. Esta constatação está alinhada com resultados de outros estudos que também não encontraram discrepâncias no peso entre camundongos YAC128 e seus controle selvagens, seja aos quatro meses de idade (Brooks et al., 2012) ou aos 20 meses de idade (Steventon et al., 2015). É digno de nota que os estudos de Brooks e Steventon envolveram a linhagem de camundongos YAC128 cruzada com a linhagem C57BL6/J. Uma pesquisa conduzida por Van Raamsdonk e colegas, que avaliou o peso de camundongos YAC128 de linhagens FVB/N e C57BL6 aos doze meses de idade, encontrou um aumento de peso na linhagem FVB/N, mas não na linhagem C57BL6 (Van Raamsdonk, Metzler et al., 2007), sugerindo que a linhagem também desempenha um papel no ganho de peso corporal. É importante ressaltar que embora a perda de peso corporal seja documentada em estágios clínicos iniciais e posteriores da DH (Djoussé et al., 2002);(Sanberg et al., 1981), os camundongos YAC128 apresentam ganho de peso (Plácido et al., 2023; Pouladi et al., 2010; Slow et al., 2003). Outro modelo transgênico completo de DH, os camundongos BACHD, também exibiram ganho de peso (Pouladi et al., 2010), enquanto os camundongos R6/2 apresentaram perda de peso (Sjögren et al., 2019).

Além disso, foi observado que o AE é capaz de prevenir o ganho de peso, inclusive em camundongos YAC128, embora esse efeito tenha sido registrado em camundongos com apenas 2 meses de idade (Plácido et al., 2023). No entanto, os resultados variam no que diz respeito aos efeitos do enriquecimento cognitivo sobre o peso dos camundongos YAC128, com alguns estudos não revelando impactos significativos (Steventon et al., 2015) ao passo que Radulescu (2017) observou um aumento de peso nos camundongos YAC128 expostos ao AE. O enriquecimento ambiental pode ser translacionado para condição humana de diferentes formas, como por exemplo através da combinação de um estilo de vida ativo, incluindo fatores de estimulação física, social e cognitiva (Schiefer et al., 2015). Em pacientes com DH um programa de reabilitação de um ano, com foco em exercícios físicos, atividades sociais, sessões

de grupo/ensino, além de implementação de cuidados de saúde e serviços sociais coordenados demonstrou uma melhora no índice de massa corporal dos pacientes (Piira et al., 2013).

Em nossa avaliação da locomoção e ansiedade no CA, os camundongos selvagens e YAC128, com quatro meses de idade, expostos ao AC e ao AE, apresentaram distância total percorrida e tempo de permanência no centro do aparato semelhantes. Esse resultado foi semelhante ao de Radulescu que também não encontrou diferenças entre camundongos YAC128 e selvagens expostos ao AE no tempo de permanência no centro do aparato (Radulescu, 2017). Nosso grupo também avaliou o comportamento no CA aos dois meses e encontrou diferentes resultados, em um dos trabalhos não houve diferença no tempo gasto no centro e na periferia (Plácido et al., 2023), porém em outro o comportamento do tipo-ansioso foi reportado, pois os camundongos YAC128, aos dois meses de idade, ficaram menos tempo no centro do CA (de Paula Nascimento-Castro et al., 2018). Aos três meses de idade camundongos YAC128 apresentaram hiperatividade no TCA, porém aos doze meses de idade apresentaram hipoatividade no mesmo teste (Slow et al., 2003). No entanto neste protocolo o teste durava 10 minutos, diferentemente do nosso protocolo onde a duração era de apenas 6 minutos, colocando em dúvida se há uma diferença de atividade ao longo do tempo.

Nós avaliamos também a velocidade média dos animais ao longo do tempo no CA. Curiosamente encontramos uma diferença na velocidade no início do teste, onde um efeito do ambiente foi perceptível nos camundongos YAC128. Os camundongos selvagens expostos ao AC e ao AE demonstraram um padrão semelhante de velocidade ao longo do teste. Já os camundongos YAC128 expostos ao AC demonstraram uma velocidade média menor no início do teste em comparação com os camundongos YAC128 expostos ao AE. Uma possível interpretação para este comportamento é o fato de que os camundongos YAC128 expostos ao AE estavam habituados a novidades e a entrada no CA não foi interpretada como novidade, demonstrando assim um comportamento semelhante aos camundongos selvagens. Por outro lado, os camundongos YAC128 expostos ao AC não apresentavam tal habituação, demonstrando uma movimentação mais lenta em relação ao grupo selvagem AC e aos grupos enriquecidos, um possível indicativo de comportamento tipo-ansioso. Já foi demonstrado que o AE é capaz de modificar o comportamento de roedores aumentando a habituação em tarefas de exploração de campo aberto (Amaral et al., 2008). Outra possibilidade para este comportamento poderia ser um prejuízo motor, característica presente em pacientes e em modelos animais da DH (Pouladi et al., 2009; Van Raamsdonk, Pearson, Rogers, et al., 2005; Vuong et al., 2018). A redução da velocidade da marcha é uma característica típica e é altamente variável entre pessoas com DH, é evidente no estágio pré-manifesto e continua a piorar durante

o estágio manifesto (Vuong et al., 2018). Além disso, a lentidão ao iniciar a exploração do CA poderia se assemelhar aos déficits motores atípicos presentes em pacientes em estágios iniciais da DH, onde a bradicinesia já foi encontrada (Squitieri et al., 2000). Nosso grupo demonstrou, em outros estudos, através do teste da barra giratória que camundongos YAC128 apresentam déficit motor aos 2 e 4 meses de idade e que este déficit foi prevenido pela exposição ao AE (Plácido et al., 2023). Skillings e colaboradores (2014) demonstraram que os camundongos R6/2 apresentam uma diminuição na locomoção no TCA, que foi prevenida pela exposição ao AE (Skillings et al., 2014). Por outro lado, o trabalho de Radulescu (2017) observou uma diminuição na velocidade média dos camundongos YAC128 expostos ao AE (Radulescu, 2017). Outro ponto importante é o fato de o AE neste trabalho incluir a roda de corrida, caracterizando a possibilidade de atividades físicas pelos animais. Estudos têm demonstrado que programas de treinamento físico tem resultado em progresso na função motora de pacientes com DH (Khalil et al., 2013; Quinn et al., 2016); (Busse et al., 2013; Thompson et al., 2013). Assim, a redução na velocidade inicial no TCA, também prevenida pela exposição ao AE, pode ter sido beneficiada pela associação da roda de correr no nosso protocolo.

Outro aspecto relevante que impacta a vida dos pacientes com DH no início do curso da doença, antes mesmo dos sintomas motores, é a ocorrência de sintomas psiquiátricos como a depressão. O TSC é usado para avaliar o comportamento tipo-depressivo baseando-se no tempo de imobilidade do animal durante do teste (Steru et al., 1985). No TSC, o camundongo YAC128 exposto ao AC apresentou maior tempo de imobilidade em comparação com o camundongo selvagem, ou seja, um comportamento tipo-depressivo, mimetizando a condição humana. Esses resultados estão de acordo com resultados prévios do nosso grupo (de Paula Nascimento-Castro et al., 2018; Plácido et al., 2023), e aos estudos de Pouladi *et al.* (2009) e Renoir *et al.* (2013), que demonstraram tempo de imobilidade maior no teste do nado forçado no camundongo YAC128 e no camundongo R6/1 respectivamente (Pouladi et al., 2009; Renoir et al., 2013). O aumento do tempo de imobilidade, tanto no TSC quanto no teste do nado forçado, é uma característica indicativa de comportamento tipo-depressivo (Cryan et al., 2005). O AE foi capaz de reverter o comportamento tipo-depressivo e uma das possíveis razões é que o aspecto de novidade ambiental, alcançada através da mudança dos objetos e da posição dos objetos no AE, parece proporcionar um efeito tipo-antidepressivo (Hattori et al., 2007; Llorens-Martín et al., 2007; Xu et al., 2009).

Os resultados do TBS mostraram que camundongos YAC128 expostos ao AC tiveram um tempo de *grooming* reduzido em comparação com os camundongos selvagens. O TBS avalia importantes aspectos do comportamento relacionado ao fenótipo do tipo-depressivo.

Uma vez que uma solução viscosa entra em contato com a pele do roedor, imitando uma “sujeira”, é esperado que seja desencadeado um comportamento de limpeza e, portanto, o teste avalia o aspecto motivacional ou comportamento direcionado a um objetivo que neste caso está relacionado à finalidade do autocuidado (Becker et al., 2021). Além disso, visto que a solução de sacarose é uma substância hedônica para roedores, o TBS também avalia o comportamento anedônico. Nossos resultados são congruentes com a literatura onde o comportamento anedônico já foi evidenciado em camundongos YAC128 (da Fonsêca et al., 2018; Pouladi et al., 2009). A anedonia é um sintoma que faz parte do diagnóstico do Transtorno Depressivo Maior (TDM) (Roehr, 2013) e também pode fazer parte da vida dos indivíduos acometidos pela DH (McLauchlan et al., 2022). Trata-se de uma capacidade reduzida de sentir prazer em situações normalmente prazerosas (Becker et al., 2021; Höflich et al., 2019). Para além desse déficit na experiência do prazer, a anedonia também pode estar relacionada a um esforço prejudicado em busca da recompensa, chamada de anedonia motivacional. Nesse sentido, a anedonia também pode ser entendida como “uma resposta reduzida a estímulos recompensadores” (McLauchlan et al., 2022). Foi o aspecto da anedonia motivacional que se encontrou deficiente em um recente estudo envolvendo pacientes com DH. Em uma tarefa de tempo de reação para recompensa, os pacientes da DH tiveram um menor esforço em busca da recompensa em comparação com o grupo controle, um resultado que persistiu mesmo quando os valores foram corrigidos devido a menor capacidade motora. Portanto, o estudo revelou que a anedonia motivacional é um processo central da depressão na DH. Outros aspectos como aprendizagem a partir da recompensa, capacidade de resposta à recompensa e hipersensibilidade a resultados negativos, não estavam alterados no grupo analisado (McLauchlan et al., 2022). Tais achados da anedonia na DH e em modelos animais, como demonstrado no presente trabalho, são esperados em várias doenças neurodegenerativas, incluindo a DH. Uma vez que doenças neurodegenerativas têm comprometimento de redes anatômicas que se sobrepõe parcialmente ao circuito de recompensa seria previsto que também tivessem deficiências no processamento de recompensas (Perry & Kramer, 2015). Ainda em relação à depressão na DH, é interessante notar que as opções de tratamento ainda se baseiam em evidências obtidas para o TDM (Epping & Paulsen, 2011; McLauchlan et al., 2022). No entanto, particularidades podem ser encontradas nesses diferentes casos, requerendo intervenções distintas. Em um recente estudo, foi encontrado que as classes de medicamentos antidepressivos mais eficazes para a DH foram os ISRSs (Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina) e IRNDs (Inibidores da Recaptação de Noradrenalina-Dopamina) (McLauchlan et al., 2022). Esses resultados contrastam com os medicamentos mais eficazes para o TDM

revelado por uma meta-análise, onde os antidepressivos tetracíclicos, os tricíclicos e inibidores da recaptação da serotonina e da norepinefrina tiveram eficácia superior aos ISRS e NDRI (A. Cipriani et al., 2018; McLauchlan et al., 2022).

A linhagem de origem dos camundongos YAC128 é a FVB/N, que é conhecida por apresentar uma severa degeneração retiniana (Huerta et al., 1999; Taketo et al., 1991). Dessa forma, o Labirinto Aquático em T foi escolhido o teste para avaliar a cognição dos camundongos YAC128 a fim de mitigar possíveis vieses relacionados à deficiência visual, uma vez que esta tarefa depende de estímulos internos em vez de externos (Van Raamsdonk, Pearson, Slow, et al., 2005). No entanto, diferentemente de Van Raamsdonk *et al.* (2005), não conseguimos visualizar comprometimento cognitivo nos camundongos YAC128 na idade avaliada nesse estudo. É importante destacar que existem poucos estudos que encontraram deficits cognitivos nos camundongos YAC128 com background FVB/N, possivelmente devido à deficiência visual que dificulta a aplicação de testes mais sensíveis que dependem da visão.

A avaliação das monoaminas encefálicas foi realizada a fim de verificar possíveis relações entre estas e o comportamento. No entanto, os resultados encontrados não demonstraram diferenças entre os níveis de monoaminas nas regiões do estriado, hipocampo e córtex pré-frontal entre os grupos. Nosso resultado diverge da literatura. Garcia-Miralles e colaboradores (2016) encontraram uma diminuição de dopamina e noradrenalina no estriado de camundongos YAC128, aos 5 meses (Garcia-Miralles et al., 2016). Callahan e colaboradores (2011) observaram uma diminuição da dopamina no estriado de camundongos YAC128 aos 7 meses (Callahan & Abercrombie, 2011). Nossa avaliação foi aos 4 meses, portanto a idade pode ter uma influência sobre o nível de monoaminas encefálicas. Outro estudo do nosso grupo observou que a exposição AE entre os dias 21 e 60 de vida, diminuiu os níveis de noradrenalina e dopamina estriatal em animais de 2 meses de idade, consistente com o mecanismo de ação dos medicamentos utilizados para tratar a coreia na DH. Além disso, mais estudos demonstraram alterações nas monoaminas provocadas pela exposição AE entre os dias 28 e 70 de idade (Brenes et al., 2009) e entre os dias 84 e 114 de idade (Galani et al., 2007). Porém neste trabalho não encontramos efeitos do AE sobre as monoaminas possivelmente pela idade estudada.

Os astrócitos são as células gliais mais abundantes no SNC e contribuem para muitas funções essenciais no cérebro e na medula espinhal saudáveis. Evidências atuais apoiam a noção de que a glia participa causalmente na patogênese e progressão de doenças neurodegenerativas. No caso da DH, um achado clássico que sustenta essa afirmação advém dos experimentos utilizando camundongos transgênicos que expressam a mHtt

especificadamente em astrócitos. Utilizando esse modelo foi recuperado uma série de características típicas da DH. Os camundongos apresentaram perda de peso corporal e déficits na função motora. A nível molecular, a expressão do transportador GLT-1 localizada na membrana dos astrócitos também foi reduzida (Bradford et al., 2009). Portanto, esses achados sugeriram que, além dos neurônios, os astrócitos também podem impulsionar o desenvolvimento de certos aspectos da DH. Em cérebros *pós-morte* de DH foi observado um aumento no número de astrócitos reativos positivos para GFAP, que foi correlacionado com o gradiente de neurodegeneração do estriado (Palpagama et al., 2019; Vonsattel et al., 1985), demonstrando uma função neurotóxica da astrogliose. O estudo de Bayram-Weston e colaboradores (2012) encontrou astrogliose no córtex de camundongos YAC128 com 15 e 24 meses de idade (Bayram-Weston et al., 2012), no entanto, neste trabalho não encontramos diferenças na expressão de GFAP no GD da formação hipocampal entre camundongos selvagens e YAC128 aos 4 meses de idade. Como as regiões e as idades avaliadas são diferentes faz-se necessários mais estudos para caracterizar a astrogliose no camundongo YAC128.

Embora os estudos em animais tenham mostrado resultados positivos em termos do efeito benéfico do enriquecimento e do exercício, é importante notar que estes modelos animais não recapitulam completamente o fenótipo da doença humana. No entanto, intervenções multidisciplinares de longo prazo destacaram os retornos positivos da reabilitação e das terapias ocupacionais nas doenças neurodegenerativas (Khalil et al., 2013; Quinn et al., 2016; Schiefer et al., 2015). Assim, mais pesquisas nesse sentido são necessárias com o intuito de proporcionar mais possibilidades de tratamento para a DH.

3.6 CONCLUSÃO

Após 150 anos desde que a DH foi descrita e 30 anos que a causa genética foi elucidada, ela ainda permanece sem uma intervenção efetiva (Jiang et al., 2023). Um desafio que se torna comum às doenças neurodegenerativas é que no momento em que o paciente se torna sintomático, já ocorreu morte celular considerável que por sua vez pode promover uma cascata de eventos indesejados, ou seja, os resultados secundários (Jiang et al., 2023). Portanto, mesmo que abordagens genéticas, que estão atualmente sendo testadas em modelos animais (Alkanli et al., 2023), eliminem por completo a causa genética primária, ainda sim, podem deixar a desejar quanto aos resultados secundários se aplicada em uma idade em que a morte celular já ocorreu (Jiang et al., 2023), tornando necessárias intervenções precoces e complementares (Alkanli et al., 2023; Jiang et al., 2023). Portanto, estudos como esse aqui

apresentado são importantes uma vez que fomos capazes de demonstrar que o AE teve um efeito benéfico em reverter os comportamentos tipo-depressivo e anedônico em camundongos YAC128, demonstrando um potencial terapêutico para a DH.

4 CONCLUSÃO GERAL

As doenças neurodegenerativas representam condições debilitantes e sem cura. As doenças motoras neurodegenerativas, como a DP e a DH, exercem um impacto significativo tanto na incapacidade a longo prazo quanto nos custos financeiros enfrentados pelos pacientes em todo o mundo. Apesar de décadas de pesquisa dedicadas à compreensão de sua patologia subjacente e à identificação de possíveis alvos terapêuticos, as opções de tratamento continuam a ser limitadas para essas afecções. A DP e a DH são exemplos de doenças neurodegenerativas com sintomas motores proeminentes. Entretanto, é importante destacar que sintomas pré-motores manifestam-se décadas antes do início dos sintomas motores e exercem um impacto negativo significativo na qualidade de vida dos indivíduos afetados por essas doenças. Portanto, a busca por estratégias que possam aprimorar a qualidade de vida dessas pessoas assume um papel de extrema relevância.

O papel da neurogênese adulta no contexto da reparação cerebral e como um potencial alvo terapêutico para aumentar a atividade progenitora, particularmente em condições caracterizadas por perda neuronal, como as doenças neurodegenerativas, tem suscitado um interesse considerável. Realizar pesquisas diretamente em tecido humano é considerado o padrão ouro para este tipo de estudo. No entanto, amostras de tecido humano apresentam variações decorrentes da diversidade de experiências de vida de cada indivíduo e das complexidades associadas à coleta pós-morte. Isso resulta em uma escassez de amostras e dificuldades na padronização dos procedimentos de aquisição. Poucos estudos científicos abordam esse desafio. Durante nossas investigações sobre a avaliação da neurogênese hipocampal adulta humana, ficou evidente o quão importante e complexo é estabelecer um protocolo que funcione eficazmente em diferentes amostras. A otimização do nosso protocolo de imuno-histoquímica proporcionou evidências cruciais de que a neurogênese adulta persiste mesmo em idades avançadas.

Diante das complexidades envolvidas na pesquisa em seres humanos e considerando que a neuroplasticidade é influenciada por uma variedade de fatores, optamos por investigar um desses fatores em um modelo animal de doença neurodegenerativa. Assim, conduzimos estudos sobre o impacto do enriquecimento ambiental como modulador do comportamento, dos níveis de monoaminas e da ativação de astrócitos em um modelo animal de DH utilizando camundongos YAC128.

A capacidade de influenciar vias neuronais específicas e sinapses tem implicações significativas no desenvolvimento de intervenções terapêuticas e clínicas destinadas a

aprimorar a saúde. Terapias promissoras, como a estimulação cerebral profunda, a estimulação cerebral não invasiva, a neurofarmacologia, o exercício, o treinamento cognitivo e o feedback utilizando ressonância magnética funcional em tempo real, todas elas baseiam-se em nossa compreensão atual da plasticidade cerebral e são objetos de pesquisa intensiva para diversas patologias. Uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos que regem a neuroplasticidade após lesões cerebrais ou danos nas vias nervosas é fundamental para aprimorar a qualidade de vida dos pacientes e, em última análise, poderia resultar em economia de custos para os sistemas de saúde em nível global. Portanto, o estudo da plasticidade cerebral possui implicações que vão muito além do âmbito da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, L. E. A.; DA SILVA, I. O. S.; MAIA, L. A.; AZEVEDO, M. E. A. *et al.* A Study of a Geographical Cluster of Huntington's Disease in a Brazilian Town of Zona da Mata, Minas Gerais State. **Eur Neurol**, 74, n. 1-2, p. 62-68, 2015.
- ALAFUZOFF, I.; ARZBERGER, T.; AL-SARRAJ, S.; BODI, I. *et al.* Staging of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease: a study of the BrainNet Europe Consortium. **Brain Pathol**, 18, n. 4, p. 484-496, Oct 2008.
- ALKANLI, S. S.; ALKANLI, N.; AY, A.; ALBENIZ, I. CRISPR/Cas9 Mediated Therapeutic Approach in Huntington's Disease. **Mol Neurobiol**, 60, n. 3, p. 1486-1498, Mar 2023.
- ALTMAN, J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? **Science**, 135, n. 3509, p. 1127-1128, Mar 30 1962.
- ALTMAN, J.; DAS, G. D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. **J Comp Neurol**, 124, n. 3, p. 319-335, Jun 1965.
- ALVAREZ, D. D.; GIACOMINI, D.; YANG, S. M.; TRINCHERO, M. F. *et al.* A disynaptic feedback network activated by experience promotes the integration of new granule cells. **Science**, 354, n. 6311, p. 459-465, Oct 28 2016.
- AMARAL, O. B.; VARGAS, R. S.; HANSEL, G.; IZQUIERDO, I. *et al.* Duration of environmental enrichment influences the magnitude and persistence of its behavioral effects on mice. **Physiol Behav**, 93, n. 1-2, p. 388-394, Jan 28 2008.
- ARMSTRONG, M. J.; OKUN, M. S. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. **JAMA**, 323, n. 6, p. 548-560, Feb 11 2020.
- AVILA-GIRON, R. Medical and social aspects of Huntington's chorea in the state of Zulia, Venezuela. **Adv Neurol**, 1, p. 261-266, 1973.
- BAKER, S. A.; BAKER, K. A.; HAGG, T. Dopaminergic nigrostriatal projections regulate neural precursor proliferation in the adult mouse subventricular zone. **Eur J Neurosci**, 20, n. 2, p. 575-579, Jul 2004.
- BARBOSA, M. T.; CARAMELLI, P.; MAIA, D. P.; CUNNINGHAM, M. C. *et al.* Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in Brazil (the Bambuí study). **Mov Disord**, 21, n. 6, p. 800-808, Jun 2006.
- BATES, G. P.; DORSEY, R.; GUSELLA, J. F.; HAYDEN, M. R. *et al.* Huntington disease. **Nature reviews Disease primers**, 1, p. 15005, 2015.
- BAXA, M.; HRUSKA-PLOCHAN, M.; JUHAS, S.; VODICKA, P. *et al.* A transgenic minipig model of Huntington's Disease. **J Huntingtons Dis**, 2, n. 1, p. 47-68, 2013.

BAYRAM-WESTON, Z.; JONES, L.; DUNNETT, S. B.; BROOKS, S. P. Light and electron microscopic characterization of the evolution of cellular pathology in YAC128 Huntington's disease transgenic mice. **Brain Res Bull**, 88, n. 2-3, p. 137-147, Jun 01 2012.

BEAL, M. F.; BROUILLET, E.; JENKINS, B. G.; FERRANTE, R. J. *et al.* Neurochemical and histologic characterization of striatal excitotoxic lesions produced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid. **J Neurosci**, 13, n. 10, p. 4181-4192, Oct 1993.

BEAL, M. F.; HYMAN, B. T.; KOROSHETZ, W. Do defects in mitochondrial energy metabolism underlie the pathology of neurodegenerative diseases? **Trends Neurosci**, 16, n. 4, p. 125-131, Apr 1993.

BEAL, M. F.; KOWALL, N. W.; ELLISON, D. W.; MAZUREK, M. F. *et al.* Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. **Nature**, 321, n. 6066, p. 168-171, 1986 May 8-14 1986.

BECKER, M.; PINHASOV, A.; ORNOY, A. Animal Models of Depression: What Can They Teach Us about the Human Disease? **Diagnostics (Basel)**, 11, n. 1, Jan 14 2021.

BENAROYA-MILSHTEIN, N.; HOLLANDER, N.; APTER, A.; KUKULANSKY, T. *et al.* Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. **Eur J Neurosci**, 20, n. 5, p. 1341-1347, Sep 2004.

BENDOR, J. T.; LOGAN, T. P.; EDWARDS, R. H. The function of α -synuclein. **Neuron**, 79, n. 6, p. 1044-1066, Sep 18 2013.

BENNETT, E. L.; ROSENZWEIG, M. R.; DIAMOND, M. C. Rat brain: effects of environmental enrichment on wet and dry weights. **Science**, 163, n. 3869, p. 825-826, Feb 21 1969.

BERGAMI, M.; MASSERDOTTI, G.; TEMPRANA, S. G.; MOTORI, E. *et al.* A critical period for experience-dependent remodeling of adult-born neuron connectivity. **Neuron**, 85, n. 4, p. 710-717, Feb 18 2015.

BEZARD, E.; DOVERO, S.; BELIN, D.; DUCONGER, S. *et al.* Enriched environment confers resistance to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and cocaine: involvement of dopamine transporter and trophic factors. **J Neurosci**, 23, n. 35, p. 10999-11007, Dec 03 2003.

BLISS, T. V.; LOMO, T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. **J Physiol**, 232, n. 2, p. 331-356, Jul 1973.

BOEKHOORN, K.; JOELS, M.; LUCASSEN, P. J. Increased proliferation reflects glial and vascular-associated changes, but not neurogenesis in the presenile Alzheimer hippocampus. **Neurobiol Dis**, 24, n. 1, p. 1-14, Oct 2006.

BOLDRINI, M.; FULMORE, C. A.; TARTT, A. N.; SIMEON, L. R. *et al.* Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. **Cell Stem Cell**, 22, n. 4, p. 589-599.e585, Apr 05 2018.

- BORDEN, N. M.; STEFAN, C.; FORSEEN, S. E. Imaging anatomy of the human brain: a comprehensive atlas including adjacent structures. **Springer Publishing Company**, 2015. 161705125X.
- BORTA, A.; HÖGLINGER, G. U. Dopamine and adult neurogenesis. **J Neurochem**, 100, n. 3, p. 587-595, Feb 2007.
- BOSERET, G.; BALL, G. F.; BALTHAZART, J. The microtubule-associated protein doublecortin is broadly expressed in the telencephalon of adult canaries. **J Chem Neuroanat**, 33, n. 3, p. 140-154, May 2007.
- BOUET, V.; FRERET, T.; DUTAR, P.; BILLARD, J. M. *et al.* Continuous enriched environment improves learning and memory in adult NMRI mice through theta burst-related-LTP independent mechanisms but is not efficient in advanced aged animals. **Mech Ageing Dev**, 132, n. 5, p. 240-248, May 2011.
- BOVOLENTA, T. M.; FELÍCIO, A. C. Parkinson's patients in the Brazilian Public Health Policy context. **Einstein (Sao Paulo)**, 14, n. 3, p. 7-9, 2016.
- BOWLING, S. L.; ROWLETT, J. K.; BARDO, M. T. The effect of environmental enrichment on amphetamine-stimulated locomotor activity, dopamine synthesis and dopamine release. **Neuropharmacology**, 32, n. 9, p. 885-893, Sep 1993.
- BRAAK, H.; DEL TREDICI, K.; RÜB, U.; DE VOS, R. A. *et al.* Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. **Neurobiol Aging**, 24, n. 2, p. 197-211, 2003.
- BRADFORD, J.; SHIN, J. Y.; ROBERTS, M.; WANG, C. E. *et al.* Expression of mutant huntingtin in mouse brain astrocytes causes age-dependent neurological symptoms. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 106, n. 52, p. 22480-22485, Dec 29 2009.
- BREDY, T. W.; ZHANG, T. Y.; GRANT, R. J.; DIORIO, J. *et al.* Peripubertal environmental enrichment reverses the effects of maternal care on hippocampal development and glutamate receptor subunit expression. **Eur J Neurosci**, 20, n. 5, p. 1355-1362, Sep 2004.
- BREGER, L. S.; FUZZATI ARMENTERO, M. T. Genetically engineered animal models of Parkinson's disease: From worm to rodent. **Eur J Neurosci**, 49, n. 4, p. 533-560, Feb 2019.
- BRENES, J. C.; PADILLA, M.; FORNAGUERA, J. A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. **Behav Brain Res**, 197, n. 1, p. 125-137, Jan 30 2009.
- BROOKS, S. P.; JANGHRA, N.; HIGGS, G. V.; BAYRAM-WESTON, Z. *et al.* Selective cognitive impairment in the YAC128 Huntington's disease mouse. **Brain Res Bull**, 88, n. 2-3, p. 121-129, Jun 01 2012.
- BROOKS, Simon *et al.* Longitudinal analysis of the behavioural phenotype in YAC128 (C57BL/6J) Huntington's disease transgenic mice. **Brain research bulletin**, v. 88, n. 2-3, p. 113-120, 2012.

BROWN, J. P.; COUILLARD-DESPRES, S.; COOPER-KUHN, C. M.; WINKLER, J. *et al.* Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. **J Comp Neurol**, 467, n. 1, p. 1-10, Dec 1 2003.

BRUCK, A.; KURKI, T.; KAASINEN, V.; VAHLBERG, T. *et al.* Hippocampal and prefrontal atrophy in patients with early non-demented Parkinson's disease is related to cognitive impairment. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 75, n. 10, p. 1467-1469, Oct 2004.

BRUEL-JUNGERMAN, E.; DAVIS, S.; LAROCHE, S. Brain plasticity mechanisms and memory: a party of four. **Neuroscientist**, 13, n. 5, p. 492-505, Oct 2007.

BRUEL-JUNGERMAN, E.; LAROCHE, S.; RAMPON, C. New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. **Eur J Neurosci**, 21, n. 2, p. 513-521, Jan 2005.

BURGESS, H. A.; REINER, O. Doublecortin-like kinase is associated with microtubules in neuronal growth cones. **Mol Cell Neurosci**, 16, n. 5, p. 529-541, Nov 2000.

BUSSE, M.; QUINN, L.; DEBONO, K.; JONES, K. *et al.* A randomized feasibility study of a 12-week community-based exercise program for people with Huntington's disease. **J Neurol Phys Ther**, 37, n. 4, p. 149-158, Dec 2013.

CAI, Y.; XIONG, K.; CHU, Y.; LUO, D. W. *et al.* Doublecortin expression in adult cat and primate cerebral cortex relates to immature neurons that develop into GABAergic subgroups. **Exp Neurol**, 216, n. 2, p. 342-356, Apr 2009.

CALLAHAN, J. W.; ABERCROMBIE, E. D. In vivo Dopamine Efflux is Decreased in Striatum of both Fragment (R6/2) and Full-Length (YAC128) Transgenic Mouse Models of Huntington's Disease. **Front Syst Neurosci**, 5, p. 61, 2011.

CAMERON, H. A.; GOULD, E. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. **Neuroscience**, 61, n. 2, p. 203-209, Jul 1994.

CAMERON, H. A.; MCKAY, R. Discussion point stem cells and neurogenesis in the adult brain. **Current opinion in neurobiology**, 8, n. 5, p. 677-680, 1998.

CAMICIOLI, R.; MOORE, M. M.; KINNEY, A.; CORBRIDGE, E. *et al.* Parkinson's disease is associated with hippocampal atrophy. **Mov Disord**, 18, n. 7, p. 784-790, Jul 2003.

CARLESIMO, G. A.; PIRAS, F.; ASSOGNA, F.; PONTIERI, F. E. *et al.* Hippocampal abnormalities and memory deficits in Parkinson disease: a multimodal imaging study. **Neurology**, 78, n. 24, p. 1939-1945, Jun 12 2012.

CARTER, R. J.; LIONE, L. A.; HUMBY, T.; MANGIARINI, L. *et al.* Characterization of progressive motor deficits in mice transgenic for the human Huntington's disease mutation. **J Neurosci**, 19, n. 8, p. 3248-3257, Apr 15 1999.

CASTILHOS, R. M.; SANTOS, J. A. D.; AUGUSTIN, M. C.; PEDROSO, J. L. *et al.* Minimal prevalence of Huntington's disease in the South of Brazil and instability of the expanded CAG tract during intergenerational transmissions. **Genet Mol Biol**, 42, n. 2, p. 329-336, 2019.

CASTRO, C. D. P. N.; GIL-MOHAPEL, J.; BROCARDO, P. S. Exercício físico e neuroplasticidade hipocampal: Revisão de literatura. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, 29, n. 2, p. 57-78, 2017.

CATTANEO, E.; ZUCCATO, C.; TARTARI, M. Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. **Nature Reviews Neuroscience**, 6, n. 12, p. 919-930, 2005.

CHANCEY, J. H.; ADLAF, E. W.; SAPP, M. C.; PUGH, P. C. *et al.* GABA depolarization is required for experience-dependent synapse unsilencing in adult-born neurons. **J Neurosci**, 33, n. 15, p. 6614-6622, Apr 10 2013.

CHARCOT, J. M. Lectures on the diseases of the nervous system: delivered at la Salpêtrière. **HC Lea**, 1879.

CHAUDHURI, K. R.; HEALY, D. G.; SCHAPIRA, A. H.; EXCELLENCE, N. I. F. C. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. **Lancet Neurol**, 5, n. 3, p. 235-245, Mar 2006.

CHEN, D.; ZHANG, T.; LEE, T. H. Cellular Mechanisms of Melatonin: Insight from Neurodegenerative Diseases. **Biomolecules**, 10, n. 8, Aug 07 2020.

CESSELET, M. F.; RICHTER, F.; ZHU, C.; MAGEN, I. *et al.* A progressive mouse model of Parkinson's disease: the Thy1-aSyn ("Line 61") mice. **Neurotherapeutics**, 9, n. 2, p. 297-314, Apr 2012.

CHURCHYARD, A.; LEES, A. J. The relationship between dementia and direct involvement of the hippocampus and amygdala in Parkinson's disease. **Neurology**, 49, n. 6, p. 1570-1576, Dec 1997.

CIAMEI, A.; MORTON, A. J. Rigidity in social and emotional memory in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. **Neurobiol Learn Mem**, 89, n. 4, p. 533-544, May 2008.

CIPRIANI, A.; FURUKAWA, T. A.; SALANTI, G.; CHAIMANI, A. *et al.* Comparative Efficacy and Acceptability of 21 Antidepressant Drugs for the Acute Treatment of Adults With Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. **Focus (Am Psychiatr Publ)**, 16, n. 4, p. 420-429, Oct 2018.

CIPRIANI, S.; FERRER, I.; ARONICA, E.; KOVACS, G. G. *et al.* Hippocampal Radial Glial Subtypes and Their Neurogenic Potential in Human Fetuses and Healthy and Alzheimer's Disease Adults. **Cereb Cortex**, 28, n. 7, p. 2458-2478, Jul 01 2018.

COLLABORATORS, G. P. S. D. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet Neurol**, 17, n. 11, p. 939-953, Nov 2018.

CONNOLLY, B.; FOX, S. H. Treatment of cognitive, psychiatric, and affective disorders associated with Parkinson's disease. **Neurotherapeutics**, 11, n. 1, p. 78-91, Jan 2014.

COYLE, J. T.; SCHWARCZ, R. Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. **Nature**, 263, n. 5574, p. 244-246, Sep 16 1976.

CREWS, L.; MIZUNO, H.; DESPLATS, P.; ROCKENSTEIN, E. *et al.* Alpha-synuclein alters Notch-1 expression and neurogenesis in mouse embryonic stem cells and in the hippocampus of transgenic mice. **J Neurosci**, 28, n. 16, p. 4250-4260, Apr 16 2008.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neurosci Biobehav Rev**, 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005.

CURTIS, M. A.; PENNEY, E. B.; PEARSON, A. G.; VAN ROON-MOM, W. M. *et al.* Increased cell proliferation and neurogenesis in the adult human Huntington's disease brain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 100, n. 15, p. 9023-9027, Jul 22 2003.

CURTIS, M. A.; PENNEY, E. B.; PEARSON, J.; DRAGUNOW, M. *et al.* The distribution of progenitor cells in the subependymal layer of the lateral ventricle in the normal and Huntington's disease human brain. **Neuroscience**, 132, n. 3, p. 777-788, 2005.

DA FONSÊCA, V. S.; DA SILVA COLLA, A. R.; DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO, C.; PLÁCIDO, E. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor prevents depressive-like behaviors in early-symptomatic YAC128 Huntington's disease mice. **Molecular neurobiology**, 55, n. 9, p. 7201-7215, 2018.

DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO, C.; WINK, A. C.; DA FONSECA, V. S.; BIANCO, C. D. *et al.* Antidepressant Effects of Probucol on Early-Symptomatic YAC128 Transgenic Mice for Huntington's Disease. **Neural Plast**, 2018, p. 4056383, 2018.

DEL ARCO, A.; SEGOVIA, G.; GARRIDO, P.; DE BLAS, M. *et al.* Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. **Behav Brain Res**, 176, n. 2, p. 267-273, Jan 25 2007.

DENNIS, C. V.; SUH, L. S.; RODRIGUEZ, M. L.; KRIL, J. J. *et al.* Human adult neurogenesis across the ages: An immunohistochemical study. **Neuropathol Appl Neurobiol**, 42, n. 7, p. 621-638, Dec 2016.

DIAMOND, M. C. Response of the brain to enrichment. **An Acad Bras Cienc**, 73, n. 2, p. 211-220, Jun 2001.

DIAMOND, M. C.; KRECH, D.; ROSENZWEIG, M. R. THE EFFECTS OF AN ENRICHED ENVIRONMENT ON THE HISTOLOGY OF THE RAT CEREBRAL CORTEX. **J Comp Neurol**, 123, p. 111-120, Aug 1964.

DIFIGLIA, M.; SAPP, E.; CHASE, K. O.; DAVIES, S. W. *et al.* Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. **Science**, 277, n. 5334, p. 1990-1993, Sep 26 1997.

DJOUSSÉ, L.; KNOWLTON, B.; CUPPLES, L. A.; MARDER, K. *et al.* Weight loss in early stage of Huntington's disease. **Neurology**, 59, n. 9, p. 1325-1330, Nov 12 2002.

DOS SANTOS, Á., Cook, A. W., GOUGH, R. E., SCHILLING, M., OLSZOK, N. A., BROWN, I., Toseland, C. P. (2021). DNA damage alters nuclear mechanics through chromatin reorganization. **Nucleic Acids Res**, 49(1), 340-353. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1202>

DRANOVSKY, A.; HEN, R. Hippocampal neurogenesis: regulation by stress and antidepressants. **Biol Psychiatry**, 59, n. 12, p. 1136-1143, Jun 15 2006.

DUAN, W.; PENG, Q.; MASUDA, N.; FORD, E. *et al.* Sertraline slows disease progression and increases neurogenesis in N171-82Q mouse model of Huntington's disease. **Neurobiol Dis**, 30, n. 3, p. 312-322, Jun 2008.

DUAN, X.; KANG, E.; LIU, C. Y.; MING, G. L. *et al.* Development of neural stem cell in the adult brain. **Curr Opin Neurobiol**, 18, n. 1, p. 108-115, Feb 2008.

EHRENBERG, A. J.; KHATUN, A.; COOMANS, E.; BETTS, M. J. *et al.* Relevance of biomarkers across different neurodegenerative diseases. **Alzheimers Res Ther**, 12, n. 1, p. 56, May 13 2020.

EHRNHOFER, D. E.; BUTLAND, S. L.; POULADI, M. A.; HAYDEN, M. R. Mouse models of Huntington disease: variations on a theme. **Dis Model Mech**, 2, n. 3-4, p. 123-129, 2009.

EJE, O.; OGBONNA, C.; ONOYIMA, C.; NDUKA, F. Huntington Disease: Mechanism of Pathogenesis and Recent Developments in Its Therapeutic Strategies: A Review. **J. Chem. Rev**, 5, n. 2, p. 129-142, 2023.

EMAMZADEH, F. N. Alpha-synuclein structure, functions, and interactions. **J Res Med Sci**, 21, p. 29, 2016.

ENCINAS, J. M.; ENIKOLOPOV, G. Identifying and quantitating neural stem and progenitor cells in the adult brain. **Methods in cell biology**, 85, p. 243-272, 2008.

EPPING, E. A.; PAULSEN, J. S. Depression in the early stages of Huntington disease. **Neurodegener Dis Manag**, 1, n. 5, p. 407-414, Oct 01 2011.

ERIKSEN, J. L.; WSZOLEK, Z.; PETRUCCELLI, L. Molecular pathogenesis of Parkinson disease. **Arch Neurol**, 62, n. 3, p. 353-357, Mar 2005.

ERIKSSON, P. S.; PERFILIEVA, E.; BJORK-ERIKSSON, T.; ALBORN, A. M. *et al.* Neurogenesis in the adult human hippocampus. **Nat Med**, 4, n. 11, p. 1313-1317, Nov 1998.

ERKKINEN, M. G.; KIM, M. O.; GESCHWIND, M. D. Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, 10, n. 4, Apr 02 2018.

ERNST, A.; ALKASS, K.; BERNARD, S.; SALEHPOUR, M. *et al.* Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. **Cell**, 156, n. 5, p. 1072-1083, Feb 27 2014.

FAHERTY, C. J.; RAVIIE SHEPHERD, K.; HERASIMTSCHUK, A.; SMEYNE, R. J. Environmental enrichment in adulthood eliminates neuronal death in experimental Parkinsonism. **Brain Res Mol Brain Res**, 134, n. 1, p. 170-179, Mar 24 2005.

FARRELL, K. F.; KRISHNAMACHARI, S.; VILLANUEVA, E.; LOU, H. *et al.* Non-motor parkinsonian pathology in aging A53T α -synuclein mice is associated with progressive

synucleinopathy and altered enzymatic function. **J Neurochem**, 128, n. 4, p. 536-546, Feb 2014.

FARRER, L. A. Suicide and attempted suicide in Huntington disease: implications for preclinical testing of persons at risk. **Am J Med Genet**, 24, n. 2, p. 305-311, Jun 1986.

FARSHIM, P. P.; BATES, G. P. Mouse Models of Huntington's Disease. **Methods Mol Biol**, 1780, p. 97-120, 2018.

FEIGIN, V. L.; VOS, T.; ALAHDAB, F.; AMIT, A. M. L. *et al.* Burden of Neurological Disorders Across the US From 1990-2017: A Global Burden of Disease Study. **JAMA Neurol**, 78, n. 2, p. 165-176, Feb 01 2021.

FERREIRA, D. G.; TEMIDO-FERREIRA, M.; VICENTE MIRANDA, H.; BATALHA, V. L. *et al.* α -synuclein interacts with PrP. **Nat Neurosci**, 20, n. 11, p. 1569-1579, Nov 2017.

FERREIRA, M. A.; BARRETO, C. V. Q.; DANTAS, F. S. E.; BEZERRA, Á. D. B. *et al.* Perfil epidemiológico dos pacientes internados por doença de parkinson no brasil no ano de 2020. **Revista Interdisciplinar em Saúde**, Cajazeiras, 9 (único): 136-147, 2022.

FLOR-GARCÍA, M.; TERREROS-RONCAL, J.; MORENO-JIMÉNEZ, E. P.; ÁVILA, J. *et al.* Unraveling human adult hippocampal neurogenesis. **Nat Protoc**, 15, n. 2, p. 668-693, Feb 2020.

FOLSTEIN, S. E.; CHASE, G. A.; WAHL, W. E.; MCDONNELL, A. M. *et al.* Huntington disease in Maryland: clinical aspects of racial variation. **Am J Hum Genet**, 41, n. 2, p. 168-179, Aug 1987.

FOSTER, T. C.; GAGNE, J.; MASSICOTTE, G. Mechanism of altered synaptic strength due to experience: relation to long-term potentiation. **Brain Res**, 736, n. 1-2, p. 243-250, Oct 14 1996.

FRANCIS, F.; KOULAKOFF, A.; BOUCHER, D.; CHAFEY, P. *et al.* Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. **Neuron**, 23, n. 2, p. 247-256, Jun 1999.

FRANKLIN, K. B.; PAXINOS, G. **Paxinos and Franklin's the Mouse brain in stereotaxic coordinates, compact: The coronal plates and diagrams.** Academic press, 2019. 0128161604.

FRERET, T.; BILLARD, J. M.; SCHUMANN-BARD, P.; DUTAR, P. *et al.* Rescue of cognitive aging by long-lasting environmental enrichment exposure initiated before median lifespan. **Neurobiol Aging**, 33, n. 5, p. 1005.e1001-1010, May 2012.

FUCHS, E.; FLÜGGE, G. Adult neuroplasticity: more than 40 years of research. **Neural Plast**, 2014, p. 541870, 2014.

GAGE, F. H. Adult neurogenesis in mammals. **Science**, 364, n. 6443, p. 827-828, May 31 2019.

GAGE, F. H. Neurogenesis in the adult brain. **J Neurosci**, 22, n. 3, p. 612-613, Feb 01 2002.

GALAND, P.; DEGRAEF, C. Cyclin/PCNA immunostaining as an alternative to tritiated thymidine pulse labelling for marking S phase cells in paraffin sections from animal and human tissues. **Cell Tissue Kinet**, 22, n. 5, p. 383-392, Sep 1989.

GALANI, R.; BERTHEL, M. C.; LAZARUS, C.; MAJCHRZAK, M. *et al.* The behavioral effects of enriched housing are not altered by serotonin depletion but enrichment alters hippocampal neurochemistry. **Neurobiol Learn Mem**, 88, n. 1, p. 1-10, Jul 2007.

GAN, L.; COOKSON, M. R.; PETRUCCELLI, L.; LA SPADA, A. R. Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. **Nat Neurosci**, 21, n. 10, p. 1300-1309, Oct 2018.

GARCIA-MIRALLES, M.; HONG, X.; TAN, L. J.; CARON, N. S. *et al.* Laquinimod rescues striatal, cortical and white matter pathology and results in modest behavioural improvements in the YAC128 model of Huntington disease. **Sci Rep**, 6, p. 31652, Aug 16 2016.

GARCIA-MIRALLES, M.; OOI, J.; BARDILE, C. F.; TAN, L. J. *et al.* Treatment with the MAO-A inhibitor clorgyline elevates monoamine neurotransmitter levels and improves affective phenotypes in a mouse model of Huntington disease. **Experimental neurology**, 278, p. 4-10, 2016.

GARCÍA-VERDUGO, J. M.; FERRÓN, S.; FLAMES, N.; COLLADO, L. *et al.* The proliferative ventricular zone in adult vertebrates: a comparative study using reptiles, birds, and mammals. **Brain Res Bull**, 57, n. 6, p. 765-775, Apr 2002.

GATT, A.; EKONOMOU, A.; SOMANI, A.; THURET, S. *et al.* Importance of Proactive Treatment of Depression in Lewy Body Dementias: The Impact on Hippocampal Neurogenesis and Cognition in a PostMortem Study. **Dement Geriatr Cogn Disord**, 44, n. 5-6, p. 283-293, 2017.

GATTO, E. M.; ROJAS, N. G.; PERSI, G.; ETCHEVERRY, J. L. *et al.* Huntington disease: Advances in the understanding of its mechanisms. **Clin Park Relat Disord**, 3, p. 100056, 2020.

GE, S.; SAILOR, K. A.; MING, G. L.; SONG, H. Synaptic integration and plasticity of new neurons in the adult hippocampus. **J Physiol**, 586, n. 16, p. 3759-3765, Aug 15 2008.

GE, S.; YANG, C. H.; HSU, K. S.; MING, G. L. *et al.* A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. **Neuron**, 54, n. 4, p. 559-566, May 24 2007.

GELFO, F.; CUTULI, D.; FOTI, F.; LARICCHIUTA, D. *et al.* Enriched environment improves motor function and increases neurotrophins in hemicerebellar lesioned rats. **Neurorehabil Neural Repair**, 25, n. 3, p. 243-252, 2011.

GIL, J. M.; LEIST, M.; POPOVIC, N.; BRUNDIN, P. *et al.* Asialoerythropoietin is not effective in the R6/2 line of Huntington's disease mice. **BMC Neurosci**, 5, p. 17, May 10 2004.

GIL, J. M.; MOHAPEL, P.; ARAÚJO, I. M.; POPOVIC, N. *et al.* Reduced hippocampal neurogenesis in R6/2 transgenic Huntington's disease mice. **Neurobiol Dis**, 20, n. 3, p. 744-751, Dec 2005.

GIL-MOHAPPEL, J. Transgenic models of Huntington's disease: Differences, similarities, and applications. **Recent Devel Brain Res. Kerala, India, Research Signpost**, 1, p. 45-76, 2012.

GIL-MOHAPPEL, J.; SIMPSON, J. M.; GHILAN, M.; CHRISTIE, B. R. Neurogenesis in Huntington's disease: can studying adult neurogenesis lead to the development of new therapeutic strategies? **Brain Res**, 1406, p. 84-105, Aug 11 2011.

GIL-MOHAPPEL, J.; SIMPSON, J. M.; TITTERNESS, A. K.; CHRISTIE, B. R. Characterization of the neurogenesis quiescent zone in the rodent brain: effects of age and exercise. **Eur J Neurosci**, 31, n. 5, p. 797-807, Mar 2010.

GIRALT, A.; RODRIGO, T.; MARTÍN, E. D.; GONZALEZ, J. R. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor modulates the severity of cognitive alterations induced by mutant huntingtin: involvement of phospholipase C γ activity and glutamate receptor expression. **Neuroscience**, 158, n. 4, p. 1234-1250, Feb 18 2009.

GOEDERT, M.; SPILLANTINI, M. G.; DEL TREDICI, K.; BRAAK, H. 100 years of Lewy pathology. **Nat Rev Neurol**, 9, n. 1, p. 13-24, Jan 2013.

GONÇALVES, J. T.; SCHAFER, S. T.; GAGE, F. H. Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. **Cell**, 167, n. 4, p. 897-914, Nov 03 2016.

GOULD, E.; TANAPAT, P.; MCEWEN, B. S.; FLÜGGE, G. *et al.* Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 95, n. 6, p. 3168-3171, Mar 17 1998.

GRAY, M.; SHIRASAKI, D. I.; CEPEDA, C.; ANDRÉ, V. M. *et al.* Full-length human mutant huntingtin with a stable polyglutamine repeat can elicit progressive and selective neuropathogenesis in BACHD mice. **J Neurosci**, 28, n. 24, p. 6182-6195, Jun 11 2008.

GREEN, E. W.; CAMPESAN, S.; BREDA, C.; SATHYASAIKUMAR, K. V. *et al.* Drosophila eye color mutants as therapeutic tools for Huntington disease. **Fly (Austin)**, 6, n. 2, p. 117-120, 2012.

GROTE, H. E.; BULL, N. D.; HOWARD, M. L.; VAN DELLEN, A. *et al.* Cognitive disorders and neurogenesis deficits in Huntington's disease mice are rescued by fluoxetine. **Eur J Neurosci**, 22, n. 8, p. 2081-2088, Oct 2005.

GROTE, H. E.; HANNAN, A. J. Regulators of adult neurogenesis in the healthy and diseased brain. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 34, n. 5-6, p. 533-545, 2007.

GYÖRFI, O.; NAGY, H.; BOKOR, M.; KELEMEN, O. *et al.* A single dose of L-DOPA changes perceptual experiences and decreases latent inhibition in Parkinson's disease. **J Neural Transm (Vienna)**, 124, n. 1, p. 113-119, Jan 2017.

HAGG, T. Molecular regulation of adult CNS neurogenesis: an integrated view. **Trends Neurosci**, 28, n. 11, p. 589-595, Nov 2005.

HALLIDAY, G. M.; MCRITCHIE, D. A.; MACDONALD, V.; DOUBLE, K. L. *et al.* Regional specificity of brain atrophy in Huntington's disease. **Exp Neurol**, 154, n. 2, p. 663-672, Dec 1998.

HARDY, J. A.; WESTER, P.; WINBLAD, B.; GEZELIUS, C. *et al.* The patients dying after long terminal phase have acidotic brains; implications for biochemical measurements on autopsy tissue. **J Neural Transm**, 61, n. 3-4, p. 253-264, 1985.

HATTORI, S.; HASHIMOTO, R.; MIYAKAWA, T.; YAMANAKA, H. *et al.* Enriched environments influence depression-related behavior in adult mice and the survival of newborn cells in their hippocampi. **Behav Brain Res**, 180, n. 1, p. 69-76, Jun 04 2007.

HAYDEN, M. R.; MACGREGOR, J. M.; BEIGHTON, P. H. The prevalence of Huntington's chorea in South Africa. **S Afr Med J**, 58, n. 5, p. 193-196, Aug 02 1980.

HENG, M. Y.; TALLAKSEN-GREENE, S. J.; DETLOFF, P. J.; ALBIN, R. L. Longitudinal evaluation of the Hdh(CAG)150 knock-in murine model of Huntington's disease. **J Neurosci**, 27, n. 34, p. 8989-8998, Aug 22 2007.

HICKEY, M. A.; CHESSELET, M. F. The use of transgenic and knock-in mice to study Huntington's disease. **Cytogenet Genome Res**, 100, n. 1-4, p. 276-286, 2003.

HODGES, A.; HUGHES, G.; BROOKS, S.; ELLISTON, L. *et al.* Brain gene expression correlates with changes in behavior in the R6/1 mouse model of Huntington's disease. **Genes Brain Behav**, 7, n. 3, p. 288-299, Apr 2008.

HODGSON, J. G.; AGOPYAN, N.; GUTEKUNST, C. A.; LEAVITT, B. R. *et al.* A YAC mouse model for Huntington's disease with full-length mutant huntingtin, cytoplasmic toxicity, and selective striatal neurodegeneration. **Neuron**, 23, n. 1, p. 181-192, May 1999.

HÖFLICH, A.; MICHENTHALER, P.; KASPER, S.; LANZENBERGER, R. Circuit Mechanisms of Reward, Anhedonia, and Depression. **Int J Neuropsychopharmacol**, 22, n. 2, p. 105-118, Feb 01 2019.

HOFSTETTER, J. R.; ZHANG, A.; MAYEDA, A. R.; GUSCAR, T. *et al.* Genomic DNA from mice: a comparison of recovery methods and tissue sources. **Biochem Mol Med**, 62, n. 2, p. 197-202, Dec 1997.

HOGLINGER, G. U.; RIZK, P.; MURIEL, M. P.; DUYCKAERTS, C. *et al.* Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. **Nat Neurosci**, 7, n. 7, p. 726-735, Jul 2004.

HUANG, F. L.; HUANG, K. P.; BOUCHERON, C. Long-term enrichment enhances the cognitive behavior of the aging neurogranin null mice without affecting their hippocampal LTP. **Learn Mem**, 14, n. 8, p. 512-519, Aug 2007.

HUERTA, J. J.; LLAMOSAS, M. M.; CERNUDA-CERNUDA, R.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, J. M. Spatio-temporal analysis of light-induced Fos expression in the retina of rd mutant mice. **Brain Res**, 834, n. 1-2, p. 122-127, Jul 10 1999.

HUNTINGTON, G. On chorea. 1872. *The Medical and Surgical Reporter: A Weekly Journal* 26. 1872.

HUTTNER, H. B.; BERGMANN, O.; SALEHPOUR, M.; RÁCZ, A. *et al.* The age and genomic integrity of neurons after cortical stroke in humans. *Nat Neurosci*, 17, n. 6, p. 801-803, Jun 2014.

ICKES, B. R.; PHAM, T. M.; SANDERS, L. A.; ALBECK, D. S. *et al.* Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp Neurol*, 164, n. 1, p. 45-52, Jul 2000.

ISINGRINI, E.; CAMUS, V.; LE GUIQUET, A. M.; PINGAUD, M. *et al.* Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. *PLoS One*, 5, n. 4, p. e10404, Apr 28 2010.

JACOBSEN, J. C.; BAWDEN, C. S.; RUDIGER, S. R.; MCLAUGHLAN, C. J. *et al.* An ovine transgenic Huntington's disease model. *Hum Mol Genet*, 19, n. 10, p. 1873-1882, May 15 2010.

JAMES, W. The perception of reality. *Principles of psychology*, 2, p. 283-324, 1890.

JAMWAL, S.; KUMAR, P. Insight Into the Emerging Role of Striatal Neurotransmitters in the Pathophysiology of Parkinson's Disease and Huntington's Disease: A Review. *Curr Neuropharmacol*, 17, n. 2, p. 165-175, 2019.

JESSBERGER, S.; KEMPERMANN, G. Adult-born hippocampal neurons mature into activity-dependent responsiveness. *Eur J Neurosci*, 18, n. 10, p. 2707-2712, Nov 2003.

JHA, S.; DONG, B.; SAKATA, K. Enriched environment treatment reverses depression-like behavior and restores reduced hippocampal neurogenesis and protein levels of brain-derived neurotrophic factor in mice lacking its expression through promoter IV. *Transl Psychiatry*, 1, n. 9, p. e40, Sep 13 2011.

JIANG, A.; HANDLEY, R. R.; LEHNERT, K.; SNELL, R. G. From Pathogenesis to Therapeutics: A Review of 150 Years of Huntington's Disease Research. *Int J Mol Sci*, 24, n. 16, Aug 21 2023.

JIN, K.; GALVAN, V.; XIE, L.; MAO, X. O. *et al.* Enhanced neurogenesis in Alzheimer's disease transgenic (PDGF-APP^{Sw,Ind}) mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, n. 36, p. 13363-13367, Sep 07 2004.

JOHNSON, M.; EKONOMOU, A.; HOBBS, C.; BALLARD, C. G. *et al.* Neurogenic marker abnormalities in the hippocampus in dementia with Lewy bodies. *Hippocampus*, 21, n. 10, p. 1126-1136, Oct 2011.

KALIA, L. V.; LANG, A. E. Parkinson's disease. *Lancet*, 386, n. 9996, p. 896-912, Aug 29 2015.

KANAZAWA, I. Therapeutic Strategies in Huntington's Disease. *J Clin Neurol*, 2, n. 4, p. 213-224, Dec 2006.

KANDASAMY, M.; COUILLARD-DESPRES, S.; RABER, K. A.; STEPHAN, M. *et al.* Stem cell quiescence in the hippocampal neurogenic niche is associated with elevated transforming growth factor-beta signaling in an animal model of Huntington disease. **J Neuropathol Exp Neurol**, 69, n. 7, p. 717-728, Jul 2010.

KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.; JESSELL, T.; SIEGELBAUM, S. *et al.* **Princípios de neurociências-5**. AMGH Editora, 2014. 8580554063.

KANG, W.; HÉBERT, J. M. FGF Signaling Is Necessary for Neurogenesis in Young Mice and Sufficient to Reverse Its Decline in Old Mice. **J Neurosci**, 35, n. 28, p. 10217-10223, Jul 15 2015.

KEE, N.; SIVALINGAM, S.; BOONSTRA, R.; WOJTOWICZ, J. M. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. **J Neurosci Methods**, 115, n. 1, p. 97-105, Mar 30 2002.

KEMPERMANN, G.; BRANDON, E. P.; GAGE, F. H. Environmental stimulation of 129/SvJ mice causes increased cell proliferation and neurogenesis in the adult dentate gyrus. **Curr Biol**, 8, n. 16, p. 939-942, 1998 Jul 30-Aug 13 1998.

KEMPERMANN, G.; GAGE, F. H.; AIGNER, L.; SONG, H. *et al.* Human Adult Neurogenesis: Evidence and Remaining Questions. **Cell Stem Cell**, 23, n. 1, p. 25-30, Jul 05 2018.

KEMPERMANN, G.; GAST, D.; GAGE, F. H. Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. **Ann Neurol**, 52, n. 2, p. 135-143, Aug 2002.

KEMPERMANN, G.; JESSBERGER, S.; STEINER, B.; KRONENBERG, G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. **Trends Neurosci**, 27, n. 8, p. 447-452, Aug 2004.

KEMPERMANN, G.; KUHN, H. G.; GAGE, F. H. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. **J Neurosci**, 18, n. 9, p. 3206-3212, May 01 1998.

KEMPERMANN, G.; KUHN, H. G.; GAGE, F. H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. **Nature**, 386, n. 6624, p. 493-495, Apr 03 1997.

KEMPERMANN, G.; SONG, H.; GAGE, F. H. Neurogenesis in the Adult Hippocampus. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, 7, n. 9, p. a018812, Sep 01 2015.

KENNEDY, L.; EVANS, E.; CHEN, C. M.; CRAVEN, L. *et al.* Dramatic tissue-specific mutation length increases are an early molecular event in Huntington disease pathogenesis. **Hum Mol Genet**, 12, n. 24, p. 3359-3367, Dec 15 2003.

KHAKH, B. S.; BEAUMONT, V.; CACHOPE, R.; MUNOZ-SANJUAN, I. *et al.* Unravelling and Exploiting Astrocyte Dysfunction in Huntington's Disease. **Trends Neurosci**, 40, n. 7, p. 422-437, Jul 2017.

KHALIL, H.; QUINN, L.; VAN DEURSEN, R.; DAWES, H. *et al.* What effect does a structured home-based exercise programme have on people with Huntington's disease? A randomized, controlled pilot study. **Clin Rehabil**, 27, n. 7, p. 646-658, Jul 2013.

KIM, A.; LALONDE, K.; TRUESDELL, A.; GOMES WELTER, P. *et al.* New Avenues for the Treatment of Huntington's Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 16, Aug 04 2021.

KIM, S.; PARK, J. M.; MOON, J.; CHOI, H. J. Alpha-synuclein interferes with cAMP/PKA-dependent upregulation of dopamine β -hydroxylase and is associated with abnormal adaptive responses to immobilization stress. **Exp Neurol**, 252, p. 63-74, Feb 2014.

KLEMPIN, F.; KEMPERMANN, G. Adult hippocampal neurogenesis and aging. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, 257, n. 5, p. 271-280, Aug 2007.

KNOTH, R.; SINGEC, I.; DITTER, M.; PANTAZIS, G. *et al.* Murine features of neurogenesis in the human hippocampus across the lifespan from 0 to 100 years. **PLoS One**, 5, n. 1, p. e8809, Jan 29 2010.

KOHL, Z.; BEN ABDALLAH, N.; VOGELGSANG, J.; TISCHER, L. *et al.* Severely impaired hippocampal neurogenesis associates with an early serotonergic deficit in a BAC α -synuclein transgenic rat model of Parkinson's disease. **Neurobiol Dis**, 85, p. 206-217, Jan 2016.

KOVACS, G. G. Concepts and classification of neurodegenerative diseases. **Handb Clin Neurol**, 145, p. 301-307, 2017.

KOVACS, G. G. Molecular pathology of neurodegenerative diseases: principles and practice. **J Clin Pathol**, 72, n. 11, p. 725-735, Nov 2019.

KUHN, H. G.; DICKINSON-ANSON, H.; GAGE, F. H. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. **J Neurosci**, 16, n. 6, p. 2027-2033, Mar 15 1996.

KURKI, P.; VANDERLAAN, M.; DOLBEARE, F.; GRAY, J. *et al.* Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin during the cell cycle. **Exp Cell Res**, 166, n. 1, p. 209-219, Sep 1986.

LAAKSO, M. P.; PARTANEN, K.; RIEKKINEN, P.; LEHTOVIRTA, M. *et al.* Hippocampal volumes in Alzheimer's disease, Parkinson's disease with and without dementia, and in vascular dementia: An MRI study. **Neurology**, 46, n. 3, p. 678-681, Mar 1996.

LAMPROPOULOS, I. C.; MALLI, F.; SINANI, O.; GOURGOULIANIS, K. I. *et al.* Worldwide trends in mortality related to Parkinson's disease in the period of 1994-2019: Analysis of vital registration data from the WHO Mortality Database. **Front Neurol**, 13, p. 956440, 2022.

LANGBEHN, D. R.; BRINKMAN, R. R.; FALUSH, D.; PAULSEN, J. S. *et al.* A new model for prediction of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length. **Clin Genet**, 65, n. 4, p. 267-277, Apr 2004.

LAZIC, S. E.; GROTE, H. E.; BLAKEMORE, C.; HANNAN, A. J. *et al.* Neurogenesis in the R6/1 transgenic mouse model of Huntington's disease: effects of environmental enrichment. **Eur J Neurosci**, 23, n. 7, p. 1829-1838, Apr 2006.

LAZIC, S. E.; GROTE, H.; ARMSTRONG, R. J.; BLAKEMORE, C. *et al.* Decreased hippocampal cell proliferation in R6/1 Huntington's mice. **Neuroreport**, 15, n. 5, p. 811-813, Apr 09 2004.

LENOIR, S.; LAHAYE, R. A.; VITET, H.; SCARAMUZZINO, C. *et al.* Pridopidine rescues BDNF/TrkB trafficking dynamics and synapse homeostasis in a Huntington disease brain-on-a-chip model. **Neurobiol Dis**, 173, p. 105857, Oct 15 2022.

LENT, R. **100 bilhões de neurônios**. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2010.

LENT, R. **Neuroplasticidade**. Neurociência da mente e do comportamento. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 241-252, 2015.

LEVINE, M. S.; KLAPSTEIN, G. J.; KOPPEL, A.; GRUEN, E. *et al.* Enhanced sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor activation in transgenic and knockin mouse models of Huntington's disease. **J Neurosci Res**, 58, n. 4, p. 515-532, Nov 15 1999.

LI, B.; YAMAMORI, H.; TATEBAYASHI, Y.; SHAFIT-ZAGARDO, B. *et al.* Failure of neuronal maturation in Alzheimer disease dentate gyrus. **J Neuropathol Exp Neurol**, 67, n. 1, p. 78-84, Jan 2008.

LI, J.; LE, W. Modeling neurodegenerative diseases in *Caenorhabditis elegans*. **Exp Neurol**, 250, p. 94-103, Dec 2013.

LIE, D. C.; SONG, H.; COLAMARINO, S. A.; MING, G. L. *et al.* Neurogenesis in the adult brain: new strategies for central nervous system diseases. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 44, p. 399-421, 2004.

LIM, J.; BANG, Y.; CHOI, H. J. Abnormal hippocampal neurogenesis in Parkinson's disease: relevance to a new therapeutic target for depression with Parkinson's disease. **Arch Pharm Res**, 41, n. 10, p. 943-954, Oct 2018.

LIN, C. H.; TALLAKSEN-GREENE, S.; CHIEN, W. M.; CEARLEY, J. A. *et al.* Neurological abnormalities in a knock-in mouse model of Huntington's disease. **Hum Mol Genet**, 10, n. 2, p. 137-144, Jan 15 2001.

LIONE, L. A.; CARTER, R. J.; HUNT, M. J.; BATES, G. P. *et al.* Selective discrimination learning impairments in mice expressing the human Huntington's disease mutation. **J Neurosci**, 19, n. 23, p. 10428-10437, Dec 01 1999.

LLORENS-MARTÍN, M. V.; RUEDA, N.; MARTÍNEZ-CUÉ, C.; TORRES-ALEMÁN, I. *et al.* Both increases in immature dentate neuron number and decreases of immobility time in the forced swim test occurred in parallel after environmental enrichment of mice. **Neuroscience**, 147, n. 3, p. 631-638, Jul 13 2007.

LUCASSEN, P. J.; FITZSIMONS, C. P.; SALTA, E.; MALETIC-SAVATIC, M. Adult neurogenesis, human after all (again): Classic, optimized, and future approaches. **Behav Brain Res**, 381, p. 112458, Mar 02 2020.

LUNKES, A.; MANDEL, J. L. A cellular model that recapitulates major pathogenic steps of Huntington's disease. **Hum Mol Genet**, 7, n. 9, p. 1355-1361, Sep 1998.

MACDONALD, M. E.; AMBROSE, C. M.; DUYAO, M. P.; MYERS, R. H. *et al.* A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. **Cell**, 72, n. 6, p. 971-983, 1993.

MADABHUSHI, R., PAN, L., & TSAI, L. H. (2014). DNA damage and its links to neurodegeneration. **Neuron**, 83(2), 266-282. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.06.034>

MAGEN, I.; FLEMING, S. M.; ZHU, C.; GARCIA, E. C. *et al.* Cognitive deficits in a mouse model of pre-manifest Parkinson's disease. **Eur J Neurosci**, 35, n. 6, p. 870-882, Mar 2012.

MALBERG, J. E.; EISCH, A. J.; NESTLER, E. J.; DUMAN, R. S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. **J Neurosci**, 20, n. 24, p. 9104-9110, Dec 15 2000.

MANGIARINI, L.; SATHASIVAM, K.; SELLER, M.; COZENS, B. *et al.* Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. **Cell**, 87, n. 3, p. 493-506, Nov 01 1996.

MAROTEAUX, L.; CAMPANELLI, J. T.; SCHELLER, R. H. Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. **J Neurosci**, 8, n. 8, p. 2804-2815, Aug 1988.

MARSHALL, J.; WHITE, K.; WEAVER, M.; FLURY WETHERILL, L. *et al.* Specific psychiatric manifestations among preclinical Huntington disease mutation carriers. **Arch Neurol**, 64, n. 1, p. 116-121, Jan 2007.

MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. **Nat Neurosci**, 10, n. 9, p. 1089-1093, Sep 2007.

MARXREITER, F.; ETTLE, B.; MAY, V. E.; ESMER, H. *et al.* Glial A30P alpha-synuclein pathology segregates neurogenesis from anxiety-related behavior in conditional transgenic mice. **Neurobiol Dis**, 59, p. 38-51, Nov 2013.

MCCOLGAN, P.; TABRIZI, S. J. Huntington's disease: a clinical review. **Eur J Neurol**, 25, n. 1, p. 24-34, Jan 2018.

MCKEITH, I. G.; DICKSON, D. W.; LOWE, J.; EMRE, M. *et al.* Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. **Neurology**, 65, n. 12, p. 1863-1872, Dec 27 2005.

MCLAUHLAN, D. J.; LANCASTER, T.; CRAUFURD, D.; LINDEN, D. E. J. *et al.* Different depression: motivational anhedonia governs antidepressant efficacy in Huntington's disease. **Brain Commun**, 4, n. 6, p. fcac278, 2022.

MEDINA, A.; MAHJOUB, Y.; SHAVER, L.; PRINGSHEIM, T. Prevalence and Incidence of Huntington's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. **Mov Disord**, 37, n. 12, p. 2327-2335, Dec 2022.

MELLENDEZ, R. I.; GREGORY, M. L.; BARDO, M. T.; KALIVAS, P. W. Impoverished rearing environment alters metabotropic glutamate receptor expression and function in the prefrontal cortex. **Neuropsychopharmacology**, 29, n. 11, p. 1980-1987, Nov 2004.

MENALLED, L. B.; SISON, J. D.; DRAGATIS, I.; ZEITLIN, S. *et al.* Time course of early motor and neuropathological anomalies in a knock-in mouse model of Huntington's disease with 140 CAG repeats. **J Comp Neurol**, 465, n. 1, p. 11-26, Oct 06 2003.

MILLER, B. R.; HEN, R. The current state of the neurogenic theory of depression and anxiety. **Curr Opin Neurobiol**, 30, p. 51-58, Feb 2015.

MIRRA, S. S.; HEYMAN, A.; MCKEEL, D.; SUMI, S. M. *et al.* The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. **Neurology**, 41, n. 4, p. 479-486, Apr 1991.

MLYNARIK, M.; JOHANSSON, B. B.; JEZOVA, D. Enriched environment influences adrenocortical response to immune challenge and glutamate receptor gene expression in rat hippocampus. **Ann N Y Acad Sci**, 1018, p. 273-280, Jun 2004.

MOHAPEL, P.; BRUNDIN, P. Harnessing endogenous stem cells to treat neurodegenerative disorders of the basal ganglia. **Parkinsonism Relat Disord**, 10, n. 5, p. 259-264, Jul 2004.

MONORANU, C. M.; APFELBACHER, M.; GRÜNBLATT, E.; PUPPE, B. *et al.* pH measurement as quality control on human postmortem brain tissue: a study of the BrainNet Europe consortium. **Neuropathol Appl Neurobiol**, 35, n. 3, p. 329-337, Jun 2009.

MONTALBANO, M., MAJMUNDAR, L., SENGUPTA, U., FUNG, L., & KAYED, R. (2023). Pathological tau signatures and nuclear alterations in neurons, astrocytes and microglia in Alzheimer's disease, progressive supranuclear palsy, and dementia with Lewy bodies. **Brain Pathol**, 33(1), e13112. <https://doi.org/10.1111/bpa.13112>

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

MORENO-JIMENEZ, E. P.; TERREROS-RONCAL, J.; FLOR-GARCIA, M.; RABANO, A. *et al.* Evidences for Adult Hippocampal Neurogenesis in Humans. **J Neurosci**, 41, n. 12, p. 2541-2553, Mar 24 2021.

MURPHY, K. P.; CARTER, R. J.; LIONE, L. A.; MANGIARINI, L. *et al.* Abnormal synaptic plasticity and impaired spatial cognition in mice transgenic for exon 1 of the human Huntington's disease mutation. **J Neurosci**, 20, n. 13, p. 5115-5123, Jul 01 2000.

NAKA, F.; NARITA, N.; OKADO, N.; NARITA, M. Modification of AMPA receptor properties following environmental enrichment. **Brain Dev**, 27, n. 4, p. 275-278, Jun 2005.

NITHIANANTHARAJAH, J.; BARKUS, C.; MURPHY, M.; HANNAN, A. J. Gene-environment interactions modulating cognitive function and molecular correlates of synaptic plasticity in Huntington's disease transgenic mice. **Neurobiol Dis**, 29, n. 3, p. 490-504, Mar 2008.

NITHIANANTHARAJAH, J.; HANNAN, A. J. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. **Nat Rev Neurosci**, 7, n. 9, p. 697-709, Sep 2006.

ORTH, M.; HANDLEY, O. J.; SCHWENKE, C.; DUNNETT, S. *et al.* Observing Huntington's disease: the European Huntington's Disease Network's REGISTRY. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 82, n. 12, p. 1409-1412, Dec 2011.

O'SULLIVAN, S. S.; JOHNSON, M.; WILLIAMS, D. R.; REVESZ, T. *et al.* The effect of drug treatment on neurogenesis in Parkinson's disease. **Mov Disord**, 26, n. 1, p. 45-50, Jan 2011.

OU, Z.; PAN, J.; TANG, S.; DUAN, D. *et al.* Global Trends in the Incidence, Prevalence, and Years Lived With Disability of Parkinson's Disease in 204 Countries/Territories From 1990 to 2019. **Front Public Health**, 9, p. 776847, 2021.

OUTEIRO, T. F., KOSS, D. J., ERSKINE, D., WALKER, L., KURZAWA-AKANBI, M., BURN, D., MCKEITH, I. (2019). Dementia with Lewy bodies: an update and outlook. **Mol Neurodegener**, 14(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0306-8>

PAIVA, I., PINHO, R., PAVLOU, M. A., HENNION, M., WALES, P., SCHÜTZ, A. L., OUTEIRO, T. F. (2017). Sodium butyrate rescues dopaminergic cells from alpha-synuclein-induced transcriptional deregulation and DNA damage. **Hum Mol Genet**, 26(12), 2231-2246. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx114>

PALAIOSGEORGOU, A. M.; PAPAKONSTANTINOY, E.; GOLFINOPOULOU, R.; SIGALA, M. *et al.* Recent approaches on Huntington's disease (Review). **Biomed Rep**, 18, n. 1, p. 5, Jan 2023.

PALPAGAMA, T. H.; WALDVOGEL, H. J.; FAULL, R. L. M.; KWAKOWSKY, A. The Role of Microglia and Astrocytes in Huntington's Disease. **Front Mol Neurosci**, 12, p. 258, 2019.

PANG, T. Y. C.; STAM, N. C.; NITHIANANTHARAJAH, J.; HOWARD, M. L. *et al.* Differential effects of voluntary physical exercise on behavioral and brain-derived neurotrophic factor expression deficits in Huntington's disease transgenic mice. **Neuroscience**, 141, n. 2, p. 569-584, Aug 25 2006.

PAOLI, R. A.; BOTTURI, A.; CIAMMOLA, A.; SILANI, V. *et al.* Neuropsychiatric burden in Huntington's disease. **Brain sciences**, 7, n. 6, p. 67, 2017.

PAPOUTSI, M.; LABUSCHAGNE, I.; TABRIZI, S. J.; STOUT, J. C. The cognitive burden in Huntington's disease: pathology, phenotype, and mechanisms of compensation. **Mov Disord**, 29, n. 5, p. 673-683, Apr 15 2014.

PARKINSON, J. An essay on the shaking palsy. 1817. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, 14, n. 2, p. 223-236; discussion 222, 2002.

PENG, Q.; MASUDA, N.; JIANG, M.; LI, Q. *et al.* The antidepressant sertraline improves the phenotype, promotes neurogenesis and increases BDNF levels in the R6/2 Huntington's disease mouse model. **Exp Neurol**, 210, n. 1, p. 154-163, Mar 2008.

PERRY, D. C.; KRAMER, J. H. Reward processing in neurodegenerative disease. **Neurocase**, 21, n. 1, p. 120-133, Feb 2015.

PETRELLA, L. I.; CASTELHANO, J. M.; RIBEIRO, M.; SERENO, J. V. *et al.* A whole brain longitudinal study in the YAC128 mouse model of Huntington's disease shows distinct trajectories of neurochemical, structural connectivity and volumetric changes. **Hum Mol Genet**, 27, n. 12, p. 2125-2137, Jun 15 2018.

PHILLIPS, W.; MORTON, A. J.; BARKER, R. A. Abnormalities of neurogenesis in the R6/2 mouse model of Huntington's disease are attributable to the in vivo microenvironment. **J Neurosci**, 25, n. 50, p. 11564-11576, Dec 14 2005.

PIIRA, A.; VAN WALSEM, M. R.; MIKALSEN, G.; NILSEN, K. H. *et al.* Effects of a One Year Intensive Multidisciplinary Rehabilitation Program for Patients with Huntington's Disease: a Prospective Intervention Study. **PLoS Curr**, 5, Sep 20 2013.

PINHO, R.; PAIVA, I.; JERCIC, K. G.; FONSECA-ORNELAS, L. *et al.* Nuclear localization and phosphorylation modulate pathological effects of alpha-synuclein. **Hum Mol Genet**, 28, n. 1, p. 31-50, Jan 01 2019.

PLÁCIDO, E.; GOMES WELTER, P.; WINK, A.; KARASIAK, G. D. *et al.* Beyond Motor Deficits: Environmental Enrichment Mitigates Huntington's Disease Effects in YAC128 Mice. **Int J Mol Sci**, 24, n. 16, Aug 09 2023.

POEWE, W.; SEPPI, K.; TANNER, C. M.; HALLIDAY, G. M. *et al.* Parkinson disease. **Nat Rev Dis Primers**, 3, p. 17013, Mar 23 2017.

POIRIER, M. A.; JIANG, H.; ROSS, C. A. A structure-based analysis of huntingtin mutant polyglutamine aggregation and toxicity: evidence for a compact beta-sheet structure. **Hum Mol Genet**, 14, n. 6, p. 765-774, Mar 15 2005.

POSTUMA, R. B.; BERG, D. Advances in markers of prodromal Parkinson disease. **Nat Rev Neurol**, 12, n. 11, p. 622-634, Oct 27 2016.

POSTUMA, R. B.; BERG, D.; STERN, M.; POEWE, W. *et al.* MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. **Movement disorders**, 30, n. 12, p. 1591-1601, 2015.

POULADI, M. A.; GRAHAM, R. K.; KARASINSKA, J. M.; XIE, Y. *et al.* Prevention of depressive behaviour in the YAC128 mouse model of Huntington disease by mutation at residue 586 of huntingtin. **Brain**, 132, n. Pt 4, p. 919-932, Apr 2009.

PRIDMORE, S. A. The prevalence of Huntington's disease in Tasmania. **Med J Aust**, 153, n. 3, p. 133-134, Aug 06 1990.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **Eur J Pharmacol**, 463, n. 1-3, p. 3-33, Feb 28 2003.

PRZEDBORSKI, S. The two-century journey of Parkinson disease research. **Nat Rev Neurosci**, 18, n. 4, p. 251-259, Mar 17 2017.

QUINN, L.; HAMANA, K.; KELSON, M.; DAWES, H. *et al.* A randomized, controlled trial of a multi-modal exercise intervention in Huntington's disease. **Parkinsonism Relat Disord**, 31, p. 46-52, Oct 2016.

QURESHI, F. H.; QURESHI, S. H.; ZIA, T.; KHAWAJA, F. Huntington's disease (HD): a brief review. **European Journal of Public Health Studies**, 5, n. 1, 2022.

RADULESCU, C. I. **The effects of environmental and microbiota manipulation on myelination in the YAC128 and BACHD models of Huntington disease.** 2017. -, University of Sheffield.

RAMPON, C.; TANG, Y. P.; GOODHOUSE, J.; SHIMIZU, E. *et al.* Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. **Nat Neurosci**, 3, n. 3, p. 238-244, Mar 2000.

RAO, M. S.; SHETTY, A. K. Efficacy of doublecortin as a marker to analyse the absolute number and dendritic growth of newly generated neurons in the adult dentate gyrus. **Eur J Neurosci**, 19, n. 2, p. 234-246, Jan 2004.

RASMUSON, S.; OLSSON, T.; HENRIKSSON, B. G.; KELLY, P. A. *et al.* Environmental enrichment selectively increases 5-HT1A receptor mRNA expression and binding in the rat hippocampus. **Brain Res Mol Brain Res**, 53, n. 1-2, p. 285-290, Jan 1998.

RAWLINS, M. D.; WEXLER, N. S.; WEXLER, A. R.; TABRIZI, S. J. *et al.* The Prevalence of Huntington's Disease. **Neuroepidemiology**, 46, n. 2, p. 144-153, 2016.

REGENSBURGER, M.; PROTS, I.; WINNER, B. Adult hippocampal neurogenesis in Parkinson's disease: impact on neuronal survival and plasticity. **Neural Plast**, 2014, p. 454696, 2014.

RENOIR, T.; PANG, T. Y.; MO, C.; CHAN, G. *et al.* Differential effects of early environmental enrichment on emotionality related behaviours in Huntington's disease transgenic mice. **J Physiol**, 591, n. 1, p. 41-55, Jan 01 2013.

RIEKKINEN, P., JR.; KEJONEN, K.; LAAKSO, M. P.; SOININEN, H. *et al.* Hippocampal atrophy is related to impaired memory, but not frontal functions in non-demented Parkinson's disease patients. **Neuroreport**, 9, n. 7, p. 1507-1511, May 11 1998.

RIZK, P.; SALAZAR, J.; RAISMAN-VOZARI, R.; MARIEN, M. *et al.* The alpha2-adrenoceptor antagonist dexefaroxan enhances hippocampal neurogenesis by increasing the survival and differentiation of new granule cells. **Neuropsychopharmacology**, 31, n. 6, p. 1146-1157, Jun 2006.

ROEHR, B. American psychiatric association explains DSM-5. **Bmj**, 346, 2013.

ROSAS, H. D.; KOROSHETZ, W. J.; CHEN, Y. I.; SKEUSE, C. *et al.* Evidence for more widespread cerebral pathology in early HD: an MRI-based morphometric analysis. **Neurology**, 60, n. 10, p. 1615-1620, May 27 2003.

ROSAS, H.; LIU, A.; HERSCH, S.; GLESSNER, M. *et al.* Regional and progressive thinning of the cortical ribbon in Huntington's disease. **Neurology**, 58, n. 5, p. 695-701, 2002.

ROSENZWEIG, M. R. Environmental complexity, cerebral change, and behavior. **Am Psychol**, 21, n. 4, p. 321-332, Apr 1966.

ROSS, C. A.; AYLWARD, E. H.; WILD, E. J.; LANGBEHN, D. R. *et al.* Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics. **Nature Reviews Neurology**, 10, n. 4, p. 204-216, 2014.

ROSS, C. A.; TABRIZI, S. J. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. **Lancet Neurol**, 10, n. 1, p. 83-98, Jan 2011.

SALMINA, A. B.; KAPKAEVA, M. R.; VETCHINOVA, A. S.; ILLARIOSHKIN, S. N. Novel Approaches Used to Examine and Control Neurogenesis in Parkinson's Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 17, Sep 04 2021.

SANBERG, P. R.; FIBIGER, H. C.; MARK, R. F. Body weight and dietary factors in Huntington's disease patients compared with matched controls. **Med J Aust**, 1, n. 8, p. 407-409, Apr 18 1981.

SANTOS, V. L. **Perfil epidemiológico da Doença de Parkinson no Brasil**. 2015.

SAUDOU, F.; HUMBERT, S. The biology of huntingtin. **Neuron**, 89, n. 5, p. 910-926, 2016.

SCHAPIRA, A. H. V.; CHAUDHURI, K. R.; JENNER, P. Non-motor features of Parkinson disease. **Nat Rev Neurosci**, 18, n. 7, p. 435-450, Jul 2017.

SCHASER, A. J., OSTERBERG, V. R., DENT, S. E., STACKHOUSE, T. L., WAKEHAM, C. M., BOUTROS, S. W., UNNI, V. K. (2019). Alpha-synuclein is a DNA binding protein that modulates DNA repair with implications for Lewy body disorders. **Sci Rep**, 9(1), 10919. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47227-z>

SCHIEFER, J.; WERNER, C. J.; REETZ, K. Clinical diagnosis and management in early Huntington's disease: a review. **Degener Neurol Neuromuscul Dis**, 5, p. 37-50, 2015.

SCHILLING, G.; BECHER, M. W.; SHARP, A. H.; JINNAH, H. A. *et al.* Intranuclear inclusions and neuritic aggregates in transgenic mice expressing a mutant N-terminal fragment of huntingtin. **Hum Mol Genet**, 8, n. 3, p. 397-407, Mar 1999.

SCHILLING, G.; SAVONENKO, A. V.; COONFIELD, M. L.; MORTON, J. L. *et al.* Environmental, pharmacological, and genetic modulation of the HD phenotype in transgenic mice. **Exp Neurol**, 187, n. 1, p. 137-149, May 2004.

SCHINDELIN, J., ARGANDA-CARRERAS, I., FRISE, E., KAYNIG, V., LONGAIR, M., PIETZSCH, T., PREIBISCH, S., RUEDEN, C., SAALFELD, S., SCHMID, B., TINEVEZ, J.-

Y., WHITE, D. J., HARTENSTEIN, V., ELICEIRI, K., TOMANCAK, P., & CARDONA, A. (2012). Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. **Nature Methods**, 9, 676–682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>

SCHÖLS, L.; BAUER, P.; SCHMIDT, T.; SCHULTE, T. *et al.* Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. **Lancet Neurol**, 3, n. 5, p. 291-304, May 2004.

SCRIMGEOUR, E. M.; PFUMOJENA, J. W. Huntington disease in black Zimbabwean families living near the Mozambique border. **Am J Med Genet**, 44, n. 6, p. 762-766, Dec 01 1992.

SEO, H.; KIM, W.; ISACSON, O. Compensatory changes in the ubiquitin-proteasome system, brain-derived neurotrophic factor and mitochondrial complex II/III in YAC72 and R6/2 transgenic mice partially model Huntington's disease patients. **Hum Mol Genet**, 17, n. 20, p. 3144-3153, Oct 15 2008.

SHELBOURNE, P. F.; KILLEEN, N.; HEVNER, R. F.; JOHNSTON, H. M. *et al.* A Huntington's disease CAG expansion at the murine Hdh locus is unstable and associated with behavioural abnormalities in mice. **Hum Mol Genet**, 8, n. 5, p. 763-774, May 1999.

SHIPTON, E. A. Movement disorders and neuromodulation. **Neurol Res Int**, 2012, p. 309431, 2012.

SIMPSON, J. M.; GIL-MOHAPEL, J.; POULADI, M. A.; GHILAN, M. *et al.* Altered adult hippocampal neurogenesis in the YAC128 transgenic mouse model of Huntington disease. **Neurobiol Dis**, 41, n. 2, p. 249-260, Feb 2011.

SINGH, S.; MISHRA, A.; MISHRA, S. K.; SHUKLA, S. ALCAR promote adult hippocampal neurogenesis by regulating cell-survival and cell death-related signals in rat model of Parkinson's disease like-phenotypes. **Neurochem Int**, 108, p. 388-396, Sep 2017.

SINGHAL, G.; JAEHNE, E. J.; CORRIGAN, F.; BAUNE, B. T. Cellular and molecular mechanisms of immunomodulation in the brain through environmental enrichment. **Front Cell Neurosci**, 8, p. 97, 2014.

SKILLINGS, E. A.; WOOD, N. I.; MORTON, A. J. Beneficial effects of environmental enrichment and food entrainment in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. **Brain Behav**, 4, n. 5, p. 675-686, Sep 2014.

SLOW, E. J.; VAN RAAMSDONK, J.; ROGERS, D.; COLEMAN, S. H. *et al.* Selective striatal neuronal loss in a YAC128 mouse model of Huntington disease. **Hum Mol Genet**, 12, n. 13, p. 1555-1567, Jul 01 2003.

SOFRONIEW, M. V. Astrogliosis. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 7, n. 2, p. a020420, 2015.

SORRELLS, S. F.; PAREDES, M. F.; CEBRIAN-SILLA, A.; SANDOVAL, K. *et al.* Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. **Nature**, 555, n. 7696, p. 377-381, Mar 15 2018.

SPARGO, E.; EVERALL, I. P.; LANTOS, P. L. Neuronal loss in the hippocampus in Huntington's disease: a comparison with HIV infection. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 56, n. 5, p. 487-491, May 1993.

SPOLIDORO, M.; SALE, A.; BERARDI, N.; MAFFEI, L. Plasticity in the adult brain: lessons from the visual system. **Exp Brain Res**, 192, n. 3, p. 335-341, Jan 2009.

SQUITIERI, F.; BERARDELLI, A.; NARGI, E.; CASTELLOTTI, B. *et al.* Atypical movement disorders in the early stages of Huntington's disease: clinical and genetic analysis. **Clin Genet**, 58, n. 1, p. 50-56, Jul 2000.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 85, n. 3, p. 367-370, 1985.

STEWART, D. A. NICE guideline for Parkinson's disease. **Age Ageing**, 36, n. 3, p. 240-242, May 2007.

STOUT, J. C.; PAULSEN, J. S.; QUELLER, S.; SOLOMON, A. C. *et al.* Neurocognitive signs in prodromal Huntington disease. **Neuropsychology**, 25, n. 1, p. 1-14, Jan 2011.

SUNG, Y. H. Effects of treadmill exercise on hippocampal neurogenesis in an MPTP /probenecid-induced Parkinson's disease mouse model. **J Phys Ther Sci**, 27, n. 10, p. 3203-3206, Oct 2015.

SURGUCHOV, A. Intracellular Dynamics of Synucleins: "Here, There and Everywhere". **Int Rev Cell Mol Biol**, 320, p. 103-169, 2015.

TABRIZI, S. J.; LEAVITT, B.; LANDWEHRMEYER, B.; WILD, E. *et al.* J01 Effects of IONIS-HTTRX (RG6042) in patients with early huntington's disease, results of the first htt-lowering drug trial. BMJ Publishing Group Ltd 2018.

TAKAMURA, N.; NAKAGAWA, S.; MASUDA, T.; BOKU, S. *et al.* The effect of dopamine on adult hippocampal neurogenesis. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 50, p. 116-124, Apr 03 2014.

TAKETO, M.; SCHROEDER, A. C.; MOBRAATEN, L. E.; GUNNING, K. B. *et al.* FVB/N: an inbred mouse strain preferable for transgenic analyses. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 88, n. 6, p. 2065-2069, Mar 15 1991.

TANAPAT, P.; GALEA, L. A.; GOULD, E. Stress inhibits the proliferation of granule cell precursors in the developing dentate gyrus. **Int J Dev Neurosci**, 16, n. 3-4, p. 235-239, 1998.

TANG, Y. P.; WANG, H.; FENG, R.; KYIN, M. *et al.* Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. **Neuropharmacology**, 41, n. 6, p. 779-790, Nov 2001.

TASHIRO, A.; MAKINO, H.; GAGE, F. H. Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. **J Neurosci**, 27, n. 12, p. 3252-3259, Mar 21 2007.

TASHIRO, A.; SANDLER, V. M.; TONI, N.; ZHAO, C. *et al.* NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. **Nature**, 442, n. 7105, p. 929-933, Aug 24 2006.

TATTERSFIELD, A. S.; CROON, R. J.; LIU, Y. W.; KELLS, A. P. *et al.* Neurogenesis in the striatum of the quinolinic acid lesion model of Huntington's disease. **Neuroscience**, 127, n. 2, p. 319-332, 2004.

TERREROS-RONCAL, J., FLOR-GARCÍA, M., MORENO-JIMÉNEZ, E. P., RODRÍGUEZ-MORENO, C. B., MÁRQUEZ-VALADEZ, B., GALLARDO-CABALLERO, M., LLORENS-MARTÍN, M. (2023). Methods to study adult hippocampal neurogenesis in humans and across the phylogeny. **Hippocampus**, 33(4), 271-306. <https://doi.org/10.1002/hipo.23474>

TERREROS-RONCAL, J.; MORENO-JIMENEZ, E. P.; FLOR-GARCIA, M.; RODRIGUEZ-MORENO, C. B. *et al.* Impact of neurodegenerative diseases on human adult hippocampal neurogenesis. **Science**, 374, n. 6571, p. 1106-1113, Nov 26 2021.

THAL, D. R., RÜB, U., ORANTES, M., & BRAAK, H. (2002). Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. **Neurology**, 58(12), 1791-1800. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.12.1791>

THARMARATNAM, T.; CIVITARESE, R. A.; TABOBONDUNG, T.; TABOBONDUNG, T. A. Exercise becomes brain: sustained aerobic exercise enhances hippocampal neurogenesis. **J Physiol**, 595, n. 1, p. 7-8, Jan 01 2017.

THOMPSON, J. A.; CRUICKSHANK, T. M.; PENAILILLO, L. E.; LEE, J. W. *et al.* The effects of multidisciplinary rehabilitation in patients with early-to-middle-stage Huntington's disease: a pilot study. **Eur J Neurol**, 20, n. 9, p. 1325-1329, Sep 2013.

TITOVA, N.; SCHAPIRA, A. H. V.; CHAUDHURI, K. R.; QAMAR, M. A. *et al.* Nonmotor Symptoms in Experimental Models of Parkinson's Disease. **Int Rev Neurobiol**, 133, p. 63-89, 2017.

TOBIN, M. K.; MUSARACA, K.; DISOUKY, A.; SHETTI, A. *et al.* Human Hippocampal Neurogenesis Persists in Aged Adults and Alzheimer's Disease Patients. **Cell Stem Cell**, 24, n. 6, p. 974-982.e973, Jun 06 2019.

TODOROVA, A.; JENNER, P.; RAY CHAUDHURI, K. Non-motor Parkinson's: integral to motor Parkinson's, yet often neglected. **Pract Neurol**, 14, n. 5, p. 310-322, Oct 2014.

TRONCOSO-ESCUADERO, P.; SEPULVEDA, D.; PÉREZ-ARANCIBIA, R.; PARRA, A. V. *et al.* On the Right Track to Treat Movement Disorders: Promising Therapeutic Approaches for Parkinson's and Huntington's Disease. **Front Aging Neurosci**, 12, p. 571185, 2020.

VAN DELLEN, A.; GROTE, H. E.; HANNAN, A. J. Gene–environment interactions, neuronal dysfunction and pathological plasticity in Huntington's disease. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 32, n. 12, p. 1007-1019, 2005.

VAN DUIJN, E.; CRAUFURD, D.; HUBERS, A. A.; GILTAY, E. J. *et al.* Neuropsychiatric symptoms in a European Huntington's disease cohort (REGISTRY). **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 85, n. 12, p. 1411-1418, Dec 2014.

VAN LOO, P. L.; VAN ZUTPHEN, L. F.; BAUMANS, V. Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice. **Lab Anim**, 37, n. 4, p. 300-313, Oct 2003.

VAN PRAAG, H.; KEMPERMANN, G.; GAGE, F. H. Neural consequences of environmental enrichment. **Nat Rev Neurosci**, 1, n. 3, p. 191-198, Dec 2000.

VAN PRAAG, H.; KEMPERMANN, G.; GAGE, F. H. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. **Nat Neurosci**, 2, n. 3, p. 266-270, Mar 1999.

VAN PRAAG, H.; SCHINDER, A. F.; CHRISTIE, B. R.; TONI, N. *et al.* Functional neurogenesis in the adult hippocampus. **Nature**, 415, n. 6875, p. 1030-1034, Feb 28 2002.

VAN PRAAG, H.; SHUBERT, T.; ZHAO, C.; GAGE, F. H. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. **J Neurosci**, 25, n. 38, p. 8680-8685, Sep 21 2005.

VAN RAAMSDONK, J. M.; METZLER, M.; SLOW, E.; PEARSON, J. *et al.* Phenotypic abnormalities in the YAC128 mouse model of Huntington disease are penetrant on multiple genetic backgrounds and modulated by strain. **Neurobiol Dis**, 26, n. 1, p. 189-200, Apr 2007.

VAN RAAMSDONK, J. M.; PEARSON, J.; ROGERS, D. A.; BISSADA, N. *et al.* Loss of wild-type huntingtin influences motor dysfunction and survival in the YAC128 mouse model of Huntington disease. **Hum Mol Genet**, 14, n. 10, p. 1379-1392, May 15 2005.

VAN RAAMSDONK, J. M.; PEARSON, J.; SLOW, E. J.; HOSSAIN, S. M. *et al.* Cognitive dysfunction precedes neuropathology and motor abnormalities in the YAC128 mouse model of Huntington's disease. **J Neurosci**, 25, n. 16, p. 4169-4180, Apr 20 2005.

VAN RAAMSDONK, J. M.; WARBY, S. C.; HAYDEN, M. R. Selective degeneration in YAC mouse models of Huntington disease. **Brain Res Bull**, 72, n. 2-3, p. 124-131, Apr 30 2007.

VIOLA, G. G.; RODRIGUES, L.; AMÉRICO, J. C.; HANSEL, G. *et al.* Morphological changes in hippocampal astrocytes induced by environmental enrichment in mice. **Brain Res**, 1274, p. 47-54, Jun 05 2009.

VON BOHLEN UND HALBACH, O. Immunohistological markers for staging neurogenesis in adult hippocampus. **Cell Tissue Res**, 329, n. 3, p. 409-420, Sep 2007.

VONSATTEL, J. P. G.; DIFIGLIA, M. Huntington disease. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, 57, n. 5, p. 369, 1998.

VONSATTEL, J. P.; MYERS, R. H.; STEVENS, T. J.; FERRANTE, R. J. *et al.* Neuropathological classification of Huntington's disease. **J Neuropathol Exp Neurol**, 44, n. 6, p. 559-577, Nov 1985.

VUONG, K.; CANNING, C. G.; MENANT, J. C.; LOY, C. T. Gait, balance, and falls in Huntington disease. **Handb Clin Neurol**, 159, p. 251-260, 2018.

WAGNER, A. K.; CHEN, X.; KLINE, A. E.; LI, Y. *et al.* Gender and environmental enrichment impact dopamine transporter expression after experimental traumatic brain injury. **Exp Neurol**, 195, n. 2, p. 475-483, Oct 2005.

WALES, P.; PINHO, R.; LÁZARO, D. F.; OUTEIRO, T. F. Limelight on alpha-synuclein: pathological and mechanistic implications in neurodegeneration. **J Parkinsons Dis**, 3, n. 4, p. 415-459, 2013.

WALKER, F. O. Huntington's Disease. **Semin Neurol**, 27, n. 2, p. 143-150, Apr 2007.

WALKER, L.; STEFANIS, L.; ATTEMS, J. Clinical and neuropathological differences between Parkinson's disease, Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies - current issues and future directions. **J Neurochem**, 150, n. 5, p. 467-474, Sep 2019.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open-Field Test: a critical review. **Psychol Bull**, 83, n. 3, p. 482-504, May 1976.

WANG, D.; YU, T.; LIU, Y.; YAN, J. *et al.* DNA damage preceding dopamine neuron degeneration in A53T human α -synuclein transgenic mice. **Biochem Biophys Res Commun**, 481, n. 1-2, p. 104-110, Dec 02 2016.

WANG, L.; CHANG, X.; SHE, L.; XU, D. *et al.* Autocrine action of BDNF on dendrite development of adult-born hippocampal neurons. **J Neurosci**, 35, n. 22, p. 8384-8393, Jun 03 2015.

WARTH PEREZ ARIAS, C. C.; SILBERN, I.; CALDI GOMES, L.; WARTMANN, H. *et al.* Proteomic analysis of the human hippocampus identifies neuronal pentraxin 1 (NPTX1) as synapto-axonal target in late-stage Parkinson's disease. **J Neurochem**, 166, n. 5, p. 862-874, Sep 2023.

WELLINGTON, C. L.; LEAVITT, B. R.; HAYDEN, M. R. Huntington disease: new insights on the role of huntingtin cleavage. **J Neural Transm Suppl**, n. 58, p. 1-17, 2000.

WESNES, K. A.; BURN, D. J. Compromised object pattern separation performance in Parkinson's disease suggests dentate gyrus neurogenesis may be compromised in the condition. **J Alzheimers Dis Parkinsonism**, 3, n. 131, p. 2161-0460.1000131, 2013.

WEXLER, N. S.; LORIMER, J.; PORTER, J.; GOMEZ, F. *et al.* Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 101, n. 10, p. 3498-3503, Mar 09 2004.

WHEELER, V. C.; AUERBACH, W.; WHITE, J. K.; SRINIDHI, J. *et al.* Length-dependent gametic CAG repeat instability in the Huntington's disease knock-in mouse. **Hum Mol Genet**, 8, n. 1, p. 115-122, Jan 1999.

WHEELER, V. C.; GUTEKUNST, C. A.; VRBANAC, V.; LEBEL, L. A. *et al.* Early phenotypes that presage late-onset neurodegenerative disease allow testing of modifiers in Hdh CAG knock-in mice. **Hum Mol Genet**, 11, n. 6, p. 633-640, Mar 15 2002.

WILSON, D. M.; COOKSON, M. R.; VAN DEN BOSCH, L.; ZETTERBERG, H. *et al.* Hallmarks of neurodegenerative diseases. **Cell**, 186, n. 4, p. 693-714, Feb 16 2023.

WILTON, D. K.; STEVENS, B. The contribution of glial cells to Huntington's disease pathogenesis. **Neurobiol Dis**, 143, p. 104963, Sep 2020.

WINNER, B.; DESPLATS, P.; HAGL, C.; KLUCKEN, J. *et al.* Dopamine receptor activation promotes adult neurogenesis in an acute Parkinson model. **Exp Neurol**, 219, n. 2, p. 543-552, Oct 2009.

WINNER, B.; MELROSE, H. L.; ZHAO, C.; HINKLE, K. M. *et al.* Adult neurogenesis and neurite outgrowth are impaired in LRRK2 G2019S mice. **Neurobiol Dis**, 41, n. 3, p. 706-716, Mar 2011.

WOOD, D. A.; BUSE, J. E.; WELLMAN, C. L.; REBEC, G. V. Differential environmental exposure alters NMDA but not AMPA receptor subunit expression in nucleus accumbens core and shell. **Brain Res**, 1042, n. 2, p. 176-183, May 03 2005.

XU, Z.; HOU, B.; ZHANG, Y.; GAO, Y. *et al.* Antidepressive behaviors induced by enriched environment might be modulated by glucocorticoid levels. **Eur Neuropsychopharmacol**, 19, n. 12, p. 868-875, Dec 2009.

RAMON Y CAJAL, S. R. Degeneración y Regeneración de los Centres Nerviosos. *In: Estudios sobre la Degeneración y Regeneración del Sistema Nervioso*: Moya Madrid, 1914. v. 2.

YANG, D.; WANG, C. E.; ZHAO, B.; LI, W. *et al.* Expression of Huntington's disease protein results in apoptotic neurons in the brains of cloned transgenic pigs. **Hum Mol Genet**, 19, n. 20, p. 3983-3994, Oct 15 2010.

YANG, P.; ARNOLD, S. A.; HABAS, A.; HETMAN, M. *et al.* Ciliary neurotrophic factor mediates dopamine D2 receptor-induced CNS neurogenesis in adult mice. **J Neurosci**, 28, n. 9, p. 2231-2241, Feb 27 2008.

YAVICH, L.; JÄKÄLÄ, P.; TANILA, H. Abnormal compartmentalization of norepinephrine in mouse dentate gyrus in alpha-synuclein knockout and A30P transgenic mice. **J Neurochem**, 99, n. 3, p. 724-732, Nov 2006.

ZACCHETTI, A.; VAN GARDEREN, E.; TESKE, E.; NEDERBRAGT, H. *et al.* Validation of the use of proliferation markers in canine neoplastic and non-neoplastic tissues: comparison of KI-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression versus in vivo bromodeoxyuridine labelling by immunohistochemistry. **APMIS**, 111, n. 3, p. 430-438, Mar 2003.

ZESIEWICZ, T. A. Parkinson Disease. **Continuum (Minneapolis)**, 25, n. 4, p. 896-918, Aug 2019.

ZHANG, J.; JIAO, J. Molecular Biomarkers for Embryonic and Adult Neural Stem Cell and Neurogenesis. **Biomed Res Int**, 2015, p. 727542, 2015.

ZHAO, C.; DENG, W.; GAGE, F. H. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. **Cell**, 132, n. 4, p. 645-660, Feb 22 2008.

ZHU, J.; APPARSUNDARAM, S.; BARDO, M. T.; DWOSKIN, L. P. Environmental enrichment decreases cell surface expression of the dopamine transporter in rat medial prefrontal cortex. **J Neurochem**, 93, n. 6, p. 1434-1443, Jun 2005.

ZUCCATO, C.; CATTANEO, E. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. **Progress in neurobiology**, 81, n. 5-6, p. 294-330, 2007.

ZUCCATO, C.; CIAMMOLA, A.; RIGAMONTI, D.; LEAVITT, B. R. *et al.* Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. **Science**, 293, n. 5529, p. 493-498, 2001.

ZUCCATO, C.; LIBER, D.; RAMOS, C.; TARDITI, A. *et al.* Progressive loss of BDNF in a mouse model of Huntington's disease and rescue by BDNF delivery. **Pharmacological research**, 52, n. 2, p. 133-139, 2005.

ZUCCATO, C.; MARULLO, M.; CONFORTI, P.; MACDONALD, M. E. *et al.* Systematic assessment of BDNF and its receptor levels in human cortices affected by Huntington's disease. **Brain pathology**, 18, n. 2, p. 225-238, 2008.

ZUCCATO, C.; VALENZA, M.; CATTANEO, E. Molecular mechanisms and potential therapeutical targets in Huntington's disease. **Physiol Rev**, 90, n. 3, p. 905-981, Jul 2010.

APÊNDICE A – PARTICIPAÇÃO EM PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Artigos Publicados

PLÁCIDO, E.; GOMES WELTER, P.; WINK, A.; KARASIAK, G. D. *et al.* Beyond Motor Deficits: Environmental Enrichment Mitigates Huntington's Disease Effects in YAC128 Mice. *Int J Mol Sci*, 24, n. 16, Aug 09 2023.

DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO, C., WINKELMANN-DUARTE, E. C., MANCINI, G., WELTER, P. G., PLÁCIDO, E., FARINA, M., GIL-MOHAPEL, J., RODRIGUES, A. L. S. DE BEM, A. F., BROCARDO, P. S. Temporal characterization of behavioral and hippocampal dysfunction in the YAC128 mouse model of Huntington's disease *Biomedicines*, v. 10, n. 6, p. 1433, 2022

PLÁCIDO, E., DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO, C., WELTER, P. G., GILMOHAPEL, J. & BROCARDO, P. S. 2021. Linking Huntington disease, brain-derived neurotrophic factor, and depressive-like behaviors. *The Neuroscience of Depression*. Academic Press. Press, 2021. p. 161-177.

DA FONSÊCA, V. S., DA SILVA COLLA, A. R., DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO, C., PLÁCIDO, E., ROSA, J. M., FARINA, M., GIL-MOHAPEL, J., RODRIGUES, A. L. S. & BROCARDO, P. S. 2018. Brain-derived neurotrophic factor prevents depressive-like behaviors in early-symptomatic YAC128 Huntington's disease mice. *Molecular neurobiology*, 55, 7201-7215.

DA SILVA FIORIN, F., DO ESPÍRITO SANTO, C. C., DO NASCIMENTO, R. S., CASSOL, G., PLÁCIDO, E., SANTOS, A. R. S., MARQUES, J. L. B., BROCARDO, P. S., FIGHERA, M. R. & ROYES, L. F. F. 2020. Capsaicin-sensitive fibers mediate periorbital allodynia and activation of inflammatory cells after traumatic brain injury in rats: Involvement of TRPV1 channels in post-traumatic headache. *Neuropharmacology*, 176, 108215.

Artigo submetido

Journal of Neurochemistry



Altered Hippocampal Doublecortin Expression in Parkinson's Disease Individuals

Journal:	<i>Journal of Neurochemistry</i>
Manuscript ID	JNC-2023-0559
Wiley - Manuscript type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	29-Sep-2023
Complete List of Authors:	Brocardo, Patricia S.; Universidade Federal de Santa Catarina Plácido, Evelini; Universidade Federal de Santa Catarina Koss, David J.; Newcastle University Faculty of Medical Sciences; University of Dundee School of Medicine Outeiro, Tiago; Newcastle University Faculty of Medical Sciences; Universitätsmedizin Gottingen Experimental Neurodegeneration; Max-Planck-Institut für Multidisziplinäre Naturwissenschaften
Keywords:	Parkinson's disease, Adult hippocampal neurogenesis, Human brain tissue, Doublecortin
Mark A. Smith Award:	No
Specialty/Area of Expertise:	Neuronal Plasticity & Behavior

SCHOLARONE™
Manuscripts