



**CENTRO UNIVERSITÁRIO FG – UNIFG**  
**BACHARELADO EM FÁRMACIA**

**IAN MATOS PIMENTEL**  
**JANCINARA FLORA GAMA**

**ZEBRAFISH (*Danio rerio*): UMA HISTÓRIA DE SUCESSO COMO MODELO  
COMPORTAMENTAL E BIOQUÍMICO NA CIÊNCIA MODERNA**

**Guanambi–BA**

**2021.1**

**IAN MATOS PIMENTEL  
JANCINARA FLORA GAMA**

**ZEBRAFISH (*Danio rerio*): UMA HISTÓRIA DE SUCESSO COMO MODELO  
COMPORTAMENTAL E BIOQUÍMICO NA CIÊNCIA MODERNA**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) a ser apresentado ao Centro Universitário FG (UniFG) como requisito para colação de grau de bacharel em Farmácia da referida instituição.

Orientador (a): Dr. Eldevan dos Santos Silva.

**Guanambi-BA**

**2021.1**

Ian Matos Pimentel<sup>1</sup>, Jancinara Flora Gama<sup>1</sup>, Eldevan dos Santos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduandos do curso de Farmácia Generalista. Centro Universitário FG – UniFG

<sup>2</sup>Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário FG – UniFG

## **RESUMO:**

Esse trabalho consiste em uma revisão de literatura que visa enfatizar a importância do Zebrafish (*Danio rerio*) como um importante modelo comportamental e bioquímico na ciência moderna. O Zebrafish (*Danio rerio*) é conhecido popularmente como paulistinha, pertence à família *Cyprinidae*, sendo um pequeno peixe teleósteo que mede de 3 a 4 cm, típico de água doce que vem sendo utilizado como animal de experimentação para estudo de várias doenças humanas devido a facilidade de manejo, reprodução, manutenção. O Zebrafish vem atraindo bastante a comunidade científica, por constituir um excelente modelo experimental para estudos comportamentais, genéticos e toxicológicos bem como estudar mecanismos de diversas doenças humanas e testar novos agentes terapêuticos. O Zebrafish é bem aceito para desenvolver modelos experimentais de depressão, ansiedade, memória e para novos testes terapêuticos. Entre os organismos modelo de vertebrados, esse modelo animal é adequado para a geração rápida de linhas mutantes direcionadas à sequência, caracterização de fenótipos, incluindo padrões de expressão gênica, e geração de modelos de doenças humanas. Várias pesquisas, na atualidade, nos mais variados campos da ciência, utilizam o Zebrafish como um modelo experimental. Observa-se também que o Zebrafish (*Danio Rerio*) surgiu como um poderoso sistema de modelo de neurotoxicidade que pode acelerar a avaliação de perigos químicos e pode ser usado para extrapolar os efeitos neurotóxicos que os produtos químicos têm em humanos. Dado que muitos processos cerebrais são bastante parecidos com o do ser humano, é possível utilizar o peixe para o estudo de diversas neuropatologias, principalmente se associado a genética, onde um exemplo é a indução de doenças neurodegenerativa para o estudo da doença de Alzheimer e doença de Parkinson.

**PALAVRAS-CHAVE:** Zebrafish, Modelo Animal, Bioquímica, Doenças Degenerativas, Tratamentos.

**Endereço para correspondência:** Rua Mem de Sá, 493- Vomita Mel; Rua Paramirim, 357-Centro, Caetité-Ba;

**Endereço eletrônico:** e-mail: [ian\\_mts@outlook.com](mailto:ian_mts@outlook.com); [jancinaracte@gmail.com](mailto:jancinaracte@gmail.com).

**ABSTRACT:** Zebrafish (*Danio rerio*) is popularly known as paulistinha in Brazil, belonging to the Cyprinidae family, being a small teleost fish that is 3 to 4 cm long, typical of fresh water that has been used as an experimental animal for the study of various human diseases due to ease of management, reproduction, and maintenance. Zebrafish has been attracting the scientific community in recent years because it is an excellent experimental model for behavioral, genetic and toxicological studies, as well as studying mechanisms of various human diseases, and testing new therapeutic agents. Zebrafish is well accepted to develop experimental models of depression, anxiety, memory, and for new therapeutic tests. Among vertebrate model organisms, the zebrafish is suitable for rapid generation of sequence-directed mutant lines, characterization of phenotypes, including gene expression patterns, and generation of models of human diseases. Several researches in different areas of science use zebrafish as an experimental model. It was observed that zebrafish (*Danio Rerio*) has emerged as a powerful neurotoxicity model system that can accelerate the assessment of chemical dangers, and can be used to extrapolate the neurotoxic effects that chemicals have on humans. Many brain processes are very similar to that of humans, being then possible to use Zebrafish for the study of various neuropathologies, especially if associated with genetics, where one example is the induction of neurodegenerative for the study of Alzheimer's disease.

**KEYWORDS:** Zebrafish, Animal Model, Biochemistry, Degenerative Diseases, Treatments.

## Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	5
2.	METODOLOGIA.....	7
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	7
3.1.	ZEBRAFISH.....	7
3.1.1.	<b>Manipulação genética</b> .....	9
3.1.2.	<b>Tirosina Hidroxilase</b> .....	10
3.1.3.	<b>Agente tóxicos para produção do fenótipo da Doença de Parkinson</b> .....	12
3.2.	<b>DOENÇA DE PARKISON:</b> .....	14
3.2.1.	<b><math>\alpha</math>-Sinucleína</b> .....	16
3.2.2.	<b>Dj-1</b> .....	17
3.2.3.	<b>Parkin</b> .....	19
3.2.4.	<b>Pink1</b> .....	20
3.2.5.	<b>Irrk2</b> .....	21
3.3	<b>PROCESSO DEGENERATIVO (DOENÇA DE ALZHEIMER)</b> .....	22
4.	CONCLUSÃO.....	25
5.	REFERÊNCIAS: .....	26

## 1. INTRODUÇÃO

O Zebrafish (*Danio rerio*) é conhecido popularmente como paulistinha, pertence à família *Cyprinidae*, sendo um pequeno peixe teleósteo que mede de 3 a 4 cm, típico de água doce que vem sendo utilizado como animal de experimentação para estudo de várias doenças humanas devido a facilidade de manejo, reprodução, manutenção (SCHNEIDER et al., 2009).

O Zebrafish vem atraindo bastante a comunidade científica, por constituir um excelente modelo experimental para estudos comportamentais, genéticos e toxicológicos bem como estudar mecanismos de diversas doenças humanas e testar novos agentes terapêuticos (SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012).

O Zebrafish surgiu como uma espécie modelo utilizado em pesquisa translacional em várias áreas da neurociência, incluindo transtornos depressivos devido à sua homologia fisiológica (neuroanatômica, neuroendócrina, neuroquímica), fenótipos robustos e alta produtividade em cativeiro. O Zebrafish é bem aceito para desenvolver modelos experimentais de depressão, ansiedade, memória e para novos testes terapêuticos (FONSEKA et al., 2016). Entre os organismos modelo de vertebrados, Zebrafish são adequados para a geração rápida de linhas mutantes direcionadas à sequência, caracterização de fenótipos, incluindo padrões de expressão gênica, e geração de modelos de doenças humanas (HOWE et al., 2017).

Várias pesquisas, na atualidade, nos mais variados campos da ciência, utilizam o Zebrafish como um modelo experimental. Dentre os quais podemos citar estudos de novos insights sobre os primeiros mecanismos da epileptogênese da síndrome de Dravet (TIRABOSCHI et al., 2020). Possui sistema modelo atraente para estudo de doenças metabólicas devido à conservação funcional no metabolismo lipídico, biologia adiposa, estrutura do pâncreas e homeostase da glicose.

Também é adequado para a identificação de novos alvos associados aos riscos e ao tratamento de obesidade e diabetes em humanos (ZANG; MADDISON; CHEN, 2018). Pesquisas de CACNA2D4 mostram disfunção de cone leve, que não foi associada a sinais de degeneração da retina. Portanto, o Zebrafish é um adequado modelo para estudar os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à disfunção CACNA2D4 em humanos (SCHLEGEL et al., 2019).

Além disso, Zebrafish adulto conquistou seu lugar entre os modelos animais de tuberculose, pois possui imunidade adaptativa ativada por recombinação, podendo causar infecção aguda ou uma doença crônica progressiva com contenção de micobactérias em granulomas (MEIJER, 2016).

Isso tem contribuído para novos insights sobre os métodos impulsionados por micobactérias, mecanismos que promovem a formação de granuloma, o papel duplo da inflamação, os mecanismos de morte celular de macrófagos que favorecem a progressão da doença e o papel protetor do hospedeiro da autofagia. Como resultado, os modelos de Zebrafish são agora cada vez mais usados para explorar estratégias de terapia adjuvante da tuberculose com drogas dirigidas ao hospedeiro (MEIJER, 2016).

Observa-se também que o Zebrafish surgiu como um poderoso sistema de modelo de neurotoxicidade que pode acelerar a avaliação de perigos químicos e pode ser usado para extrapolar os efeitos neurotóxicos que os produtos químicos têm em humanos (D'AMORA; GIORDANI, 2018).

Seus embriões e larvas são convenientes para a triagem de alto rendimento de produtos químicos, devido ao seu tamanho pequeno, baixo custo, fácil manejo e transparência e possuir homólogos a outros vertebrados de ordem superior em termos de processos de sinalização molecular, composições genéticas e estruturas de tecidos / órgãos, bem como neurodesenvolvimento (D'AMORA; GIORDANI, 2018).

Um dos grandes sucessos do Zebrafish é quanto sua utilização em estudos de doenças neurodegenerativas, pois estruturalmente o sistema nervoso central do peixe é similar ao dos mamíferos, com similaridade nos sistemas, receptores e metabolismo de neurotransmissores.

Estudos demonstram que mutações levam ao aparecimento de comportamento antinatural do peixe semelhante ao humano em transtorno depressivo, restabelecendo seu comportamento natural após o tratamento com drogas antidepressivas, além de apresentar comportamento depressivo após estresse crônico (KALUEFF et al., 2014), sendo de grande relevância nos estudos de Doença de Parkinson (DP) (SOUZA et al., 2011).

Essa revisão de literatura tem como objetivo enfatizar a aceitabilidade do uso do Zebrafish como modelo comportamental e bioquímico de sucesso na ciência moderna, trazendo exemplos de estudos comprovados sobre o uso do mesmo nas mais variadas pesquisas nas áreas de neurociências, tais como estudos de depressão e ansiedade, estudos de doenças metabólicas, pesquisa de desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, dentre outros estudos.

## 2. METODOLOGIA

A metodologia utilizada foi uma revisão narrativa de caráter qualitativa conforme os critérios a seguir. Os artigos foram pesquisados nas bases da Pubmed, Portal Regional da BVS e Scielo, com os respectivos descritores: Parkinson Disease, etiology, Zebrafish, animal models e zebrafish in genetics, utilizando as seguintes *String* “AND”, o período selecionado foi de 2002 a 2021. Encontrou-se, 138 artigos os quais selecionados de acordo com os critérios da tabela 1, após a leitura dos títulos, resumos e palavras-chave, descartou-se 40 artigos por não se encaixarem nos critérios. Após a leitura completa dos 98 textos, 28 não se encaixavam no tema, ficando apenas 70. Por fim foi feito o estudo e resumo dos artigos encontrados e selecionados para a escrita do presente trabalho.

**Tabela 1** – Critério de inclusão e exclusão

### **Critérios de inclusão**

Serão incluídos trabalhos publicados e disponíveis integralmente nas bases de dados científicas.

Serão incluídos trabalhos publicados entre os anos de 2002 a 2021.

Serão incluídos trabalhos que abordem as patologias já estudadas em Zebrafish.

### **Critérios de exclusão**

Aqueles que não abordam no seu resumo, título ou palavras-chave o Zebrafish.

Utilizem outro animal que não seja o Zebrafish como modelo de estudo.

Fonte: Produzida pelo autor

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. ZEBRAFISH

O Zebrafish (*Danio rerio*) é um peixe de água doce, com hábitos noturnos, originário do Sul da Ásia e possui boa adaptação para a criação em cativeiro. Além de fácil manutenção, o Zebrafish possui uma alta taxa reprodutiva (média de 200-300 ovos a cada três dias), a fecundação é externa, e o embrião é transparente, com desenvolvimento rápido, sendo a evolução do estado ovo para o estado larval no intervalo de 48 a 72 horas, e em três meses torna-se adulto, com um ciclo médio de vida de até quatro anos (SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012).

A utilização do Zebrafish para estudos biomédicos remonta ao início do século XX na década de 30, onde foi estudado no desenvolvimento embrionário. Nos anos subsequentes, a pesquisa no campo da genética e o descobrimento de novas ferramentas para condução de anormalidade no organismo vivo, em órgãos, sistemas complexos, tipos de células específicas

e no processo de formação do sistema nervoso central, possibilitaram o entendimento das suas origens e funções a partir do modelo experimental (GRUNWALD; EISEN, 2002).

O Zebrafish atualmente vem sendo bastante utilizado como modelo genético favorável, isso se dá por seu genoma ser suficientemente parecido com o do ser humano associado com sua capacidade de rápida reprodução, o que possibilita uma grande taxa de testes com uma confiabilidade aceitável (D'AMORA; GIORDANI, 2018). Muitos estudos demonstram mudanças genéticas no peixe, conseguindo mutações para diversos fins, como a indução de patologias, principalmente em caráter neural (GAO et al., 2017; LEE et al., 2021).

Nas neuropatologias, essas induções na maioria das vezes são ocasionadas na mudança de um gene que afeta de alguma forma a produção de determinado neurotransmissor.

Essas induções também podem estar associadas a outros fenômenos, como a infiltração de células imunológicas e produção de citocinas no cérebro, gerando uma neuroinflamação, interferência em processos metabólicos ou até mesmo alterar a comunicação de nervos específicos, como o vago (GAO et al., 2017; LEE et al., 2021).

Desde a sua utilização por Straisinge, o animal ganha cada vez mais espaço como modelo para estudo biomédico. Na década de 1970 ele foi usado como modelo homocigoto diploide apenas com os cromossomos de origem materna para verificar mutações de caráter recessivo. Straisinge em 1972 produz embriões haploides através do método com utilização de radiação ultravioleta (GRUNWALD; EISEN, 2002).

O acúmulo de pesquisas utilizando o Zebrafish culminou com o início do ano 2001, a partir de estudos sobre o mapeamento genético. Naturalmente no ano 2013 foi concluído a sequenciamento genético, demonstrando possuir cerca de 70% de genes ortólogos aos contidos no genoma humano, esses genes são oriundos de uma especiação a partir de um ancestral comum entre as duas espécies. Sabendo que os fatores genéticos estão associados a doenças humanas, foram identificados 2.601 genes ortólogos aos genes ligados a enfermidades humanas, um percentual superior a 80% (HOWE et al., 2013).

É notória a importância do uso do Zebrafish como organismo experimental de pesquisas científicas, sendo utilizado em inúmeras áreas como neurofisiologia, pesquisas genéticas, moleculares e comportamental, além de aplicações na indústria farmacêutica, com objetivo de acelerar o processo de testes de novas drogas (FONSECA, 2018).

Em estudos comportamentais, por exemplo, o Zebrafish se destaca na análise da resposta de medo e condições psicopatológicas como a ansiedade, devido a sua conservação

genética e comportamentos característicos, sendo um modelo bem estabelecido em pesquisas neurocomportamentais (QUADROS et al., 2021).

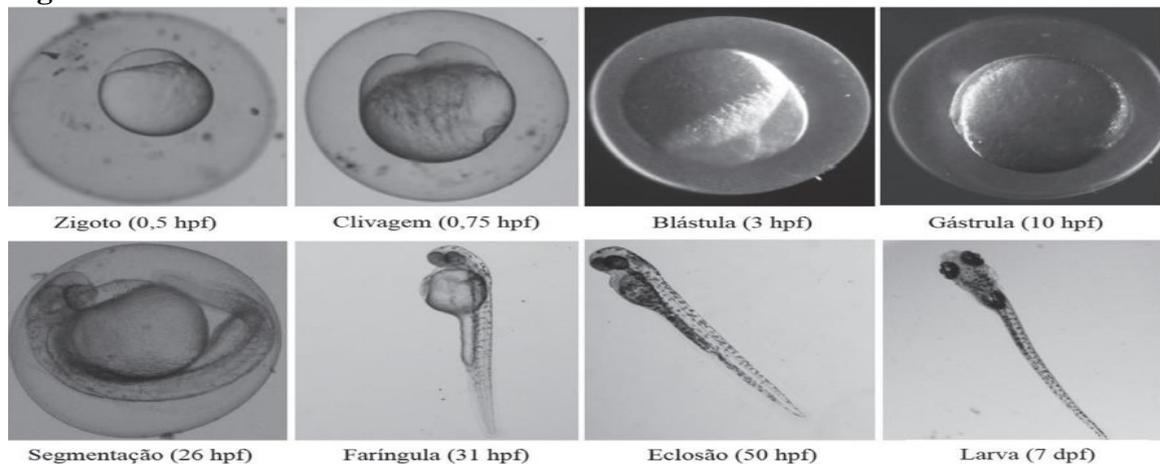
### 3.1.1. Manipulação genética

O zebrafish possui uma série de características que o torna um modelo frequentemente utilizado em pesquisas biológicas. O desenvolvimento rápido (passam por todas as fases embrionárias em 72 horas, partindo do estado ovo, para o estado larval), embriões transparentes e com desenvolvimento externo ao corpo materno, além de similaridade entre o sistema nervoso de humanos (SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012) (TAVARES; LOPES, 2013).

A fase embrionária do Zebrafish é descrita em sete estágios bem definidos: a fase de zigoto, clivagem, blástula, gástrula, segmentação, faríngula, e eclosão da larva. A compreensão dessas fases possibilita meios para vários estudos, como por exemplo, o desenvolvimento de patologias nos vertebrados através de ferramentas como bloqueio gênico e mutagênese (SIEBEL; BONAN, 2015).

Logo após a fecundação, dá se início ao processo de embriogênese, e segundo estudos, a primeira clivagem ocorre após, aproximadamente, 40 minutos (hpf). O desenvolvimento é rápido, e na fase faríngula, o Zebrafish já possui muitas estruturas formadas, como tubo neural, vesículas cefálicas, musculatura segmentar, estruturas sensoriais e coração. Ao final da embriogênese, ocorre a última etapa, que é a eclosão da larva onde nessa fase a morfologia está quase toda completa, vale lembrar que este animal possui transparência óptica em todas as fases embrionária até o peixe jovem (SIEBEL; BONAN, 2015).

**Figura 1** – Fases embrionárias do *D. rerio*.

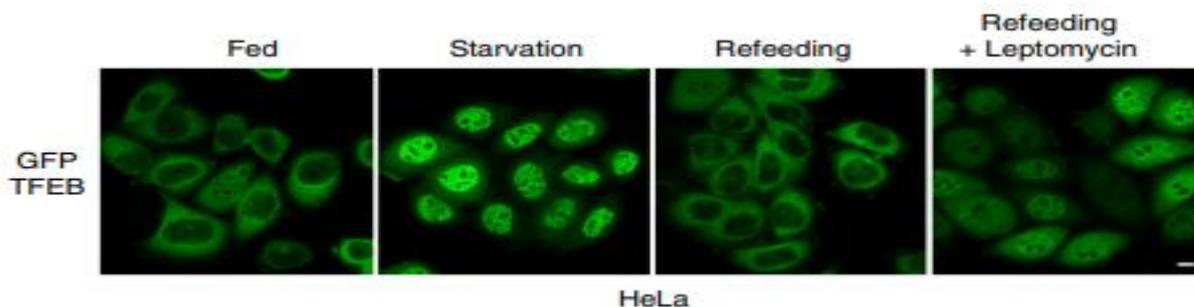


Fonte: Siebel e Bonan (2015, p.611).

Para estudar os efeitos da expressão genética no comportamento e lesão celular, os autores utilizam de técnicas de bloqueio ou diminuição da expressão de genes no início da embriogênese quando o peixe possui apenas uma célula. Uma das técnicas utilizada é o uso de morfolidos, o qual é injetado na fase embrionária do peixe de apenas uma célula, pois nesse estágio é garantido 100% de exposição ao bloqueador; esse agente bloqueia o splicing ou a tradução de RNA mensageiro (SASSEN; KÖSTER, 2015).

Outra técnica para monitorar a expressão de proteínas é o uso de proteína fluorescente verde; esta é incorporada ao promotor do gene que quando codificada gera um sinal compatível com a concentração de proteína na célula (SASSEN; KÖSTER, 2015). Esta técnica foi usada para identificar o movimento da proteína TFEB no citoplasma e núcleo em célula de HeLa (Figura 2) (NAPOLITANO et al., 2018).

**Figura 2** – Células de HeLa expressão *green fluorescent protein* (GFP) como marcados TFEB



Fonte: Figura adaptada do trabalho de Napolitano e colaboradores (2018, p.10).

### 3.1.2. Tirosina Hidroxilase

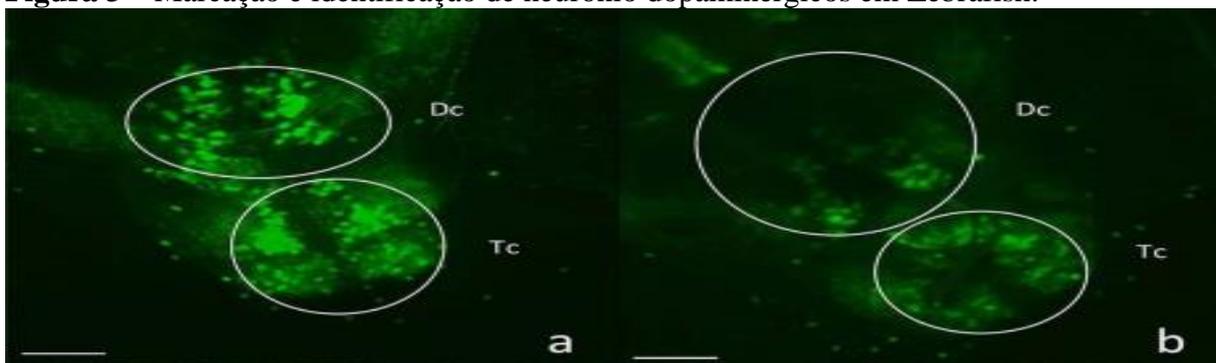
A tirosina hidroxilase (TH) é uma enzima utilizada frequentemente para identificar neurônios dopaminérgicos. Esta metaboliza o aminoácido tirosina para dar origem a dopamina. O Zebrafish possui a TH com similaridade de aproximadamente 60% com os mamíferos, sendo expressa em neurônios dopaminérgicos em áreas como o bulbo olfatório, telencéfalo, pretectum, núcleo pré-óptico, mesencéfalo e diencéfalo ventral, na qual possui diminuição dessas em modelos de estudo de bloqueio do gene Pink (REN et al., 2013).

O início da formação de dopamina nos neurônios pré-sinápticos é a hidroxilação do aminoácido tirosina originando a L-DOPA (3,4-dihidroxifenilalanina), a qual é retirada o grupo carbonílico pela enzima aminoácido aromático descarboxilase formado assim a dopamina, a qual será liberada na fenda sináptica. Após a transmissão sináptica a dopamina é

metabolizada pela MAO ou transportada novamente para o interior na célula pré-sináptica e assim ocorrerá o fim do estímulo (DAMASCENO, 2014).

Essa enzima é identificada através de imunorreação, onde ela é marcada por um anticorpo, o qual produz sinal após a conjugação com a molécula específica (figura 1), este tipo de técnica é utilizada após a preparação, através de método histológico, e foi usada para identificar lesões em neurônios dopaminérgicos expostos a toxina Ziram, que produz glomerados de  $\alpha$ -sinucleína (LULLA et al., 2016).

**Figura 3** – Marcação e identificação de neurônio dopaminérgicos em Zebrafish.



Dc (Diencéfalo), Tc (Telencéfalo); a) grupo controle; b) grupo teste.

Fonte: (Lulla et al., 2016, p. 9)

Outro fato relevante é observado no estudo de Wang e colaboradores (2019), onde foi avaliado o bloqueio do gene codificador do transportador de dopamina (DAT) e seus efeitos sobre o comportamento do Zebrafish, com a ausência do DAT houve a perda de neurônios dopaminérgicos e por consequência a diminuição do número de TH no mesencéfalo. Esta diminuição está de acordo com o trabalho de Meshalkina (2018), o qual observou o comportamento anormal quando houve a perda de neurônios no mesencéfalo, sendo, portanto, a TH, um bom marcador para avaliação de lesões e perda de células dopaminérgicas.

Um fato interessante no metabolismo de dopamina é o acúmulo de 3,4-dihidroxifenilacetaldeído (DOPAL). A Aldeído Desidrogenase (ALDH), enzima que converte os metabólitos da MAO em Ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC), impedindo o acúmulo de DOPAL e seus efeitos tóxicos sobre a célula. O Fungicida Benomyl é um agente tóxico que atua inibindo a ALDH por uma via indireta, no seu metabolismo e na decomposição é gerado Isocianato de Butila (BIC) e S-metil-N-butiltiocarbamato (MBT) agentes tóxicos, contribuindo para o aumento dos níveis de DOPAL, pois este pode formar radicais livres.

Outro mecanismo é a inibição dos microtúbulos, gerando defeitos no sistema de degradação ubiquitina-proteassoma, essa inibição parece ser causada pelo Benomyl e o metabólito Carbendazim. Esse composto parece não produzir agregados de  $\alpha$ -sinucleína,

porém causam diminuição de neurônios na Doença de Alzheimer (DA) (FITZMAURICE et al., 2013).

### **3.1.3. Agente tóxicos para produção do fenótipo da Doença de Parkinson**

A doença de Parkinson (DP) pode ter causas genéticas ou ambientais, aos quais também podem se relacionar. Em modelos de pesquisa de fatores ambientais, utilizando animais para o estudo, alguns agentes, já consagrados, são comumente utilizados no meio científico, tais como, o 6-hidroxidopamina, 1-metil-4-penil-1,2,3,6-tetrahidropiridina, MitoParaquat e ditiocarbamato (Ziram). O Zebrafish é sensível a estes compostos em modelos experimentais, produzindo sinais caraterísticos de desordem em neurônios dopaminérgicos, para sua ação tóxica, onde esses agentes interferem em maior ou menor grau com o complexo I e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (LULLA et al., 2016; ZENG; GENG; JIA, 2018).

Estas toxinas interagem com os componentes de produção de energia mitocondrial nos complexos mitocondriais, cuja ação causará perda na homeostase energética e desequilíbrios na produção de ROS levando em último estágio a lesão e morte celular (ZENG; GENG; JIA, 2018). A maior parte destes atua nos complexos mitocondriais, os quais podem ser divididos em cinco, e as suas funções consistem na criação de potencial eletroquímico e utilização da energia das reações de oxirredução para formação de adenosina trifosfato (ATP) (NELSON; COX, 2014).

Os complexos I e III são responsáveis, em maior grau, pela oxidação de moléculas de NADH +, H<sup>+</sup> e FADH<sub>2</sub>, cuja função é levar elétrons e prótons para estes, os quais serão transportados para o espaço intermembranar. O complexo IV também atua transportando prótons, porém, este é feito pela redução do oxigênio. Estes complexos criam assim uma diferença de potencial eletroquímico e força eletromotriz, que será usada para a geração de ATP (NELSON; COX, 2014).

A inibição dos complexos I e IV pelo 6-Hidroxidopamina 6-OHDA, um agente similar a dopamina onde há uma inserção de hidroxila na posição orto do anel benzênico, causa o fenótipo da doença de Parkinson (DP). Em animais como Zebrafish, no sistema nervoso central do animal este é levado ao citoplasma das células dopaminérgicas pelos transportadores de dopamina (DAT) onde desempenham sua ação inibindo o fluxo de prótons, potencial de membrana e geração de ROS, contudo este agente não possui a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) tendo que ser administrado diretamente no local de ação (ZENG; GENG; JIA, 2018).

A 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) é mais lipossolúvel que o 6-OHDA, possuindo a capacidade de atravessar a (BHE), este é então metabolizado pela monoamino oxidase (MAO), nas células da glia e transformado no radical MPP<sup>+</sup> (1-metil-4-fenilpiridínico), adentra as células dopaminérgicas pelo DAT. No interior celular, este se acumula na mitocôndria, causando danos pela geração de ROS, como também a inativação de NADH dehidrogenase e complexo I (ZENG; GENG; JIA, 2018).

Os mamíferos possuem duas isoformas da monoamino oxidase: a MAO-A e MAO-B, as quais ficam aderidas a membrana pelo lado de fora. Elas são responsáveis pela degradação de neurotransmissores monoaminérgicos, tais como, dopamina, serotonina, norepinefrina, tiramina e triptamina, ficando a cargo da renovação e do fim da transmissão dessas moléculas (FOLLMER; NETTO, 2013). O Zebrafish, diferentemente dos mamíferos, possui apenas uma MAO, esta enzima tem características semelhantes à MAO-A vista em mamíferos, pois parece ser uma enzima conservada na linha evolutiva, visto que os Teleósteos possuem ancestral comum com os mamíferos (ARSLAN; EDMONDSON, 2010).

A exposição do zebrafish ao MPTP reduziu o comportamento natatório, em relação à distância, velocidade e tempo de atividade, houve também diminuição de neurônios DP quantificados pela TH, em contraste, ocorreu um aumento na expressão de Parkin, PINK1 de sinucleína, os quais segundo o autor estão na formação de corpos de Lewy (HU et al., 2017).

A degradação de  $\alpha$ -sinucleína pode estar relacionado a degradação por meio de lisossomos. Outros componentes dos corpos de Lewy parecem ser a PINK1 e o Parkin. Estas duas possuem a função de remoção de mitocôndrias defeituosas, onde a Parkin e E3 ubiquitina ligase e a PINK1 é uma Quinase de direcionamento mitocondrial. O Gene 5 Relacionado a Autofagia (ATG5; Autophagy-Related Gene 5), participa de forma essencial na formação de vacúolos de autofágicos, atuando com a ATG12 (HU et al., 2017).

A PINK1 e o Parkin possuem a função de remoção das mitocôndrias defeituosas, onde a Parkin é E3 ubiquitina ligase e a PINK1 é uma Quinase de direcionamento mitocondrial. O Gene 5 Relacionado a Autofagia (ATG5; Autophagy-Related Gene 5), participa de forma essencial na formação de vacúolos de autofágicos, atuando com a ATG12 (HU et al., 2017).

Outro agente que induz o fenótipo parkinsoniano é MitoParaquat, que assim como outros agentes provocam a formação de radicais livres por interferirem no complexo I mitocondrial. Em teste comportamental, a fim de avaliar se houve lesão neural em larvas de zebrafish, foi notadamente diminuída as respostas motoras larvais, como os reflexos

sensoriais motores, transparecendo na diminuição do tempo de respostas quando estas eram estimuladas por toque, bem como com a redução da distância percorrida.

Os autores também quantificaram o nível energético e função do coração do peixe, porém não houve alterações nestes, chegando à conclusão de que as reduções do movimento não estão ligadas a toxicidade do composto aos músculos e miocárdio (PINTO et al., 2019).

Contudo ao avaliar o nível de (TH) houve decréscimo desta, o que indica lesão neuronal, mais precisamente em neurônios DP, nas regiões do pretectum e diencéfalo medial.

Os autores trataram o peixe com um antioxidante N-acetil-L-cisteína (NAC), e foi possível observar a melhora no comportamento natatório e distância percorrida, além de melhorar o nível de TH no pretectum, porém não houve melhora no diencéfalo medial, proteína presente nos microtúbulos, estes efeitos foram atribuídos ao mecanismo de ação da NAC antioxidante, pois o MitoParaquat produz um aumento nível de ROS (PINTO et al., 2019).

Houve uma diminuição de TH na densidade de células no diencéfalo e telencéfalo quando expostos ao fungicida ditiocarbamato, Ziram, bem como um comportamento semelhante ao Haloperidol, antagonista de dopamina, além disso, não mostrou diminuição de neurônios periféricos, sendo específico nas células do sistema nervoso central, o qual não apresentou indícios de lesão aos neurônios noradrenérgicos e serotoninérgicos, sendo mais específicos para neurônios dopaminérgicos, além da formação de agregados proteicos de  $\alpha$ -sinucleína (LULLA et al., 2016).

### **3.2. DOENÇA DE PARKINSON:**

Etiologicamente a doença de Parkinson é tida como idiopática, embora estudos acreditem que tal doença seja resultado de um conjunto de fatores de ordem genética, toxina ambiental, estresse oxidativo, anormalidades na mitocôndria ou alterações do envelhecimento. Atualmente, considera-se como fator etiopatogênico mais relevante a causa multifatorial (SOUZA et al., 2011).

Entretanto, fisiologicamente a doença de Parkinson é considerada como uma afecção neurodegenerativa, progressiva ocasionada por disfunções monoaminérgicas múltiplas que incluem déficits dos sistemas dopaminérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos (SOUZA et al., 2011).

Essa patologia é a segunda enfermidade neurodegenerativa, com maior incidência, de desordem de movimento e que acomete o sistema nervoso central. Caracteriza-se pela redução

da influência dopaminérgica nigroestriatal e cortical, como prevalência de 550 casos por 100.000 habitantes entre a faixa etária de 70 anos (VALCARENGHI et al., 2018).

A doença é uma afecção do sistema nervoso central que se manifesta de forma crônica e progressiva, como consequência da morte dos neurônios produtores de dopamina da substância negra (SOUZA, et al., 2011).

A diminuição da dopamina produz um conjunto de sintomas caracterizados principalmente por distúrbios motores e as primeiras manifestações da doença costumam ser insidiosas e dificilmente o portador identifica o momento da manifestação da doença, sendo os familiares ou pessoas próximas que percebem as alterações sutis (GONÇALVES; ALVAREZ; ARRUDA, 2007).

No que se refere ao tratamento, ainda não existem medicamentos que são capazes de curar ou evitar a doença. Os fármacos utilizados no tratamento da doença de Parkinson visam controlar os sintomas objetivando manter o portador com autonomia, independência funcional e equilíbrio psicológico, por meio da reposição de dopamina estriatal (GONÇALVES; ALVAREZ; ARRUDA, 2007).

Esta doença, assim como outras doenças neurodegenerativas, atinge em maior número pessoas idosas acima de 65 anos, sendo que, há uma proporção de até 2% de novos diagnósticos em todo mundo, no Brasil, essa proporção cresce cerca de 3% (PETERNELLA; MARCON, 2012).

As principais características da doença de Parkinson são os sintomas motores, tais como, a discinesia a qual é a perda da coordenação motora fina, fraqueza muscular ou bradicinesia. Estes sintomas são oriundos da perda de neurônios dopaminérgicos na região dos núcleos da base, os quais são responsáveis pela coordenação motora fina, bem como o controle do início e término do movimento (PETERNELLA; MARCON, 2012).

A região nos núcleos da base mais afetados pela doença é a substância negra, onde há grande quantidade de neurônios dopaminérgicos, chamada de parte compacta. A diminuição de dopamina causa a super inibição da via estriatal, pois este neurotransmissor estimula a liberação do glutamato, principal neurotransmissor excitatório de SNC, assim como a transmissão por GABA, principal neurotransmissor inibitório, e quando inalterada esse sistema pode ser considerado similares nos vertebrados, porém em regiões distintas do SNC (GOBBI et al., 2006) (RINK; WULLIMANN, 2001).

O zebrafish possui alguns genes que estão relacionados com a DP, tais como dj-1, Pakin, pirk1 e irrk-2. O Parkin codifica uma proteína relacionada a proteossomo, a ubiquitina

E3 ligase, sendo então parte do sistema de degradação proteica. Quando há uma diminuição da expressão deste gene, ocorre um aumento dos danos e morte celular no diencéfalo anterior.

O gene *pink1* parece estar envolvido na proteção contra processo de estresse mitocondrial, o qual transcreve uma proteína que possui um domínio na mitocôndria, quando este gene é silenciado causa deformações nas projeções e padrões dos neurônios no diencéfalo anterior, além de anormalidade no comportamento e atividade do complexo I mitocondrial (XI; NOBLE; EKKER, 2011).

### 3.2.1. $\alpha$ -Sinucleína

A  $\alpha$ -sinucleína é uma proteína codificada pelo gene SNCA, sendo a  $\beta$ -sinucleína e  $\gamma$ -sinucleína outros membros dessa família. Esta proteína presente em neurônios pré-sinápticos está relacionada com a perda de atividade de neurônios DP e assim a atividade motora, existem evidências de que as sinucleínas estão relacionadas com a atividade das proteínas SNAPE, supressão da apoptose, regulação da síntese de dopamina, dentre outros (EMAMZADEH, 2016).

A proteína SNARE participa da liberação de neurotransmissores na fenda sináptica, essa proteína interage com as vesículas dos neurônios pré-sinápticos e a membrana plasmática auxiliando a aproximação e fusão das vesículas com a membrana, e assim liberação das moléculas. A  $\alpha$ -sinucleína, através da estabilização pela atividade de chaperona, são associadas as Proteínas SNARE, onde as estruturas mal formadas são corrigidas impedindo sua degradação (NELSON; COX, 2014) (EMAMZADEH, 2016).

Na apoptose essas proteínas impedem a liberação e ação de citocromo c oxidase e Proteína Quinase C (PKC) diminuindo a cascata de eventos, desativando o fator nuclear  $\kappa$ B, que culminará com a diminuição de uma proteína PKC $\delta$  (NELSON; COX, 2014) (EMAMZADEH, 2016). Essa proteína é expressa em três isoformas PKC $\alpha$ , PKC $\beta$  e PKC $\delta$ , cujo desequilíbrio com o aumento de PKC $\delta$  induz a apoptose (MORAIS, 2016).

A forma de atuação na síntese de dopamina é através da ativação da proteína fosfatase A2 onde esta desativa a tirosina quinase através da retirada de grupamento fosfato de aminoácido serina, que culmina na desativação da enzima, portanto a  $\alpha$ -sinucleína atua como um modulador, diminuindo a concentração/produção da dopamina (EMAMZADEH, 2016).

O zebrafish não expressa a  $\alpha$ -sinucleína, porém expressa a  $\beta$ -sinucleína e  $\gamma$ 1-sinucleína, os quais estão presentes expressivamente no SNC, bem como, em células DA. Contudo essas mostram apenas uma divergência na C-terminal à encontrada em humano, o

gene *sncg1* e *sncg2*, sendo que este ortólogo codifica  $\gamma$ -sinucleína, e parece ter uma relação evolutiva com o encontrado em seres humanos, no Zebrafish os genes *sncb* e *sncg1* estão expresso em maior quantidade, sendo mais presente no bulbo olfatório e telencéfalo dorsal, medula oblongata e habenula, respectivamente, e expressas em grupos celulares diferentes (MILANESE et al., 2012).

O Zebrafish possui uma proteína de grande similaridade com a  $\alpha$ -sinucleína, a  $\gamma$ 1-sinucleína, a qual mostrou possuir formação de agregador similares ao  $\alpha$ -sinucleína, sendo esta uma proteína amiloidogênica formando fibras e rica em folha- $\beta$ , de forma tóxica, onde esta pode impedir e prejudicar a degradação proteossomal. Foi analisado o local de formação dessas fibras, o qual se observou um maior grau de agregação no citoplasma, quando foram testados em ensaios, tendo uma formação aparentemente como em humanos (LULLA et al., 2016).

### 3.2.2. Dj-1

Em modelo de estudo, quando o Zebrafish foi exposto ao 6-OHDA, neuroindutor de lesões em células dopaminérgicas, houve diminuição do comportamento natatório larval. Porém quando o Zebrafish foi exposto ao um melhorador, 11-dehydrosinulariolide, da expressão de DJ-1 houve melhora seu comportamento natatório. Quando ratos foram expostos a 6-OHDA e 11-dehydrosinulariolide se mostrou com melhores resultados na expressão de tirosina hidroxilase presentes em neurônios DA (FENG, 2016).

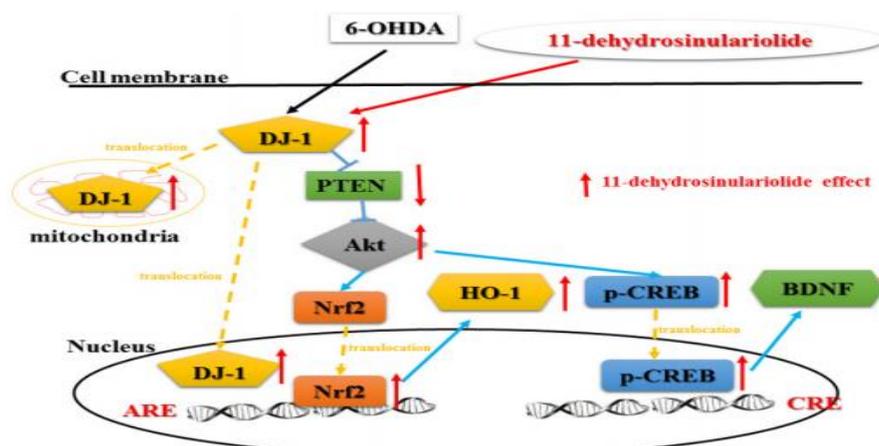
O gene *dj-1* faz parte da proteção mitocondrial ao estresse oxidativo mostrando sensibilidade a radicais livres, tais como o peróxido de hidrogênio, e quando há diminuição da atividade proteossomal (XI; NOBLE; EKKER, 2011). A proteína DJ-1 parece desenhar um papel importante na resposta a estresse oxidativo prevenindo danos às estruturas celulares. O mecanismo de ação envolve a proteína Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related fator*), o qual é aumentado em transcrição e estabilizado pelo DJ-1, essa estabilização impede a interação e degradação pela Keap1 (*Kelch-like ECH-associating protein 1*) (FENG, 2016) (FRØYSET et al., 2018).

O fim dos eventos é a transcrição de proteína envolvida na defesa contra ROS, como a Heme Oxigenase-1 (OH-1) e GST, além de outras proteínas antioxidantes e BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Fator*) Figura 4, diminuindo a o estresse produzido por radicais livres.

DJ-1 em resposta a estresse oxidativo, é oxidado seus resíduos de cisteína que é transferido para a mitocôndria é regula o metabolismo energético, sobre condições de estresse

aumenta a transcrição de gene como a Sarcosina desidrogenase que transforma a sarcosine em glicina. Por fim, a regulação de fatores pró e anti-inflamatórios HMGB1 (High-mobility group box 1) e Ciclofilina A (Peptidylprolyl cis-trans isomerase) (FRØYSET et al., 2018) (FENG, 2016).

**Figura 4** – Mecanismo de ação de estimulação do *Panaxatriol saponins*.



Fonte: Zhang e colaboradores (2017, p. 12).

O mecanismo de aumento da expressão de agentes antioxidantes, HO-1, há um aumento de DJ-1, seguindo da diminuição de PTEN, aumento de ATK (proteín kinase B), a qual induz o aumento de Nrf2 no núcleo, assim como o DJ-1, e pôr fim a transcrição de HO-1. Além disso, este previne a morte celular programada induzida pelo TNF-  $\alpha$  (Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ ), o qual, em condições de estresse oxidativo, sua concentração no núcleo aumenta, diminuindo e prevenindo a morte celular, porém sua maior atuação parece ser na mitocôndria (FENG, 2016).

A ativação de ATK é dependente de PI3K (fosfoinosítide 3-quinase), a qual quando recebe um estímulo produz um segundo mensageiro o fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato que ativa a ATK através de fosforilação, esta enzima parece ser ativada também pelo mTOR, sendo este caminho o de proliferação e crescimento celular. A forma de regulação negativa do caminho PI3K/ATK/mTOR, pode ser inibido pela retirada de grupos fosfatos de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (DUARTE, 2018) (ZHANG et al., 2017).

Outro fato interessante é que a mitocondrial lesionada libera ROS, os quais diminuem o pH intracelular. Além de seus efeitos deletérios, essa diminuição de pH causa o maior recrutamento de  $\alpha$ -sinucleína para a membrana mitocondrial não sabendo ao certo qual sua função (COLE et al., 2008). Outro estudo demonstra que a alta expressão dessa proteína

provoca desordem mitocondrial, cuja quais, diminuem a resistência a baixa concentrações de agente indutores de lesão dopaminérgicos (SHAVALI et al., 2008).

Porém no Zebrafish o *Panaxatriol saponins* foi capaz de diminuir o efeito de 6-OHDA sobre as células dopaminérgicas, onde houve uma melhora nos marcadores dessas células como a tirosina hidroxilase pelo aumento de DJ-1, e comportamento natatório do animal; porém em altas doses foi ineficiente em diminuir a toxicidade do 6-OHDA.

Esses resultados são semelhantes a outras toxinas, as quais em altas doses provocam danos celulares, porém baixas doses melhoram a resposta celular, esse fenômeno é conhecido como hormesis do inglês que indica compostos que possuem efeitos farmacológicos a baixas dose e efeito tóxicos a dose usuais (ZHANG et al., 2017).

### **3.2.3. Parkin**

A Parkin é uma ubiquinona E3 ligase, essa proteína é fosforilada pela enzima PINK1, a qual fica aderida a membrana mitocondrial, essa fosforilação ativa a proteína Parkin a qual é direcionada para a mitocôndria, local onde exerce a função de direcionamento para degradação. Essa enzima parece ser recrutada quando há depolarização da membrana mitocondrial, indicando lesão à organela e assim motivo para degradação/ renovação (OZAWA et al., 2013).

A sua função é dependente da modificação do resíduo de cisteína na posição 323 do sítio de E3 ligase, essa modificação ocorre por meio da nitrosilação possivelmente pelo Óxido Nítrico e presença de agentes estressores ou estresse intracelular, sendo este composto presente em doenças as quais atingem o SNC, bem como na ação tóxica de agentes inibidores do complexo I (OZAWA et al., 2013).

Outro função da Parkin de forma independente da atividade do sítio E3 ligase é a diminuição da expressão gênica de proteína relacionada à apoptose a p53, essa proteína aumenta a expressão de Bax e juntas induzem a liberação de citocromo C da mitocôndria através da abertura de poro na membrana e ativação de caspases, desse modo induzindo a morte celular (DA COSTA et al., 2009).

Essa proteína está predominantemente no citosol e no núcleo celular (DA COSTA et al., 2009). Devido suas funções no processo de lesão mitocondrial esta é levada a matrix mitocondrial e por consequência há diminuição desta no citoplasma e núcleo acarretando na expressão de p53 aumentada (DA COSTA et al., 2009).

### 3.2.4. Pink1

A similaridade de função e composição da PINK1 (*PTEN-induced putative kinase 1*) do Zebrafish e humanos é superior a 60%, quando o peixe não possuir o gene de PINK1, este não mostra comportamento diferente, porém quando expostos a agentes estressores mostrado padrão de resposta deficiente em relação aos animais com a expressão desse gene, essa deficiência é menos acentuada em animais com expressão parcial, ficando claro que este participa da defesa com estresse (ZHANG et al., 2017).

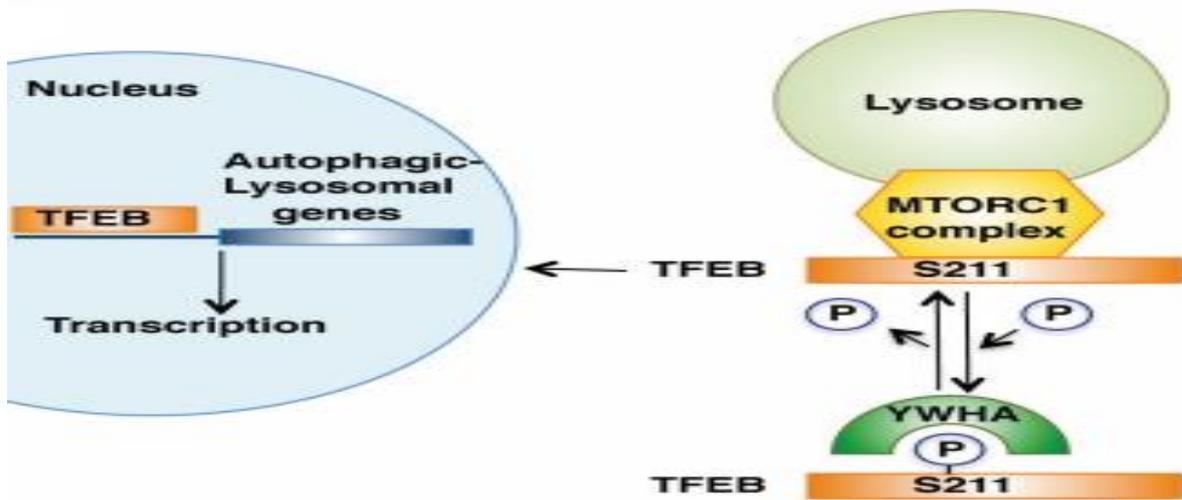
Quando exposto a um agente inibidor do complexo I mitocondrial, os animais com a deficiência genética têm padrões de lesão mitocondrial, não apresentado em animais com a expressão normal, há perda da capacidade energética, diminuição de ATP, diminuição do consumo de oxigênio, assim como perda do potencial de membrana e inibição do complexo I, vale ressaltar a importância de Pink1 na presença de estresse, pois produção de ROS não mostra diferença entre os grupos no estudo. Ressalta os autores que é interessante notar que houve redução dos neurônios no mesencéfalo, os quais não foram recuperados após a retirada no agente estressor (ZHANG et al., 2017).

PINK1 juntamente com a Parkin estão relacionadas a autofagia de mitocôndrias defeituosas, bem como PINK1 está relacionada a mal funcionamento da cadeia respiratória quando há um dano mitocondrial que impede sua função normal, esta produz um mensageiro direcionada ao núcleo, PINK1 e Parkin parecem ser de vital importância para a entrada e direcionamento, onde haverá a transcrição do Fator EB (*transcription factor EB (TFEB)*), tal fator melhora a autofagia e turnover mitocondrial (ZHANG et al., 2017).

Quando há danos na mitocôndria esta libera a TFEB que estimula o processo de autofagia, outro elemento envolvido é o Parkin que é recrutada para mitocondria danificada associado ao PINK1. No processo, a inibição de mTOR (mammalian target of rapamycin) melhora a translocação de TFEB para o núcleo, este sinal é liberado quando há a perda da polarização da membrana, no núcleo ele ativa o gene SQSTM1, p63, e assim há a ativação da via que resulta em poliotubiquitinação e degradação (ZHANG et al., 2017).

A proteína mTOR, um regulador negativo da autofagia, é responsável por manter o TFEB no citosol unida a YWHA formando um complexo citoplasmático, figura 5, esta união é mantida pela mTOR ativa, qual mantém fosforilada o sítio S211 da TFEB, sendo por maior pela a união com a YWHA, cujo a diminuição da atividade mTOR ocorre a retirada do grupo fosfato e liberação do complexo e translocação para o núcleo (MARTINA et al., 2012) (NAPOLITANO et al., 2018).

**Figura 5** – Mecanismo de liberação e translocação de TFEB para o núcleo.



Fonte: Martina e colaboradores (2012, p.11).

### 3.2.5. Irrk2

O LRRK2 é uma quinase de repetição rica em leucina (*leucine-rich repeat kinase 2*), é uma enzima que faz parte da família de proteínas ROCO, tendo um domínio de função Ras, e complexo Roc, sua função está envolvida com a clivagem de moléculas de GTP, pois esta possui um domínio catalítico de ROC-GTPase, assim como atividade de quinase, essa proteína está relacionado ao aparecimento de doença de Parkinson de origem familiar ou de início precoce, além de cerca de 3% nos casos esporádicos (LI; TAN; YU, 2014).

O desvio de função normal está relacionando à DP, possivelmente por desordem nos sistemas de degradação levando a agregação de proteínas como a  $\alpha$ -sinucleína e proteína Tau, essas proteínas que expressam em grande quantidade contribuem para a formação de agregados de LRRK2, além de aumento de proteínas poli-ubiquitinadas/agregação por mecanismo pouco claro (ALESSI; SAMMLER, 2018).

Além desses efeitos essa proteína causa a diminuição da degradação proteica levando ao aumento no nível de proteínas, essa interferência é devida sua ação sobre o sistema proteossomal, porém esta não interfere no proteossomo, assim como em suas atividades catalíticas. Este conjunto de desordens culmina no aumento de proteínas apoptóticas e assim morte celular (ALESSI; SAMMLER, 2018).

As chaperonas auxiliam no enovelamento destas proteínas evitando que estas sejam mal enoveladas e percam sua função, após a transcrição proteica as proteínas são dobradas em suas estruturas secundárias e terciárias para exercer sua função celular. Quando há aumento de uma chaperona HSP70 ocorre diminuição dos níveis proteicos. (NISHIMURA, 2017).

Essa proteína quando não expressa no Zebrafish não mostra diminuição nos neurônios dopaminérgicos na sua fase embrionária, assim como padrão de comportamento normal, porém que este gene é super expresso, causa diminuição na sobrevivência de embriões, outras alterações com o aumento de apoptose, diminuição neuronal, desmielinização e disfunção morfológicas das células gliais foram observados em animais com a expressão bloqueada (SUZZI et al., 2017) (REN et al., 2011).

### **3.3 PROCESSO DEGENERATIVO (DOENÇA DE ALZHEIMER)**

A doença de Alzheimer (DA), descoberta pelo neuropatologista Alois Alzheimer em 1907, é uma afecção neurodegenerativa progressiva e irreversível e com maior incidência em idosos (MU; GAGE, 2011). Segundo Machado (2019), pode-se chegar a atingir mais de 81 milhões de pessoas em 2040.

Um de seus sintomas mais comuns é a perda ou declínio de memória, conseqüentemente a isso se tem uma dificuldade de aprender algo novo. É um sintoma insidioso e lentamente progressivo com o passar do tempo. Outros distúrbios cognitivos podem vir a ser afetadas simultaneamente à perda de memória ou subsequente a ela, como a deficiência de atenção, linguagem e movimentos executivos (GEMELLI et al., 2013).

Dentre os fatores de risco da DA, o mais relevante é a idade, depois dos 65 anos a cada aproximadamente 5 anos esse risco é dobrado. Estima-se que depois dos 85 anos há cerca de 50% de chance de se contrair a DA. Não há uma comprovação científica de que as mulheres são mais susceptíveis a doença, mas é visível que 2/3 das pessoas com DA são mulheres.

Outro fator de risco é o comprometimento cognitivo leve, que leva a uma pequena chance anual de se desenvolver uma DA, também há o fator genético, que influencia diretamente em um início precoce ou tardio e a intensidade de desenvolvimento da doença. Esta doença pode ser dividida em quatro fases evolutivas: inicial, moderada, grave e terminal, sendo crescente o grau da gravidade e de sintomas (ILHA, 2014; OBOUDIYAT et al., 2013).

Todos esses sintomas ocorrem em virtude de um número crescente de células nervosas danificadas que se deterioram e morrem, levando a perda de tecido de todo o cérebro e conseqüentemente seu encolhimento com o passar do tempo, afetando todas as suas funções.

No cérebro de um adulto saudável há cerca de 100 bilhões de neurônios conectados a 100 trilhões de pontos, por meio da conexão conhecida como sinapse (JACK et al., 2019). É através dessas fendas sinápticas que flui pequenos pulsos químicos liberados por um neurônio e absorvido pelas células receptoras ou pré-sinápticas movendo constantemente pelos

circuitos do cérebro para que base celular de memórias, pensamentos e habilidades sejam criados (RANG; DALE 2016).

Segundo Lykestos et al., 2011, pessoas com DA apresentam uma maior tendência a desenvolverem sintomas neuropsiquiátricos. Nos estágios iniciais da doença é comum o desenvolvimento de depressão e apatia, sendo esta persistente durante todo o processo patológico; com o desenvolver crônico da doença é possível se observar de forma mais frequente alucinações e agressões.

Também é possível que a DA também apresente psicose, hiperatividade, distúrbios do sono e outros sintomas neuropsiquiátricos. Pessoas com DA podem ter uma predisposição para adquirir algum sintoma NPS em específico, isso pode ocorrer tanto genética, estilo de vida e comorbidades ou podem ocorrer por sistemas de neurotransmissores ou atrofia regional, mas esse processo não é entendido de forma eficiente.

Na DA, as informações transferidas nas sinapses começam a falhar devido a redução do número de sinapses e, conseqüentemente, as células morrem (MASLOW, 2008). Geralmente a doença dura por volta de 8 a 10 anos, desde os primeiros sintomas até a morte. Diante de suas alterações bioquímicas, as áreas mais afetadas do cérebro são o hipocampo e o córtex cerebral, no qual estão associados as funções mentais como reconhecimento de estímulos sensoriais, memória e pensamento abstrato (FALCO et al., 2016).

Quando a DA encontra-se já em estado avançado, há o encolhimento dramático da perda de células. Esse dano cerebral catastrófico resultante, ainda não é entendido pelos cientistas. Segundo uma teoria líder conhecida como hipótese amiloide, uma das maiores evidências (67%) é uma proteína conhecida como beta-amiloide, cujo, fatores ainda não identificados estimulam a sua superprodução ou o cérebro perde a capacidade de descartá-lo.

O excesso decorrente de beta-amiloides acumula-se em placas neuronais e gera congestionamentos nas sinapses, bloqueando o fluxo de informações e resultando numa cascata de eventos prejudiciais (MASLOW, 2008). Isso causa a destruição de neurônios ao gerar um processo inflamatório crônico nas regiões afetadas, alterando a regulação de cálcio, fundamental para a condução dos estímulos nervosos, além de aumentar a produção de radicais livres, sendo estes altamente tóxicos para as células nervosas (PETRONILHO; PINTO; VILLAR, 2011).

Outra proteína, chamada Tau, também mostra está relacionada a causa da DA. Ela forma emaranhados neurofibrilares ao torcer-se em fios dentro de neurônios bloqueando o seu sistema de transporte (FALCO et al., 2016). A neurotoxicidade do peptídeo beta amiloide,

assim como o acúmulo da proteína tau, são estimulados pelo estresse oxidativo. Na DA esse estresse é decorrente dos níveis anormais de proteínas oxidadas, produtos finais de glicosilação avançada e peroxidação lipídica, modificação do DNA nuclear e mitocondrial, sendo estes a força motriz de alterações citoesqueléticas. Todos esses conjuntos de fatores associados desempenham um papel fundamental na disfunção celular irreversível que por fim, leva à morte neuronal (AGHAJANOV et al., 2019).

Devido esta degradação, irá ter a diminuição da atividade dos neurônios colinérgicos. Eventualmente, tem-se a deficiência de neurotransmissores que são responsáveis pela transmissão dos estímulos nervosos passados de um neurônio a outro, sendo o principal a acetilcolina (ACh) que está diretamente envolvida nos processos motores, cognitivos e de memória.

Além da redução, a ACh ainda sofre degradação na fenda sináptica para que o impulso nervoso transmitido seja interrompido após a sinapse, evitando o excesso de transmissão nervosa no neurônio pós-sináptico, no qual, pode levar a uma disfunção no organismo. Isso ocorre por ação de uma enzima conhecida como acetilcolinesterase (AChE). Apesar da DA não ter cura, uma das medidas adotadas para diminuição dos sintomas que tem sido bastante eficaz no tratamento, é a utilização de fármacos que inibem a AChE, evitando desta forma, a degradação da ACh (PETRONILHO; PINTO; VILLAR, 2011).

Apesar do avanço no entendimento das alterações que ocorrem na progressão da DA, ainda não há tratamentos eficazes, mas apenas estratégias paliativas para melhoramento de alguns sintomas. Por não agir nos mecanismos centrais da doença, a efetividade dessas estratégias torna-se reduzidas e temporariamente limitadas (NERY et al., 2014).

Atualmente apenas alguns fármacos inibidores da AChE, foram aprovados para o tratamento da DA pela agência Food and Drug Administration (FDA) dos EUA: donepezil Aricept, galantamina, Reminyl, rivastigmina, e tacrina, THA, Cognex (PETRONILHO; PINTO; VILLAR, 2011). Entretanto, ainda tem a necessidade da descoberta de novos fármacos devido estes citados apresentarem efeitos colaterais, o que pode levar pacientes a descontinuarem o tratamento (PETRONILHO; PINTO; VILLAR, 2011).

Para o desenvolvimento de fármacos de maneira racional é crucial o entendimento de como ocorre os mecanismos moleculares envolvidos nos processos crônicos de neurodegeneração. Diante da complexidade estrutural, celular e molecular do sistema nervoso, aliado a falta de um modelo experimental que possa relacionar as alterações

moleculares e comportamentais típicas destas patologias, há um obstáculo para tal entendimento (NERY et al., 2014).

Mesmo que exista uma variedade de modelos animais para pesquisa, um novo vertebrado, conhecido popularmente como Zebrafish, vem emergindo com êxito nesse contexto, por meio do desenvolvimento recente de variadas linhagens transgênicas para o estudo das disfunções celulares e moleculares que mimetizam as causas da doença (NERY et al., 2014).

O cérebro do Zebrafish se comparado com o do ser humano, demonstra uma alta semelhança anatômica, nos processos neuroquímicos e na parte básica de organização. Ele também apresenta em seu SNC as principais neuro-células presentes em mamíferos, como as micróglia, oligodendrócitos e a mielina. Dito isto, levando em conta as características semelhantes do funcionamento cerebral do zebrafish com o ser humano, o torna um modelo animal de grande valor para estudos de doenças neurais, como o Alzheimer (SANTANA; RICO; BURGOS, 2012).

#### **4. CONCLUSÃO**

Perante os achados pode se concluir que a utilização do zebrafish como modelo animal para o estudo de diversas doenças é extremamente eficaz, pois sua reprodução e maturação rápida torna possível a execução de vários testes em uma maior quantidade, agilizando o tempo de pesquisa. Seu baixo custo de manutenção, permite manter uma grande quantidade de animais ao mesmo tempo, sem prejudicar tanto o orçamento de pesquisa.

Por ter 70% do genoma do ser humano, além de vários processos fisiológicos e neuronais bastante semelhantes, aumenta consideravelmente a confiabilidade dos estudos envolvendo o Zebrafish. A manipulação genética do zebrafish, que vem cada vez mais sendo utilizada, através de genes envolvidos nas doenças de origem familiar, bem como, através da exposição à toxinas que causam lesões em neurônios dopaminérgicos; possibilitando a indução de doenças através de processos fisiológicos mais específicos, facilitando muito o estudo dessas patologias.

Esta revisão eleva o nível de confiabilidade do Zebrafish como modelo animal, possibilitando que pesquisadores entendam sua importância em ser utilizado em pesquisas científicas. Assim que instaurado sua relevância no mundo da pesquisa, é possível que o zebra

em alguns anos se torne o modelo animal mais utilizado, principalmente para o estudo de doenças Neurodegenerativas.

## 5. REFERÊNCIAS:

AGHAJANOV, Michail et al.,, Alzheimer'sdisease-likepathology-triggeredoxidative stress, alterations in monoamineslevels, andstructuraldamageoflocuscoeruleusneurons are partiallyrecoveredby a mixofproteoglycansofembryonicgenesis. **Neurochemistry International**, [s.l.], v. 131, p.104531-222222, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2019.104531>.

ALESSI, D. R. ; SAMMLER, E. LRRK2 quinase na doença de Parkinson. **Ciência** , v. 360, n. 6384, pág. 36-37, 2018.

ARSLAN, B. K.; EDMONDSON, D. E. Expression of zebrafish (*Danio rerio*) monoamine oxidase (MAO) in *Pichia pastoris*: purification and comparison with human MAO A and MAO B. **Protein Expr Purif.** 2010 Apr;70(2):290-7. doi: 10.1016/j.pep.2010.01.005. Epub 2010 Jan 14. PMID: 20079438; PMCID: PMC2829425.

COLE, P. M. LUBY, J.; SULLIVAN, M. W. Emoções e o desenvolvimento da depressão infantil: Bridging the gap. **Perspectivas de desenvolvimento infantil** , v. 2, n. 3, pág. 141-148, 2008.

D'AMORA, M.; GIORDANI, S. A utilidade do Zebrafish como modelo para a triagem de neurotoxicidade no desenvolvimento. **Fronteiras em neurociência**, v. 12, p. 976, 2018.

DA COSTA, C. A. et al.,, Transcriptional repression of p53 by parkin and impairment by mutations associated with autosomal recessive juvenile Parkinson's disease. **Nat Cell Biol.** 2009 Nov;11(11):1370-5. doi: 10.1038/ncb1981. Epub 2009 Oct 4. PMID: 19801972; PMCID: PMC2952934.

DAMASCENO, M. B. B. C. **participação da neurotransmissão dopaminérgica no efeito hiperlocomotor do neuropeptídios S.** 2014. 76f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Biociências – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2014.

DUARTE, A. **A participação da via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/mTOR no carcinoma epidermoide oral.** 2018. 84f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, 2018.

EMAMZADEH, F. N.. Estrutura, funções e interações da alfa-sinucleína. **Journal of research in medical sciences: the Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences** , v. 21, 2016.

FAHEEM, M.; LONE, K.P.O.; stress and histopathologic biomarkers of exposure to bisphenol-A in the freshwater fish, *Ctenopharyngodonidella*. **Brazilian Journal**

FALCO A. CUKIERMAN D. S, HAUSER-DAVIS R. A. REY N.A. Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.

FENG, C. W. et al., Neuroprotective Effect of the Marine-Derived Compound 11-Dehydrosinulariolide through DJ-1-Related Pathway in In Vitro and In Vivo Models of Parkinson's Disease. **Mar Drugs**, v. 14, n. 10, p. 187, 2016. Disponível em: doi: 10.3390/md14100187. Acesso em: 20 de setembro de 2020.

FITZMAURICE, A. G. et al., Aldehyde dehydrogenase inhibition as a pathogenic mechanism in Parkinson disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 110, n. 2, p. 636-641, 2013.

FOLLMER, C.; NETTO, H. J. C. B. Fármacos multifuncionais: monoamina oxidase e a-sinucleína como alvos terapêuticos na doença de Parkinson. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 2, p. 306-313, 2013.

FONSECA, R. S. Exposição de embriões e larvas de zebrafish a compostos bisfenólicos para elucidação de mecanismos neurotoxicológicos. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Pontifícia Universidade Católica de Rio Grande do Sul, Porto Alegre- RS. 2018.

FONSEKA T. M. et al., Review:Zebrafish Models of Major Depressive Disorders. **Journal of Neuroscience Research** n.94 p. 3–14. 2016.

FRØYSET, A. K. et al., Astroglial DJ-1 over-expression up-regulates proteins involved in redox regulation and is neuroprotective in vivo. **Redox Biol**, v.16, p. 237-247, 2018. Dispon[ível em: doi: 10.1016/j.redox.2018.02.010. Acesso em: 15 de outubro de 2020.

GAO, Y. et al., [Genetic manipulation in zebrafish]. **Shen Wu Gong Cheng Xue Bao**. 2017.

GEMELLI, T. et al., ESTRESSE OXIDATIVO COMO FATOR IMPORTANTE NA FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER. **Revista Brasileira Multidisciplinar-rebram**, Araraquara-sp, v. 16, n. 1, p.67-78, jul. 2013. Disponível em: <<http://revistarebram.com/index.php/revistauniara/article/view/43>>. Acesso em: 23 mar. 2019.

GOBBI, L. T. B.; PIERUCCINI-FARIA, F.; SILVEIRA, C. R. A.; CAETANO, M. J. D. Núcleos da base e controle locomotor: aspectos neurofisiológicos e evidências experimentais. **Rev. bras. Educ. Fís. Esp.** São Paulo, v. 20, n. 5, p. 97-101, 2006.

GONÇALVES, L. H. T; ALVAREZ, A. M; ARRUDA, M. C. Pacientes portadores da Doença de Parkinson: significado de suas vivências. **Acta Paulista de Enfermagem**. v. 20, n. 1, p. 62-68, 2007.

GRUNWALD, D. J.; EISEN, J. S. Headwaters of the zebrafish — emergence of a new model vertebrate. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 717-724, 2002.

HOWE, Douglas G. et al., The Zebrafish Model Organism Database: novo suporte para modelos de doenças humanas, detalhes de mutação, fenótipos de expressão gênica e pesquisa. **Pesquisa de ácidos nucleicos** , v. 45, n. D1, pág. D758-D768, 2017.

HOWE K. et al., A sequência do genoma de referência do Zebrafish e sua relação com o genoma humano. **Nature** , v. 496, n. 7446, pág. 498-503, 2013.

HU, Z. Y. et al., Up-regulation of autophagy-related gene 5 (*ATG5*) protects dopaminergic neurons in a zebrafish model of Parkinson's disease. **J Biol Chem**, v. 292, n. 44, p. 18062-18074, 2017. Disponível em doi: 10.1074/jbc.M116.764795. Acesso em: 3 de agosto de 2020.

ILHA S. ZAMBERLAN C. NICOLA G. D. O. ARAÚJO A. S. BACKES D. S. Refletindo acerca da doença de Alzheimer no contexto familiar: implicações para a enfermagem. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, 2014.

JACK, C. R. et al., Prevalência de entidades do espectro de Alzheimer biologicamente versus clinicamente definidas usando a estrutura de pesquisa do National Institute on Aging – Alzheimer's Association. **JAMA neurology**, v. 76, n. 10, pág. 1174-1183, 2019.

KALUEFF, A. V.; STEWART, A. M.; GERLAI, R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. **Trends Pharmacol Sci**. 2014 Feb;35(2):63-75. doi: 10.1016/j.tips.2013.12.002. Epub 2014 Jan 9. PMID: 24412421; PMCID: PMC3913794.

LEE, J. G. et al., Approaches Using Zebrafish to Study the Microbiota-Gut-Brain Axis in Neurological Disorders. **Cells**. 2021.

LICHTENBER, G. M. et al., The Parkinson's disease protein LRRK2 impairs proteasome substrate clearance without affecting proteasome catalytic activity. **Cell Death Dis**, v. 2, n. 8, p. 196, 2011. Disponível em: doi: 10.1038/cddis.2011.81. Acesso em: 31 de agosto de 2020.

LI, J. Q.; TAN, L.; YU, J. T. The role of the LRRK2 gene in Parkinsonism, **BioMed Central**, v. 9, n.47, p.1-17, 2014.

LULLA, A. et al., Neurotoxicity of the Parkinson Disease-Associated Pesticide Ziram Is Synuclein-Dependent in Zebrafish Embryos. **Environ Health Perspect**, v. 124, n.11, p. 1766-1775, 2016.

LYKESTOS, C, G et al., Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, 2011.

MARTINA, J. A.; CHEN, Y.; GUCEK, M.; PUERTOLLANO, R. MTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB. **Autophagy**. v. 8, n. 6, p. 903-914, 2012.

MASLOW, Katie. 2008 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, [s.l.], v. 4, n. 2, p.110-133, mar. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2008.02.005>.

MEIJER, A. H. Proteção e patologia na TB: aprendendo com o modelo do Zebrafish. In: **Seminários em imunopatologia**. Springer Berlin Heidelberg, 2016. p. 261-273.

MESHALKINA, D. A. zebrafish models of autism spectrum disorder. **Experimental Neurology**, v. 299, p. 207-216, 2018.

MILANESE, C. et al., Hypokinesia and reduced dopamine levels in zebrafish lacking  $\beta$ - and  $\gamma$ 1-synucleins. **J. Biol. Chem**, v. 287, n. 5, p. 2971–2983, 2012. Disponível em: doi. 10.1074/jbc.M111.308312. Acesso em: 31 de Agosto de 2020.

MORAIS, T. H. **Caracterização in vitro do potencial antineoplásico de extratos naturais e derivados em linhagens celulares de glioma humano**. 2016. 156f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2016.

NAPOLITANO, G. et al.,, motor-dependent phosphorylation controls TFEB nuclear export. **NATURE COMMUNICATIONS**, v.9, n.3312, p. 1-10, 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298p.

NERY, L. R. et al.,, Brain Intraventricular Injection of Amyloid- $\beta$  in Zebrafish Embryo Impairs Cognition and Increases Tau Phosphorylation, Effects Reversed by Lithium. **PlosOne**, [s.l.], v. 9, n. 9, p.1-83, 4 set. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0105862>.

NISHIMURA, L. S. **Expressão e caracterização estrutural de chaperona Hsp70 mitocondrial de *Leishmania braziliensis***. 2017. 51f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, 2017.

OBOUDIYAT, C. et al.,, Alzheimer's Disease. **Semin Neurol**, New York, 2013

OZAWA, K. et al.,, S-nitrosylation regulates mitochondrial quality control via activation of parkin. **Scientific Reports**. v. 3, n. 2202, 2013.

PETRONILHO, E.C; PINTO, A.C.; VILLAR, J.D.F.; **ACETILCOLINESTERASE: ALZHEIMER E GUERRA QUÍMICA**. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <[http://rmct.ime.eb.br/arquivos/RMCT\\_3\\_tri\\_2011/RMCT\\_067\\_E5A\\_11.pdf](http://rmct.ime.eb.br/arquivos/RMCT_3_tri_2011/RMCT_067_E5A_11.pdf)>. Acesso em: 22 abr. 2019.

PETERNELLA, F. M N. MARCON, S. S. Qualidade de vida de indivíduos com Parkinson e sua relação com tempo de evolução e gravidade da doença. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 20, n. 2, p. 384-391, 2012.

PINTO, C. et al.,, Atividade diferencial de BPA, BPAF e BPC em receptores de estrogênio de Zebrafish in vitro e in vivo. **Toxicologia e farmacologia aplicada** , v. 380, p. 114709, 2019.

QUADROS, V. A. et al.,, Predictable chronic stress modulates behavioral and neuroendocrine phenotypes of zebrafish: Influence of two homotypic stressors on stress-mediated responses. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, p. 109030, 2021.

RANG, H. P.; DALE, M. M. **Rang and Dale's pharmacology**. Elsevier Brasil, 2016.

REN, G. et al.,, Zebrafish tyrosine hydroxylase 2 gene encodes tryptophan hydroxylase. **J Biol Chem**, v. 288, n. 31, p. 22451-22459, 2013. Disponível em: doi: 10.1074/jbc.M113.485227. Acesso em: 20 de setembro de 2020.

- RINK, E. WULLIMANN, M. F. O sistema dopaminérgico teleósteo (Zebrafish) ascendendo ao subpálio (estriado) está localizado no diencéfalo basal (tubérculo posterior). **Brain Research** , v. 889, n. 1-2, pág. 316-330, 2001.
- RUZICKA, Leyla et al.,, ZEBRAFISHIN, o banco de dados de organismo modelo de Zebrafish: atualizações e novas direções. **gênesis** , v. 53, n. 8, pág. 498-509, 2015.
- SANTANA, S; RICO, E. P.; BURGOS, J. S. Can Zebrafish be used as animal model to study Alzheimer's disease?. **Am J Neurodegener Dis**, 2012.
- SASSEN, W. A.; KÖSTER, R. W. A molecular toolbox for genetic manipulation of zebrafish. **Advances in Genomics and Genetics**, v. 5, p. 151-163, 2015.
- SCHLEGEL, Domino K. et al.,, Um novo modelo de Zebrafish para disfunção CACNA2D4. **Oftalmologia investigativa e ciências visuais** , v. 60, n. 15, pág. 5124-5135, 2019.
- SHAVALI S. et al.,, Localização mitocondrial da proteína alfa-sinucleína em células com superexpressão de alfa-sinucleína. **Cartas de neurociência** , v. 439, n. 2, pág. 125-128, 2008.
- SIEBEL, A. M. et al.,, Zebrafish como Modelo para Estudos Comportamentais. **RESENDE. RR Biotecnologia aplicada à saúde: Fundamentos e aplicações**, São Paulo, Ed. Blucher, v. 1, p. 1-611, 2015.
- SILVEIRA, T. R.; SCHNEIDER, A. C.; HAMMES, T. O. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 2, p. 4-5, 2012.
- SOUZA, C. F. M. et al.,, A Doença de Parkinson e o Processo de Envelhecimento Motor: Uma Revisão de Literatura. **Ver Neurocienc**, Mossoró, v. 19, n. 4, p. 718-723, 2011.
- SUZZI, S. et al.,, Loss of lrrk2 impairs cell proliferation and neuronal regeneration in the zebrafish brain, **BioRxiv**, 2017. Disponível em: <<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/140608v1>>. Acesso em: 15 de setembro de 2020.
- TAVARES, B.; LOPES, S. S. The Importance of Zebrafish in Biomedical Research, **Revista Científica da Ordem dos Médicos**, v. 26, n. 5, p. 583-592, 2013.
- TIRABOSCHI, Ettore et al.,, Novos insights sobre os primeiros mecanismos de epileptogênese em um modelo de Zebrafish da síndrome de Dravet. **Epilepsia** , v. 61, n. 3, pág. 549-560, 2020.
- VALCARENGHI, R. V. et al.,, O cotidiano das pessoas com a doença de Parkinson. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 2, n.71, p. 293-300, 2018.
- WANG, G. et al.,, Abnormal Behavior of Zebrafish Mutant in Dopamine Transporter Is Rescued by Clozapine. **iScience**, v. 17, p. 325-333, 2019.
- XI, Y.; NOBLE, S.; EKKER, M. Modeling neurodegeneration in zebrafish. **Curr Neurol Neurosci**, v. 11, n. 3, p. 274-282, 2011. Disponível em: doi: 10.1007/s11910-011-0182-2. Acesso em 31 de agosto de 2020.

ZANG, L.; MADDISON, L. A.; CHEN, W. O Zebrafish como modelo para obesidade e diabetes. **Fronteiras na biologia celular e do desenvolvimento** , v. 6, p. 91, 2018.

ZENG, X. S.; GENG, W. S.; JIA, J. J. Neurotoxin-Induced Animal Models of Parkinson Disease: Pathogenic Mechanism and Assessment. **ASN Neuro**. 2018. Disponível em: doi: 10.1177/1759091418777438. Acesso em: 20 de setembro de 2020.

ZHANG, C. et al.,, Hormetic effect of panaxatriol saponins confers neuroprotection in PC12 cells and zebrafish through PI3K/AKT/mTOR and AMPK/SIRT1/FOXO3 pathways. **Nature: scientific reports**, v. 7, n. 41082, p. 1-12, 2017.

ZHANG, Y. et al.,, Rescue of Pink1 Deficiency by Stress-Dependent Activation of Autophagy. **Cell Chem Biol**, v. 24, n. 4, p. 471-480, 2017.