



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

LARISSA PEREIRA DANTAS DA SILVA

***Caenorhabditis elegans* COMO MODELO PARA O ESTUDO
DA DOENÇA DE PARKINSON: REVISÃO DA INFLUÊNCIA
GÊNICA E DE NEUROTOXINAS**

Recife
2022

LARISSA PEREIRA DANTAS DA SILVA

***Caenorhabditis elegans* COMO MODELO PARA O ESTUDO
DA DOENÇA DE PARKINSON: REVISÃO DA INFLUÊNCIA
GÊNICA E DE NEUROTOXINAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Biomedicina da
Universidade Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de Bacharel
em Biomedicina.

Orientadora: Priscila Gubert

Recife
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Larissa Pereira Dantas da.

Caenorhabditis elegans como modelo para o estudo da doença de Parkinson:
revisão da influência gênica e de neurotoxinas / Larissa Pereira Dantas da
Silva. - Recife, 2022.

62 : il., tab.

Orientador(a): Priscila Gubert

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2022.

1. Neurotoxinas. 2. Neurodegeneração. 3. Alfa-sinucleína. 4. Dopamina. 5.
Nematóide. I. Gubert, Priscila. (Orientação). II. Título.

500 CDD (22.ed.)

LARISSA PEREIRA DANTAS DA SILVA

***Caenorhabditis elegans* COMO MODELO PARA O ESTUDO
DA DOENÇA DE PARKINSON: REVISÃO DA INFLUÊNCIA
GÊNICA E DE NEUROTOXINAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Biomedicina da
Universidade Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de Bacharel
em Biomedicina.

Aprovada em: 22/11/2022

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 PRISCILA GUBERT
Data: 12/12/2022 11:10:21-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Orientadora: Prof. Dr^a Priscila Gubert
UFPE/ Departamento de Bioquímica

Documento assinado digitalmente
 HENRIQUE NELSON PEREIRA COSTA JUNIO
Data: 08/12/2022 10:41:09-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Mestre Henrique Nelson Pereira Costa Junior
UFPE/ Departamento de Antibióticos

Documento assinado digitalmente
 RAYSSA LEAL BORGES DE MEDEIROS
Data: 12/12/2022 10:48:41-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dr^a Rayssa Leal Borges de Medeiros
LIKA-UFPE/ Laboratório de Prospecção Molecular e Bioestatística

Dedico este trabalho a todos que me
ajudaram ao longo desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Priscila Gubert, por ter me apresentado *C. elegans*, mas também pela paciência, dedicação e pelos direcionamentos passados durante a elaboração dessa monografia. Agradeço ao professor Rafael Ximenes e a professora Priscila Gubert, pela orientação no projeto PIBIC, permitindo que eu vivenciasse como é utilizar *C. elegans* como modelo animal. Sou grata a Propesqi, ao departamento de antibióticos e ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami por ter possibilitado que eu participasse do universo da pesquisa científica. E a Universidade Federal de Pernambuco por ter sido meu lar durante esses anos de graduação. Obrigada aos meus pais, Cláudia e Marcílio, por todo o investimento na minha educação. A minha irmã, Isabelle, e ao meu namorado, Irving, agradeço pelo companheirismo, pela amizade e a atenção dedicada quando sempre precisei. E por fim, obrigada a todos com quem convivi ao longo desses anos e que de alguma forma impactaram na minha formação acadêmica.

O conhecimento tem um começo, mas não tem fim.
(Geeta Iyengar)

SILVA, Larissa Pereira Dantas da. ***Caenorhabditis elegans* como modelo para o estudo da doença de Parkinson**: revisão da influência gênica e de neurotoxinas. 2022. 62 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum no mundo, sendo a primeira a doença de Alzheimer. Os pacientes com DP possuem perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra dos gânglios da base e comprometimento motor, devido a diminuição da sinalização da dopamina. Estudos mostram que o acúmulo anormal da α -sinucleína nos neurônios está relacionado com a neurodegeneração. Além disso, mutação de alguns genes, como o *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1*, *ATP13A2* e *LRRK2* e/ou a exposição a agentes neurotóxicos, como paraquat e rotenona, poderá aumentar as chances de desenvolver a DP. Existem vários modelos animais usados para estudar a doença de Parkinson, o *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) fornece várias vantagens para o estudo da doença de Parkinson, pois esse nematóide possui sistema de neurotransmissão conservados durante a evolução; produzem dopamina, através dos 8 neurônios dopaminérgicos; podem ser usados para estudar o efeito de neurotoxinas; além de também possuírem cepas que expressam a α -sinucleína humana. Além do mais, pode ser avaliado os genes *lrrk-1*, *pink-1*, *pdr-1*, *djr-1.1*, *catp-6*, genes semelhantes aos dos humanos e que estão relacionados com a DP. Sendo assim, discutiremos sobre o uso de *C. elegans* como modelo animal para o estudo da doença de Parkinson. Nesse trabalho de revisão bibliográfica foram selecionados 99 estudos através de pesquisas nas bases de dados eletrônicas MEDLINE (PubMed), Science direct (Elsevier) e Google Acadêmico. A maioria dos trabalhos selecionados relataram que os nematóides expostos às neurotoxinas (6-OHDA, MPP+, paraquat e rotenona) tiveram neurodegeneração dopaminérgica, déficits dependentes de dopamina e diminuição da sobrevivência. Alguns artigos relataram que a expressão de LRRK2 (G2019S) humana causou neurodegeneração e que a deleção *pink-1*, *pdr-1* e *djr-1.1* causou diversos efeitos em *C. elegans*, dentre eles disfunções mitocondriais. Além disso, a deleção de *catp-6* causou disfunção comportamental, danos mitocondriais e redução da sobrevivência. Já os nematóides que expressam α -sinucleína, tiveram neurodegeneração e déficits dependente de dopamina. Portanto, *C. elegans* é um modelo animal que pode ser usado para elucidar mecanismos envolvidos na DP.

Palavras-chave: Nematóide. Neurotoxinas. Neurodegeneração. α -sinucleína. Dopamina.

SILVA, Larissa Pereira Dantas da. ***Caenorhabditis elegans* como modelo para o estudo da doença de Parkinson:** revisão da influência gênica e de neurotoxinas. 2022. 62 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease in the world, the first being Alzheimer's disease. Patients with PD have loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra of the basal ganglia and motor impairment as a result of decreased dopamine signaling. Studies show that abnormal accumulation of α -synuclein in neurons is related to neurodegeneration. In addition, mutation of some genes, like *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1*, *ATP13A2* and *LRRK2* and/or exposure to neurotoxic agents, such as paraquat and rotenone, may increase the chances of developing PD. There are several animal models used to study Parkinson's disease, the use of *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) provides several advantages for studying PD, as this nematode has conserved neurotransmission system during evolution; it produces dopamine, through the 8 dopaminergic neurons; it can be used to study the effect of neurotoxins; and also has strains that express human α -synuclein. Furthermore, the relationship of *lrk-1*, *pink-1*, *pdr-1*, *djr-1.1*, *catp-6*, genes that are similar to those in humans and are related to PD, can be evaluated. Therefore, we will discuss the use of *C. elegans* as an animal model for the study of PD. In this literature review, 99 studies were selected by searching the electronic databases MEDLINE (PubMed), Science direct (Elsevier) and Google Scholar. Most of the selected scientific reports that nematodes exposed to the neurotoxins (6-OHDA, MPTP, paraquat and rotenone) had dopaminergic neurodegeneration, dopamine-dependent deficits and decreased survival. Some articles reported that expression of human *LRRK2* (G2019S) caused neurodegeneration and that *pink-1*, *pdr-1* and *djr-1.1* deletion caused several effects in *C. elegans*, among them mitochondrial dysfunctions. In addition, deletion of *cat6* caused behavioral dysfunction, mitochondrial damage and reduced survival. Nematodes expressing α -synuclein, on the other hand, had neurodegeneration and dopamine-dependent deficits. Therefore, *C. elegans* is an animal model that can be used to elucidate mechanisms involved in PD.

Key words: Nematode. Neurotoxins. Neurodegeneration. α -synuclein. Dopamine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação em ordem cronológica da descoberta da doença de Parkinson	15
Figura 2: Síntese de dopamina em humanos	16
Figura 3: Representação da fisiopatologia da DP	18
Figura 4: Representação da agregação da α -sinucleína	26
Figura 5: Representação do ciclo de vida do <i>C. elegans</i>	28
Figura 6: Corpos celulares (indicado pelas setas) e axônios marcados por GFP nos neurônios dopaminérgicos de <i>C. elegans</i>	29
Figura 7: Síntese de dopamina em <i>C. elegans</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Efeitos das neurotoxinas em diferentes cepas de <i>C. elegans</i> para o estudo da doença de Parkinson.....	38
Tabela 2: Efeitos da deleção ou expressão de genes associados a DP em cepas transgênicas de <i>C. elegans</i> usadas para estudar a doença de Parkinson.	44
Tabela 3: Efeitos da agregação de α -sinucleína em diferentes cepas de <i>C. elegans</i>	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

6-OHDA	6-hidroxidopamina
AADC	Descarboxilase de aminoácidos aromáticos
ADEs	Neurônios diderídeos anteriores
ATP	Trifosfato de adenosina
<i>C. elegans</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>
CEPs	Neurônios cefálicos anteriores
DAT	Transportador de dopamina
DHE	Dihidroetídio
DOPAC	3,4-diidroxifenilacetato
DOPAL	3,4 diidroxifenilacetaldeído
DP	Doença de Parkinson
ERO	Espécies reativas ao oxigênio
GABA	Ácido γ -amino-butírico
GFP	Green Fluorescent Protein
ILS	Sinalização semelhante a insulina
KRS	Síndrome de Kufor Rakeb
MAO-B	Monoamina oxidase B
MDA	Malondialdeído
mitoUPR	Resposta de proteína desdobrada mitocondrial
MPP+	1-metil-4-fenilpiridínio
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
PDEs	Neurônios deirídeos posteriores
SN	Substância negra
SUP	Sistema ubiquitina-proteassoma
TH	Tirosina hidroxilase
VMAT2	Transportador vesicular de monoamina 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 DOENÇA DE PARKINSON	14
2.1.1 Histórico	14
2.1.2 Epidemiologia.....	15
2.1.3 Sintomas	18
2.1.5 Diagnóstico	19
2.1.6 Tratamento.....	19
2.2 USO DE MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDAR A DOENÇA DE PARKINSON	20
2.2.1 Modelos Neurotóxicos.....	21
2.2.1.1 6-Hidroxidopamina (6-OHDA)	21
2.2.1.2 1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetra-hidropiridina (MPTP)	21
2.2.1.3 Paraquat e rotenona	22
2.2.2 Modelos Genéticos.....	22
2.2.2.1 Quinase 2 de repetição rica em leucina (<i>LRRK2</i>)	23
2.2.2.2 <i>PRKN</i> , <i>PINK1</i> e <i>DJ-1</i>	23
2.2.2.3 <i>ATP13A2</i>	24
2.2.1.4 <i>SNCA</i>	25
2.3 USO DE <i>C. ELEGANS</i> COMO MODELO ANIMAL PARA ESTUDAR A DP	26
2.3.1 Ciclo De Vida	27
2.3.2 Neurobiologia	29
2.3.2.1 Ensaio de resposta de desaceleração basal	31
2.3.2.2 Ensaio de evitação ao etanol	31
2.3.2.3 Ensaio de pesquisa com área restrita	32
2.3.2.4 Ensaio de movimentos de natação	32

2.3.2.5 Ensaio paralisia induzida por natação	32
2.3.3 Genética.....	33
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 OBJETIVO GERAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3 METODOLOGIA	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 EFEITOS INDUZIDOS POR NEUROTOXINAS EM <i>C. ELEGANS</i>	34
4.1.1 6-hidroxidopamina (6-OHDA).....	35
4.1.2 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP)	36
4.1.3 Paraquat e rotenona.....	37
4.2 EFEITOS DOS PRINCIPAIS GENES RELACIONADOS COM A DOENÇA DE PARKINSON EM <i>C. ELEGANS</i>	39
4.2.1 <i>LRRK2</i>	40
4.2.2 <i>PRKN</i> , <i>PINK1</i> e <i>DJ-1</i>	41
4.2.3 <i>ATP13A2</i>	43
4.2.4 α -sinucleína.....	47
5 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa que afeta cerca de 1% da população acima dos 60 anos (BRUNETTI *et al*, 2020; CHEON *et al*, 2017). Apesar de haver raros casos de DP em pacientes mais jovens, essa enfermidade tem início tardio, com uma prevalência maior que 3% em pessoas com mais de 80 anos de idade (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Por ser uma doença com comprometimento motor, os principais sintomas são: tremor de repouso, lentidão de movimento, instabilidade postural, marcha arrastada e rigidez (COOPER *et al*, 2018a). Além de também apresentar sintomas não motores, como: distúrbios do sono, demência, ansiedade, depressão e entre outros (COOPER *et al*, 2018a; CHANDLER *et al*, 2021; BRUNETTI *et al*, 2020).

Ainda não está clara a etiologia da DP, mas possivelmente seja resultado de uma interação ambiental e fatores genéticos, como exposição a neurotoxinas e mutações (BRUNETTI *et al*, 2020; LONG *et al*, 2022). O que já se sabe é que os sintomas motores estão relacionados à perda seletiva de neurônios dopaminérgicos presentes na substância negra (SN), nos gânglios da base (CHEN *et al*, 2021; COOPER *et al*, 2018a). Além do mais, o acúmulo anormal da proteína α -sinucleína e a formação de corpos de Lewy estão relacionados com a neurodegeneração (HUGHES *et al*, 2022).

A α -sinucleína é uma proteína pequena, possuindo 140 aminoácidos, que é normalmente expressa pelo sistema nervoso (HSU *et al*, 2021; PERNI *et al*, 2018). As suas funções são pouco conhecidas, mas acredita-se que essa proteína desempenha papéis relacionados à neurotransmissão (HSU *et al*, 2021). A conformação dessa proteína é instável e α -hélice é facilmente convertida para folha β , resultando no dobramento anormal e a agregação da α -sinucleína, formando fibrilas (corpos de Lewy), que são observados no cérebro de pacientes com a DP (HSU *et al*, 2021). Além do mais, a α -sinucleína é codificada pelo gene *SNCA* e mutações, polimorfismos e cópias extras desse gene têm sido associados com a DP (CHEN *et al*, 2021; COOPER *et al*, 2018a). Ademais, foram encontrados outros genes que são relacionados com a DP, como: *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1*, *ATP13A2* e *LRRK2* (COOPER

et al, 2018a; ALVAREZ *et al*, 2020; VOZDEK; PRAMSTALLER; HICKS, 2022). A relação desses genes com a agregação da α -sinucleína ainda é incerta (COOPER *et al*, 2018a).

Estudos em modelos *in vivo*, são importantes pois, é possível replicar doenças, como a DP, além de investigar prováveis medicamentos (CHEN *et al*, 2021). Porém, estudos em modelos vertebrados são caros, demorados e precisam passar pelo comitê de ética (BRUNETTI *et al*, 2020). A utilização de *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) fornece várias vantagens para o estudo da DP pois, possui o ciclo de vida rápido, baixo custo e pequeno tamanho (~1 milímetro do nematóide adulto), possibilitando uma manutenção simples (GIUNTI *et al*, 2021). Além disso, por ter o genoma sequenciado, sabe-se que cerca de 40-50% dos genes codificadores de proteínas são semelhantes à dos humanos (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Mesmo que haja grandes diferenças anatômicas entre o sistema nervoso dos seres humanos e de *C. elegans*, esse nematóide possui os sistemas de neurotransmissão conservados durante a evolução, possuindo neurotransmissores semelhantes dos humanos (CHANDLER *et al*, 2021; CHEN *et al*, 2021). Os nematóides contêm 8 neurônios dopaminérgicos, sendo: quatro neurônios cefálicos anteriores (CEPs), dois neurônios deirídeos anteriores (ADEs), dois neurônios deirídeos posteriores (PDEs) (CHALORAK *et al*, 2021a)

Ademais, é fácil usar neurotoxinas como 6-hidroxidopamina (6-OHDA), 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), paraquat e rotenona, para induzir a morte dos neurônios dopaminérgicos e assim poder visualizar fenótipos comportamentais específicos que caracterizam a neurodegeneração no nematóide (CHALORAK *et al*, 2021a; TSAI *et al*, 2020). Além disso, a existência de cepas transgênicas, que expressam a α -sinucleína humana, possibilitou a análise do efeito dessa proteína anormal no nematóide (CHEN *et al*, 2021). A expressão da α -sinucleína pode ser visualizada através de uma proteína fluorescente (CHALORAK *et al*, 2021a). Também é possível avaliar a expressão e deleção dos genes: *lrk-1*, *pink-1*, *pdr-1*, *djr-1.1* e *catp-6* no nematóide (Ma *et al*, 2018). Por esses motivos, *C. elegans* oferece várias vantagens para a investigação da DP (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b).

Portanto, nesta revisão falar-se-á sobre os genes e neurotoxinas que estão relacionados com a DP, enfatizando a importância de estudar a agregação da α -

sinucleína, pois é um ponto chave para o desenvolvimento de fármacos eficazes para tratar a DP.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

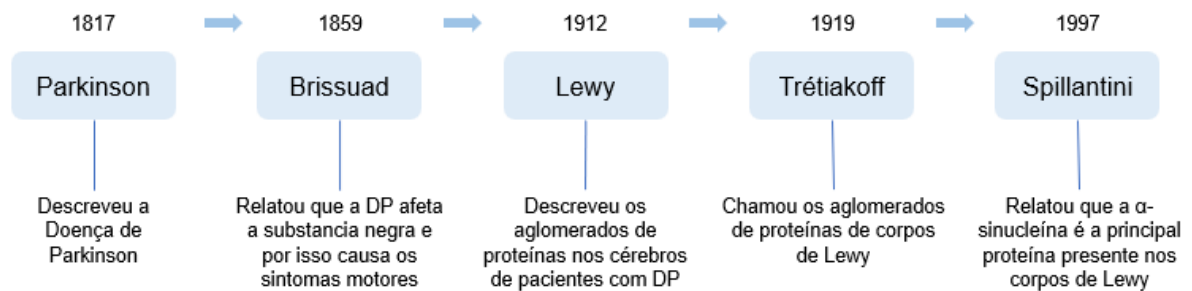
2.1 DOENÇA DE PARKINSON

2.1.1 Histórico

A DP ficou assim conhecida devido ao médico inglês James Parkinson, que foi o primeiro a descrever essa doença, em 1817, a qual antes era chamada de Paralisia Agitada (YOUSSEF; TANDON; REZAI, 2019; CHIA *et al*, 2020). Anos depois (em 1895), Brissuad relatou sobre a possibilidade de a DP afetar a substância negra e consequentemente causar os sintomas motores (YOUSSEF; TANDON; REZAI, 2019). Em seguida, Lewy (1912) descreveu a formação de aglomerados de proteínas em várias regiões do cérebro em pacientes com DP (YOUSSEF; TANDON; REZAI, 2019). Trétiakoff, em 1919, validou as teorias de Brissuad e Lewy, chamando os agregados de proteínas na substância negra como corpos de Lewy (YOUSSEF; TANDON; REZAI, 2019). E em 1997, Spillantini percebeu que a α -sinucleína era a principal proteína presente nos corpos de Lewy (YOUSSEF; TANDON; REZAI, 2019) (Figura 1).

Ainda assim, a etiologia da DP ainda é pouco compreendida, mas sabe-se que a maioria dos casos da DP são esporádicos, possivelmente causada pela combinação de fatores genéticos e ambientais (BRUNETTI *et al*, 2020). Diante disso, abordaremos nos próximos itens, os principais fatores até agora evidenciados.

Figura 1: Representação em ordem cronológica da descoberta da doença de Parkinson



Fonte: Autoral, 2022.

2.1.2 Epidemiologia

A população idosa é mais suscetível a ter doenças não transmissíveis, as quais estão relacionadas com a idade (MAULIK *et al*, 2019). Câncer, cardiopatias e doenças neurodegenerativas são exemplos de doenças que diminuem a qualidade de vida dos idosos (YANG *et al*, 2020). A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente no mundo (HUGHES *et al*, 2022), afetando cerca de 1-2% da população (MANALO; MEDINA, 2020). No Brasil, devido à falta de notificação, foi feita uma estimativa que em 2005 haviam 160 mil casos de DP no território brasileiro e que em 2030 esses números aumentariam para 340 mil casos (CONCEIÇÃO *et al*, 2022) devido ao aumento da expectativa de vida (SILVA *et al*, 2021). Além disso, ainda que a DP afete ambos os sexos, o acometimento do sexo masculino é maior que ao feminino (SILVA *et al*, 2021). A hipótese formulada é que o estrógeno gere uma proteção às mulheres (FERNANDES; DE SOUZA ANDRADE FILHO, 2018).

2.1.4 Fisiopatologia

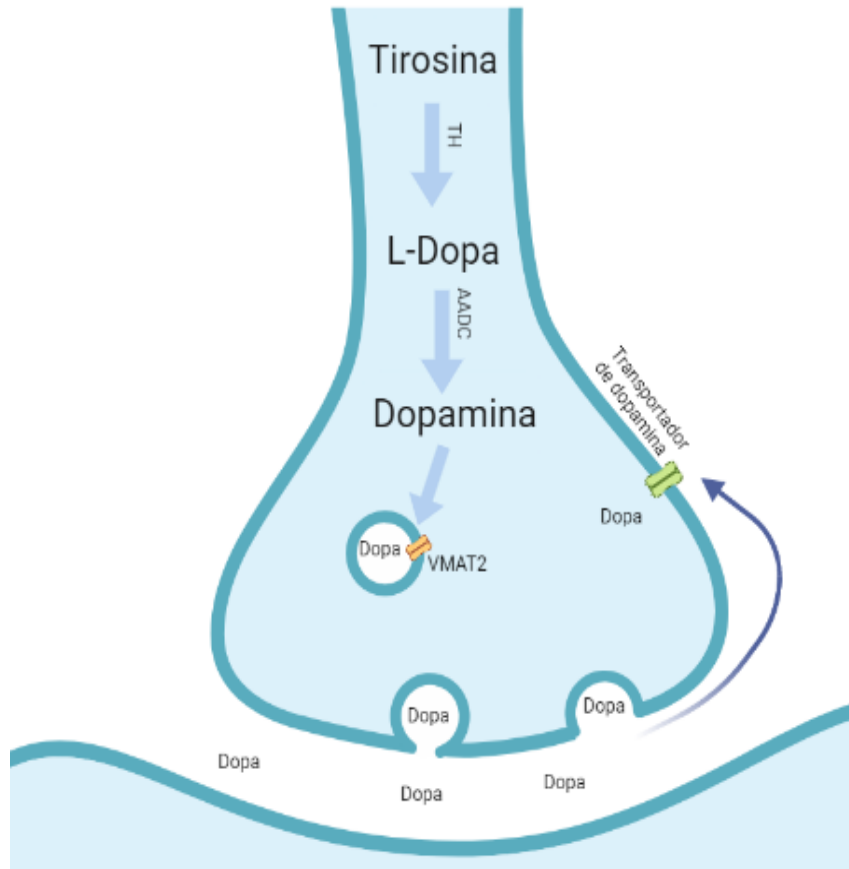
A perda de neurônios responsáveis pela produção e liberação da dopamina, localizados no mesencéfalo, na substância negra parte compacta, fez com que a DP ficasse conhecida como uma doença que possui distúrbios motores (VILARINHO; CASTRO; SANTOS, 2021). A dopamina é um neurotransmissor com funções motoras e cognitivas, além de também proporcionar sensações de prazer e motivação

(DE SOUZA *et al*, 2021).

Em uma pessoa saudável, a dopamina possui muitos destinos dentro da sinapse, podendo ser recaptada, degradada ou depositada em neuromelanina (dá o pigmento para o qual a substância negra é chamada) (MOR; DANIELS; ISCHIROPOULOS, 2019). Na síntese da dopamina, a tirosina é convertida em L-DOPA, através da enzima tirosina hidroxilase (TH) (MOR; DANIELS; ISCHIROPOULOS, 2019). Posteriormente a L-DOPA é transformada em dopamina pela descarboxilase de aminoácidos aromáticos (AADC) (MOR; DANIELS; ISCHIROPOULOS, 2019). Depois de sintetizada, a dopamina entra nas vesículas sinápticas, pelo transportador vesicular de monoamina 2 (VMAT2) e são liberadas durante a sinapse (MOR; DANIELS; ISCHIROPOULOS, 2019) (Figura 2).

A dopamina que não é guardada na vesícula ou degradada, é capaz de se auto-oxidar ou ser oxidada por metais de transição, como o ferro (MOR; DANIELS; ISCHIROPOULOS, 2019).

Figura 2: Síntese de dopamina em humanos



Fonte: Autoral, 2022.

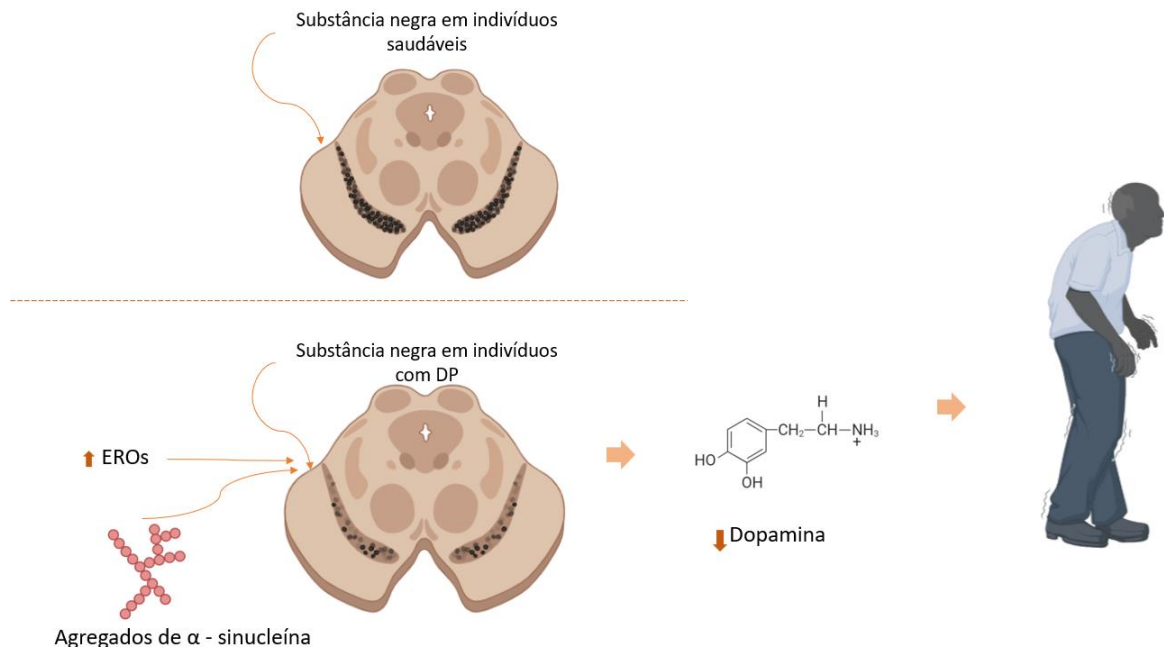
A DP afeta os neurônios dopaminérgicos presentes na substância negra compacta do mesencéfalo (SILVA, 2022). A alteração da função da via nigroestriatal, diminui progressivamente a neurotransmissão dopaminérgica para o corpo estriado, especialmente para o putâmen (CARRETE, 2017). A substância negra faz conexões com os núcleos da base, e é um dos componentes do sistema motor extrapiramidal o qual possui papel importante no controle, planejamento, aprendizado e execução das habilidades motoras (SILVA, 2022). A interrupção da via dos núcleos basais gera uma diminuição da atividade do tálamo, diminuindo o controle da função cortical, por meio da ativação glutamatérgica (SILVA, 2022). Dessa forma, há uma redução da atividade do córtex motor, desencadeando na atenuação dos movimentos voluntários (DA SILVA SANTOS; DE LIMA FERRO, 2022). Além disso, a lesão extrapiramidal pode levar ao excesso de acetilcolina na fenda sináptica, resultando em alteração do tônus muscular e contração musculares constantes (SILVA, 2022).

Como dito anteriormente, a patogenia da DP ainda é pouco entendida, porém a predisposição genética e a exposição ambiental podem causar morte neuronal dopaminérgica (SILVA *et al*, 2021).

Atualmente, existem duas hipóteses patogênicas mais aceitas (SILVA *et al*, 2021). A primeira fala sobre a disfunção mitocondrial associada ao estresse oxidativo (SILVA *et al*, 2021). Já foi observado que os pacientes com DP possuem redução da atividade mitocondrial na substância negra, ou seja, redução da síntese de ATP (adenosina trifosfato), a qual leva ao acúmulo de elétrons livres, aumentando, assim, o estresse oxidativo (SILVA *et al*, 2021) (Figura 3). A segunda propõe que agregação e conformações anormais de proteínas, com a formação de corpos de Lewy, são fundamentais para a indução do processo de morte neuronal (SILVA *et al*, 2021) (Figura 3). Isso porque a presença dos agregados de α -sinucleína gera um processo inflamatório, o qual está relacionado com a produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs) e liberação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL1- β , IL-2 e IL-10), que podem contribuir para a neurodegeneração dopaminérgica (MAGALHÃES *et al*, 2022; SOMENSEI, 2022). Além disso, há mutações em alguns genes, como: *PRKN*, *LRRK2*, *PINK1* e *DJ-1*, que podem influenciar na agregação e/ou na degradação da α -sinucleína, por isso estudar esses genes são importantes para analisar as

particularidades da DP (ARAÚJO *et al*, 2021).

Figura 3: Representação da fisiopatologia da DP



Fonte: Autora, 2022.

2.1.3 Sintomas

A DP, tem preocupado a sociedade, pois a progressão dessa doença impacta na qualidade de vida dos portadores (SAEWANEE *et al*, 2021). Clinicamente a DP é definida pela existência de quatro sintomas: tremor de repouso, rigidez muscular, bradicinesia e desequilíbrio postural (JOHNSON *et al*, 2018). Esses sintomas estão associados a diminuição da dopamina na substância negra (FERNANDES; DE SOUZA ANDRADE FILHO, 2018). Alguns portadores da DP possuem sintomas não motores, como: disfunção olfativa, constipação, depressão e distúrbio do sono, esses sintomas podem aparecer antes dos sintomas motores (SILVA *et al*, 2021; VAN PELT *et al*, 2020). A demência e a disfunção cognitiva são mais comuns nos pacientes que estão na fase final da doença (SILVA *et al*, 2021). A diminuição das catecolaminas e serotonina estão associadas ao aparecimento dos sintomas não motores (FERNANDES; DE SOUZA ANDRADE FILHO, 2018). Portanto, a DP não é só um

distúrbio do movimento, mas uma síndrome complexa que afeta a qualidade de vida ao decorrer do avanço da doença (ARAÚJO *et al*, 2021).

2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico da DP continua sendo pela análise clínica do paciente, pois ainda não existem exames que possam ser realizados *in vivo* e que comprovem a doença (SILVA *et al*, 2021). No diagnóstico clínico, inicialmente é identificado a síndrome Parkinsoniana, excluindo as formas atípicas de parkinsonismo e tremor essencial, e posteriormente é feito o teste terapêutico com levodopa, que resulta na melhora dos déficits motores nos paciente com DP (DOS SANTOS *et al*, 2022; SILVA *et al*, 2021). O diagnóstico histopatológico *post mortem* permanece sendo o padrão ouro (CHIA *et al*, 2020; ARAÚJO *et al*, 2021). Em alguns casos, os exames de imagem, como tomografia e ressonância magnética, podem auxiliar no diagnóstico diferencial de outras síndromes parkinsoniana (ARAÚJO *et al*, 2021).

Portanto, o diagnóstico precoce da DP é bastante difícil, pois sintomas clínicos só aparecem depois de grande perda neuronal dopaminérgica (cerca de 50-70%), quando a doença já está avançada (HARTMAN *et al*, 2019).

2.1.6 Tratamento

O aumento da população mundial e da expectativa de vida fez com que também houvesse aumento de indivíduos com doenças neurodegenerativas, pois a idade é um dos fatores de risco para a neurodegeneração (POHL *et al*, 2019). Ainda não há um tratamento disponível que interrompa a progressão da DP, o tratamento com drogas dopaminérgicas propõe corrigir somente os sintomas (MAULIK *et al*, 2019).

O uso da levodopa melhora os sintomas motores, restaurando a neurotransmissão, porém o uso prolongado desta droga pode causar efeitos colaterais graves (MANALO; MEDINA, 2020; CHALORAK; DHARMASAROJA; MEEMON, 2020). Dentre esses efeitos, estão: movimentos involuntários, agitação, peristaltismo

gastrointestinal lento, entre outros (YAN *et al*, 2019). Por isso, outros medicamentos podem ser usados para minimizar as complicações causadas pela levodopa, como por exemplo os inibidores da monoamina oxidase tipo B, antagonista do receptor de N-metil-d-aspartato (NMDA) e agonistas do receptor de dopamina (CHIA *et al*, 2020; LI *et al*, 2021).

O uso desses fármacos alivia apenas os sintomas, não alterando o desenvolvimento da DP (YAN *et al*, 2019).

2.2 USO DE MODELOS ANIMAIS PARA ESTUDAR A DOENÇA DE PARKINSON

Vários modelos animais que são usados para modelar a DP, a fim de pesquisar a patogênese e também descobrir novos fármacos anti-Parkinson (ZENG *et al*, 2018). Os modelos vertebrados, como Zebrafish e roedores, são bastante utilizados para estudar a DP, pois possuem mais semelhança com os humanos (ZENG *et al*, 2018). Os roedores, por exemplo, são usados devido a disponibilidade de transgênicos e também devido aos protocolos bem estabelecidos. Além disso, a neurodegeneração dopaminérgica está associada aos déficits motores humanos (ZENG *et al*, 2018). Contudo, esses animais são grandes, de alto custo, de difícil manipulação e também precisam passar pelo comitê de ética (BRUNETTI *et al*, 2020). Por esses motivos, o uso de modelos animais invertebrados, como *C. elegans* e *Drosophila melanogaster*, são benéficos, pois não precisam passar pelo comitê de ética, são baratos e fáceis de manipular, além de poderem reproduzir a DP (MA *et al*, 2021). O estudo dos efeitos de fatores ambientais e genéticos, nos modelos invertebrados, fornece informações das vias importantes para a patogênese da DP (SURGUCHOV *et al*, 2021). Além disso, esses animais possuem tempo de reprodução curto e genes semelhantes aos humanos (SURGUCHOV *et al*, 2021).

Atualmente o uso de modelos animais, para reproduzir características clínicas e patológicas da DP, são divididos em duas categorias: modelos genéticos (associados à forma familiar) e modelos neurotóxicos (associados a forma esporádica) (ZENG *et al*, 2018).

2.2.1 Modelos Neurotóxicos

As neurotoxinas mais usadas para estudar os efeitos da neurodegeneração dopaminérgica são: 6-hidroxidopamina (6-OHDA), 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), paraquat e rotenona (ZENG *et al*, 2018).

2.2.1.1 6-Hidroxidopamina (6-OHDA)

A 6-OHDA é uma toxina, que afeta os neurônios produtores de catecolaminas (TSAI *et al*, 2017). Para estudar os efeitos da 6-OHDA é preciso injetá-la no prosencéfalo ou neostriatum de cérebros de animais, pois essa não atravessa a barreira hematoencefálica (CHIA *et al*, 2020; TSAI *et al*, 2017). No caso dos nematóides, a exposição de 6-OHDA é feita em meio líquido (OFFENBURGER; JONGSMA; GARTNER, 2018a).

Devido à semelhança estrutural com a dopamina, a 6-OHDA entra nos neurônios dopaminérgicos através do transportador de dopamina (DAT) e se acumula nas mitocôndrias, inibindo atividade do complexo 1 da cadeia respiratória mitocondrial (ZENG *et al*, 2018; LONG *et al*, 2022). A exposição de 6-OHDA produz ERO, como peróxido de hidrogênio, superóxido e hidroxilas, a qual levam a disfunção mitocondrial e neurodegeneração (CHIA *et al*, 2020). Sendo assim, a 6-OHDA é usada como modelo de lesão, pois permite analisar os efeitos da neurodegeneração dopaminérgica (CHALORAK; DHARMASAROJA; MEEMON, 2020), além de verificar potenciais estratégias terapêuticas para a DP (REN *et al*, 2019).

2.2.1.2 1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetra-hidropiridina (MPTP)

A MPTP é uma molécula lipofílica capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (CHIA *et al*, 2020). A oxidação do MPTP através da monoamina oxidase B produz o MPP⁺ (1-metil-4-fenilpiridínio) (CHIA *et al*, 2020). O MPP⁺ entra no neurônio dopaminérgico através do transportador de dopamina, devido a sua semelhança com a dopamina, causando inibição do complexo 1 na respiração

mitocondrial (CHIA *et al*, 2020). A inibição do complexo 1 resulta em diminuição de ATP e produção de ERO, que posteriormente gera apoptose e necrose desses neurônios (CHIA *et al*, 2020; JOHNSON *et al*, 2018; MURPHY; PATEL; WIMALASENA, 2021). Vale ressaltar, que a inibição da MAO-B pode impedir a neurodegeneração dopaminérgica (ZENG, *et al*, 2018).

2.2.1.3 Paraquat e rotenona

O paraquat é um herbicida muito utilizado e devido a sua semelhança com o MPP⁺ foi considerado neurotóxico (CHIA *et al*, 2020). A entrada do paraquat no neurônio dopaminérgico é mediada pelo transportador de aminoácidos neutros, sendo dependente de sódio (ZENG, *et al*, 2018). O paraquat não inibe o complexo mitocondrial 1, como o MPP⁺, mas ele prejudica o ciclo da glutatona e da tioredoxina, afetando a proteção contra o estresse oxidativo (CHIA *et al*, 2020). A exposição a este herbicida está relacionada aos sintomas da DP idiopática (TRAN *et al*, 2021).

A rotenona é um inseticida que inibe o complexo mitocondrial 1, porém ao contrário do MPTP (que também inibe o complexo mitocondrial 1) a rotenona produz inibição sistêmica, enquanto que o MPTP tem como alvo os neurônios catecolaminérgicos (CHIA *et al*, 2020). Por ser lipofílico, a rotenona pode atravessar a barreira hematoencefálica e a biomembrana do neurônio, não dependendo de DAT (ZENG, *et al*, 2018).

2.2.2 Modelos Genéticos

Apesar da maioria dos casos de DP serem esporádicos, cerca de 15% são familiares (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Esses casos foram relacionados com mutações em diversos genes, como: *SNCA* (codifica a α -sinucleína), *LRRK2* (que codifica a quinase 2 de repetição rica em leucina), *PINK1*, *Parkin*, *DJ-1* e *ATP13A2* (relacionados com a disfunção mitocondrial) (VOZDEK; PRAMSTALLER; HICKS, 2022; COOPER *et al*, 2018a).

2.2.2.1 Quinase 2 de repetição rica em leucina (*LRRK2*)

Mutações na *LRRK2* estão relacionadas com a DP autossômica dominante (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b; LIANG; MCKINNON; RANKIN, 2020). Além disso, essas mutações estão associadas a modificações na atividade GTPase e quinase da *LRRK2* (CALDWELL; WILLICOTT; CALDWELL *et al*, 2020; CHIA *et al*, 2020).

A *LRRK2* faz parte da família de proteínas de múltiplos domínios, incluindo também a *LRRK1* (BAE *et al*, 2018). A família ROCO, a qual a *LRRK2* faz parte, é formada por um domínio GTPase Ras-like (Roc), seguido pelo domínio COR, além de também ter um domínio serina-treonina quinase (capaz de fosforilar a si mesma e alguns substratos) (SEEGOBIN *et al*, 2020). Também faz parte: domínio Armadillo (ARM), domínio Ankyrin (ANK), Leucine Rich Repeats (LRR) e domínio WD40 (CHANDLER *et al*, 2021). Essa proteína tem grande importância no tráfego de membrana ao longo da via endolisossomal, fazendo a endocitose de vesículas sinápticas, degradação e reciclagem de receptores, dentre outros (SEEGOBIN *et al*, 2020). No entanto, ainda não se sabe como a função normal de *LRRK2* ou mutada levam à neurotoxicidade (BEILINA *et al*, 2020).

Grande parte das mutações relacionadas à DP estão localizadas no domínio ROC-COR e quinase (CHANDLER *et al*, 2021). Uma substituição de serina por glicina na posição 2019 no domínio quinase do gene *LRRK2* representa a mutação genética mais prevalente na DP (LONG *et al*, 2018). A mutação G2019S aumenta a atividade da quinase (CHANDLER *et al*, 2021; SENCHUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021). Muitos pacientes com a mutação *LRRK2* (G2019S) têm corpos de Lewy no cérebro, sugerindo que tal mutação esteja relacionada com a agregação da α -sinucleína e, consequentemente, neurodegeneração (BAE *et al*, 2018).

2.3.2.2 *PRKN*, *PINK1* e *DJ-1*

PINK1 codifica a serina/treonina quinase 1 induzida por PTEN, essa proteína está presente na membrana mitocondrial interna (WU *et al*, 2018). *PRKN* codifica uma Ubiquitina E3 ligase, que consegue adicionar a ubiquitina a uma proteína alvo a fim

de promover a degradação dessa proteína alvo pelo proteassoma 26s (HSU *et al*, 2021). Hoje em dia, sabe-se que alguns pacientes com DP apresentam PINK1 e parkin mutadas (HSU *et al*, 2021).

Alguns estudos revelaram que a via PINK1/parkin é capaz de proteger as células de diversos tipos de estresse celular, isso porque essa via atua através do sistema ubiquitina-proteassoma (SUP), a qual tem mecanismos de controle de qualidade mitocondrial e autofagia (TSAI *et al*, 2020). Quando há dano na mitocôndria, a PINK1 se acumula na membrana externa, recrutando e ativando a parkina, através da fosforilação das cadeias de ubiquitina, sendo assim, é induzida à mitofagia (TJAHJONO *et al*, 2021). Portanto, um defeito na via PINK1/parkin resulta na disfunção da mitofagia (TSAI *et al*, 2020).

Vários estudos indicam que o gene *DJ-1* codifica uma proteína antioxidante, a qual é bastante útil para neutralizar o ambiente de estresse oxidativo (CHIA *et al*, 2020). Já se sabe que mutações no *DJ-1* estão relacionadas com formas recessivas de Parkinson familiar (CHIA *et al*, 2020).

2.2.2.3 ATP13A2

O gene *ATP13A2* codifica a bomba ATPase tipo 5, a qual mantém a função do lisossoma (ANAND *et al*, 2020). Essa bomba transporta poliaminas (espermidina e espermina) do lisossomo para o citosol (VRIJSEN *et al*, 2020). As poliaminas possuem papéis importantes como: estabilização dos ácidos nucleicos, no dobramento de proteínas e *etc* (VRIJSEN *et al*, 2020). Esse transporte alivia o estresse oxidativo, mantendo a saúde mitocondrial, portanto, deficiência *ATP13A2* interrompe o transporte de poliaminas, acumulando-as nos lisossomos, o que pode levar a ruptura (SURGUCHOV *et al*, 2021). A toxicidade da poliamina lisossomal é um dos fatores que causam a neurodegeneração (SURGUCHOV *et al*, 2021).

Mutações nesse gene estão relacionadas à forma precoce da DP, chamada de Síndrome de Kufor Rakeb (KRS), que tem como sintomas: dificuldade de realizar movimentos finos, distonia, demência e paralisia supranuclear (ANAND *et al*, 2020). Perda funcional de *ATP13A2*, gera deposição de ferro nos gânglios da base (LI *et al*, 2020), isso porque os lisossomos não conseguem armazenar o excesso de ferro,

causando toxicidade às células neuronais dopaminérgicas (ANAND *et al*, 2020).

2.2.1.4 SNCA

A α -sinucleína é uma proteína codificada pelo gene SNCA humano e foi o primeiro gene a ser relacionado com a DP autossômica dominante (MAULIK *et al*, 2019). Essa proteína pode ser dividida em três partes: região N-terminal, envolvida a ligação à membrana; o componente β não amilóide (NAC), propenso a agregação devido à alta hidrofobicidade e a região C-terminal, relacionada a ligação de cálcio e outros íons metálicos (ULAMEC *et al*, 2022; DOHERTY *et al*, 2020; MOR; DANIELS; ISCHIROPOULOS, 2019).

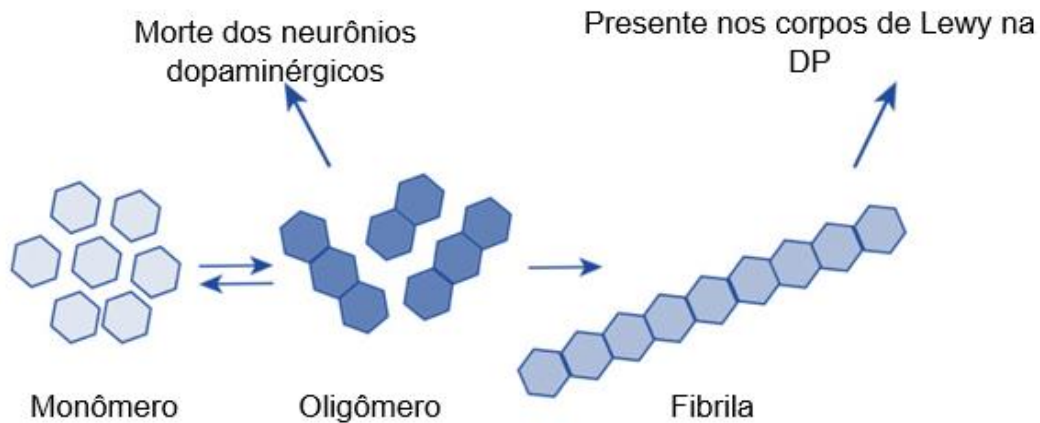
A α -sinucleína faz parte de 1% das proteínas citoplasmáticas cerebrais, podendo ser encontrada nas mitocôndrias ou no núcleo (HSU *et al*, 2021). A sua principal função é regular atividades envolvendo atividade e reciclagem das vesículas sinápticas e liberação de neurotransmissores (HSU *et al*, 2021).

Agregados anormais de α -sinucleína selvagem ou mutante, formam os corpos de Lewy, os quais estão presentes em pacientes com DP (PERNI *et al*, 2021). A agregação da α -sinucleína pode se dar pela: disfunção das chaperonas moleculares, modificações pós-traducionais e mutações familiares no gene SNCA (PERNI *et al*, 2021). Mutações como A53T, A30P e E46K acontecem na região α -helicoidal, e estão associadas a DP precoce devido à alta capacidade de agregação e formação de fibrilas (corpos de Lewy) (MOR; ISCHIROPOULOS, 2018). A mutação A53T, por exemplo, gera a mudança de uma alanina por treonina na posição 53 do gene SNCA, resultando em uma proteína com forte tendência de dobramento incorreto e agregação (GAETA; CALDWELL; CALDWELL, 2019). Além disso, a triplicação do locus SNCA também está relacionado com acúmulo de α -sinucleína (GAETA; CALDWELL; CALDWELL, 2019).

Para a formação de corpos de Lewy, os monômeros de α -sinucleína formam oligômeros e posteriormente fibrilas insolúveis, forma mais presente no cérebro de portadores da DP (GARCIA-MORENO *et al*, 2019). Foi visto que a forma oligomérica é tóxica para os neurônios (CASCELLA *et al*, 2019), enquanto que as formas poliméricas e fibrilas, são encontradas nos corpos de Lewy (GAETA; CALDWELL;

CALDWELL, 2019) (Figura 4).

Figura 4: Representação da agregação da α -sinucleína



Fonte: Adaptado de GAETA; CALDWELL; CALDWELL, 2019.

A utilização de modelos animais demonstrou que a α -sinucleína está envolvida tanto nos casos de DP familiar quanto nos casos de DP esporádico e que a sua presença causa disfunção ou perda de neurônios, principalmente os neurônios dopaminérgicos (YOUSSEF *et al*, 2020). A agregação da α -sinucleína pode causar neurotoxicidade, pois os agregados dessa proteína podem aumentar os níveis de EROs causando assim estresse oxidativo (CHALORAK *et al*, 2018). A produção de ERO também pode ser por causa do metabolismo da dopamina, disfunção mitocondrial e neuroinflamação (CHALORAK *et al*, 2018).

2.3 USO DE *C. ELEGANS* COMO MODELO ANIMAL PARA ESTUDAR A DP

A apresentação do nematóide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) para a comunidade científica por Sydney Brenner, nos anos 60, estabeleceu esse nematóide como um modelo animal (GIUNTI *et al*, 2021).

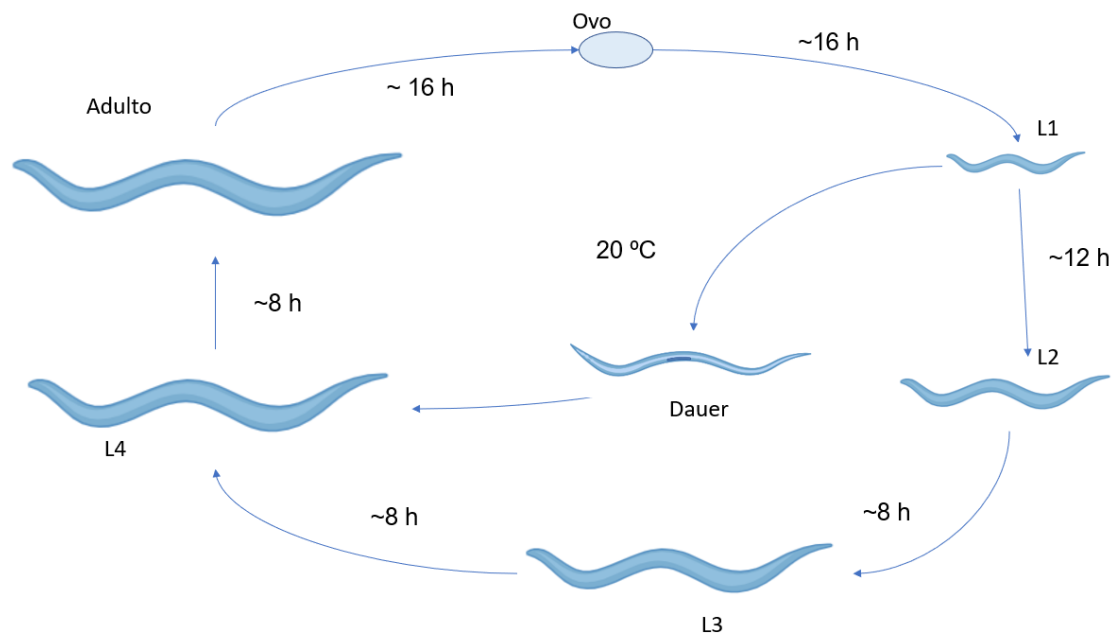
C. elegans é um nematoide de vida livre, facilmente encontrado em matéria vegetal apodrecida, local que contém um amplo suprimento de bactérias, sua fonte de alimento (GIUNTI *et al*, 2021). Seu pequeno tamanho, ~1 milímetro do nematóide adulto (GIUNTI *et al*, 2021). No laboratório, esses animais são facilmente cultivados

em placas de petri, contendo ágar e bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*), sua principal fonte de alimento (YOUSSEF; TANDON; REZAI, 2019; SANDHOF *et al*, 2020; (NARANJO-GALINDO *et al*, 2022).

2.3.1 Ciclo De Vida

O ciclo de vida de *C. elegans* é bastante curto, levando aproximadamente 3 dias para desenvolvimento do ovo até o nematóide adulto, na temperatura de 20 °C (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Esse nematóide pode se desenvolver como machos (~0,2 % da população) ou hermafroditas autofecundantes (GIUNTI *et al*, 2021). Os nematóides hermafroditas são capazes de produzir cerca de 300 progênes, enquanto que se acasalarem com o macho, produzem 1000 descendentes (GIUNTI *et al*, 2021). A embriogênese dura aproximadamente 16 horas e acontece dentro do ovo (GIUNTI *et al*, 2021). Após a eclosão do ovo, os animais entram em estágio larval (divididos em 4 estágios - L1 a L4) que dura aproximadamente 36 horas (DHAKAL *et al*, 2021). Depois de 16 horas da troca de cutícula do L4, o hermafrodita adulto começa a produzir descendentes (DHAKAL *et al*, 2021) (Figura 5). Porém, durante o desenvolvimento larval, poderá haver a formação da larva Dauer (fase de parada de desenvolvimento), permitindo que esse nematóide sobreviva a condições estressantes por meses, mas após encontrar condições favoráveis é retornado ao seu desenvolvimento (GIUNTI *et al*, 2021; NARANJO-GALINDO *et al*, 2022) (Figura 5).

Figura 5: Representação do ciclo de vida do *C. elegans*



Fonte: Autoral, 2022.

O envelhecimento é o principal fator de risco para doenças neurodegenerativas (NARANJO-GALINDO *et al*, 2022). A perda de homeostase proteica e o acúmulo de agregados proteicos está presente no envelhecimento e em doenças relacionadas à idade, como a Doença de Alzheimer ou DP (SANDHOF *et al*, 2020).

Em *C. elegans*, o envelhecimento é modulado principalmente pela via de sinalização semelhante a insulina (ILS), essa via é regulada pelos ligantes nomeados de INS-1 a INS-39 (HAQUE *et al*, 2020). Esses ligantes modulam a atividade do DAF-2, um receptor tirosina quinase, semelhante ao receptor de insulina/IGF em mamíferos (SANDHOF *et al*, 2020; HAQUE *et al*, 2020). Ativação desse receptor desencadeia a ativação de uma cascata de fosforilação, a qual termina com a fosforilação da DAF-16 (fator de transcrição semelhante ao fator de transcrição da família FOXO em humanos), impedindo a sua entrada no núcleo e consequentemente a transcrição de genes envolvidos na defesa fisiológica e resposta de homeostase (HAQUE *et al*, 2020). Mas a redução da sinalização de DAF-2, DAF-16 não é fosforilada e com isso consegue entrar no núcleo (HAQUE *et al*, 2020).

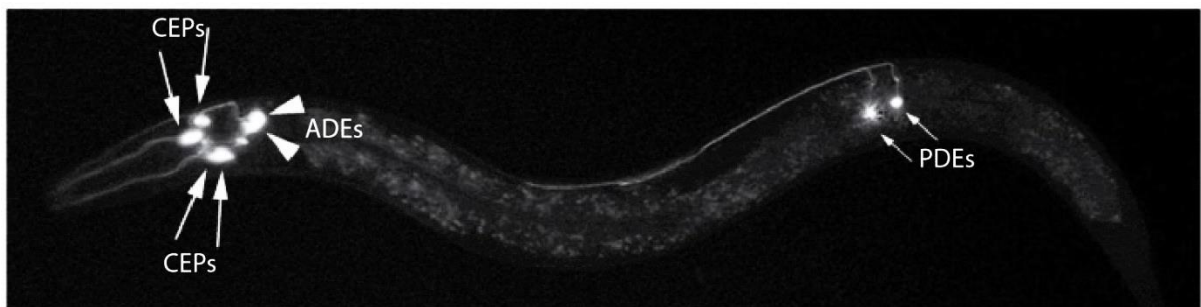
A deleção do gene *daf-2* diminui a sinalização insulina/IGF-1, modulando a

expressão da DAF-16, consequentemente há aumento do tempo de vida dos nematóides, pois é aumentando a resistência contra estresses, como o oxidativo por exemplo (DINDA *et al*, 2019). Mas quando há o silenciamento do *daf-16*, o efeito é o contrário (DINDA *et al*, 2019). Também foi visto que a mutação no *daf-2*, também prolonga a vida da *Drosophila melanogaster* e em camundongos (APFELD; FONTANA, 2017). Além disso, variantes do gene *Foxo3A* estão relacionadas à longevidade humana (APFELD; FONTANA, 2017).

2.3.2 Neurobiologia

Ainda que haja grandes diferenças anatômicas entre o sistema nervoso dos seres humanos e de *C. elegans*, esse nematóide possui os sistemas de neurotransmissão conservados durante a evolução e utilizam neurotransmissores para fazer as sinapses, como a acetilcolina, glutamato, ácido γ -amino-butírico (GABA), serotonina e dopamina (CALDWELL; THIES; CALDWELL, 2018). Os nematóides hermafroditas contêm 302 neurônios, sendo oito deles dopaminérgicos, sistema esse, relacionado à DP (CALDWELL; THIES; CALDWELL, 2018). Os seis neurônios dopaminérgicos localizados na cabeça, incluem: dois pares de neurônios cefálicos (CEPs), e um par de neurônios deirideos anteriores (ADEs) e os localizados na cauda: neurônios deirideos posteriores (PDEs) (CALDWELL; THIES; CALDWELL, 2018; ZHANG *et al*, 2018) (Figura 6).

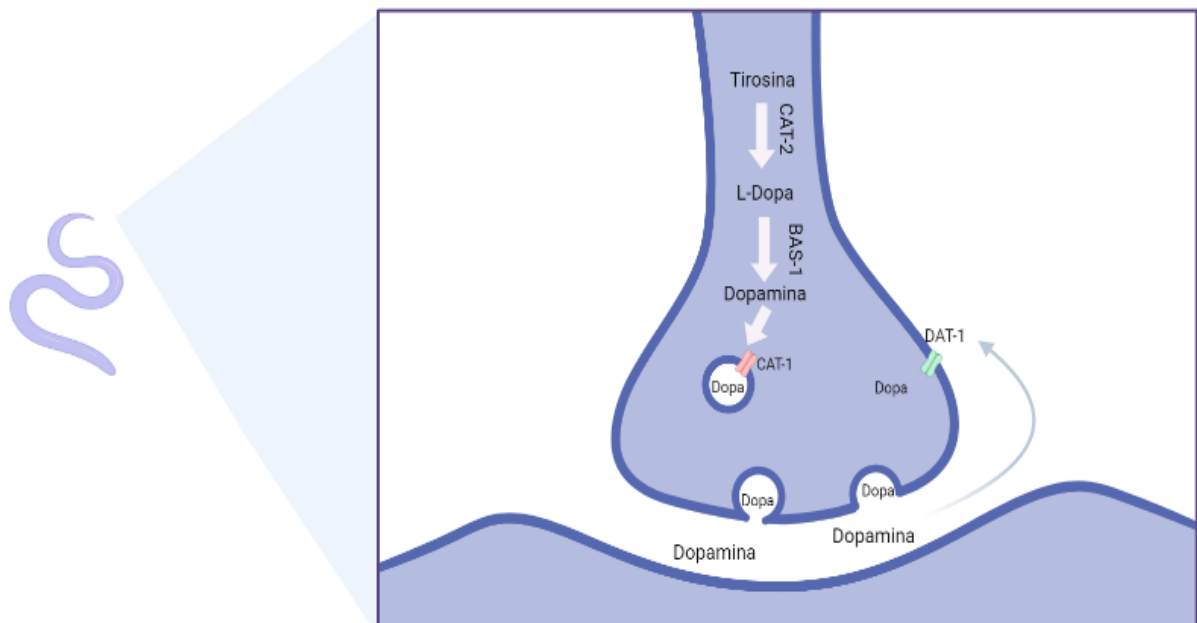
Figura 6: Corpos celulares (indicado pelas setas) e axônios marcados por GFP nos neurônios dopaminérgicos de *C. elegans*



Fonte: CALDWELL; THIES; CALDWELL, 2018.

A síntese de dopamina pelos neurônios dopaminérgicos de *C. elegans* se dá pela: (1) conversão da tirosina para L-DOPA, através da enzima CAT-2 (tirosina 3-monooxigenase); (2) a L-DOPA é convertida em dopamina através da enzima L-DOPA descarboxilase (BAS-1) (AKINYEMI *et al*, 2019; VINCE, 2020). A dopamina produzida é posta em vesículas, através da CAT-1, e essas vesículas liberam a dopamina na fenda sináptica, que eventualmente se ligam a receptores presentes na célula sináptica, transmitindo assim o sinal neuronal (AKINYEMI *et al*, 2019). O transportador de dopamina, DAT-1, recupera as dopaminas presentes entre as células pré-sinápticas e sinápticas (AKINYEMI *et al*, 2019) (figura 7).

Figura 7: Síntese de dopamina em *C. elegans*



Fonte: Autoral, 2022.

Vale ressaltar que todas as conexões de todos os neurônios desse nematoide foram mapeadas, formando um conectoma do sistema nervoso mais completo que qualquer organismo (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Sendo assim, é possível associar quais neurônios são responsáveis por determinados comportamentos (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b) como rastejar, nadar, quimiotaxia, acasalamento, resposta ao toque e outros (SANDHOF *et al*, 2020).

Os neurônios dopaminérgicos, acometidos na DP, são considerados mecanossensorial, pois ele promove mudanças do comportamento de *C. elegans*

através do ambiente (HUGHES *et al*, 2022; SAEWANEE *et al*, 2021). Sendo assim, os neurônios dopaminérgicos regulam comportamentos como: locomoção mediante a disponibilidade de alimentos, mudança entre rastejar e nadar, e forrageamento (VOZDEK; PRAMSTALLER; HICKS, 2022). Análises do comportamento de *C. elegans* têm sido usadas para verificar a relação da perda neuronal com o fenótipo, além de também analisar a associação de genes e o comportamento (SOFELA *et al*, 2021).

2.3.2.1 Ensaio de resposta de desaceleração basal

Os nematóides realizam a flexão do corpo para se movimentar (TSAI *et al*, 2020). Quando os nematóides se aproximam de comida, é diminuída a taxa de flexão, para que esse animal consiga se alimentar de forma eficaz (TSAI *et al*, 2020). Esse comportamento é mediado pelos neurônios dopaminérgicos, ou seja, nematóides que possuem neurodegeneração dopaminérgica e não conseguem diminuir a frequência de curvatura em resposta à comida (TSAI *et al*, 2020). Nesse ensaio é visto a diferença de curvatura corporal por 20 segundos entre os nematóides na presença de alimento e os nematóides sem alimento (LIU *et al*. 2021).

2.3.2.2 Ensaio de evitação ao etanol

A neurodegeneração dopaminérgica pode afetar as transmissões olfativas, cerca de 90 % dos pacientes com a DP possuem alteração olfativa (YAN *et al*, 2019). Em *C. elegans*, a função olfativa é observada pelo comportamento de quimiotaxia (YAN *et al*, 2019). Para avaliar a função quimiotática, os nematóides são expostos ao etanol, de forma aguda ou crônica, e depois são deixados por trinta minutos em uma placa dividida em quadrantes (dois quadrantes possuem etanol e dois quadrantes com água destilada) (REN *et al*, 2019). Posteriormente, é contado o número de nematóides em cada quadrante (CHALORAK *et al*, 2021b). O índice de evitar o etanol é calculado como a diferença entre o número de nematóides no quadrante controle e o número de nematóides no quadrante com etanol, dividido pelo número total de nematóides (CHALORAK *et al*, 2021b).

2.3.2.3 Ensaio de pesquisa com área restrita

Os nematóides exploram a área que está atrás de alimentos, com isso se viram com frequência, em ângulos agudos (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Quando não encontrado a comida, a área é expandida e o número de voltas diminui (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Para esse teste, os nematóides são colocados em uma placa sem alimentos e o seu movimento é gravado depois de 5 min de transferência e novamente após 30 min (CHALORAK *et al*, 2021b). O número de voltas superiores a 90° podem ser analisadas pelo programa WormLab (CHALORAK *et al*, 2021b). A taxa de pesquisa com área restrita é calculada através do número de voltas superiores a 90° por nematóides em 5 min, dividido pelo número de voltas superiores a 90° em 30 min (CHALORAK *et al*, 2021b).

2.3.2.4 Ensaio de movimentos de natação

Esse ensaio é usado para avaliar a toxicidade causada pela α -sinucleína em cepas que superexpressam essa proteína na musculatura dos nematóides (WANG *et al*, 2019). Os nematóides são colocados em placas de 96 poços, contendo tampão M9 (WANG *et al*, 2019). O movimento de natação é contado no tempo de 30 minutos e pode ser usado programas como o WMicroTracker (Phylum Tech) para avaliar essa atividade (WANG *et al*, 2019). Animais que expressam a α -sinucleína humana nos músculos possuem diminuição da atividade de natação (WANG *et al*, 2019).

2.3.2.5 Ensaio paralisia induzida por natação

Quando saudáveis, os nematóides que estão bem alimentados se debatem vigorosamente em meio líquido, mas após 6 minutos o nematoide tende a ficar paralisado, exibindo o fenótipo de *SWIP* (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Os animais com a função dopaminérgica falha, não exibem esse comportamento (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b).

2.3.3 Genética

Sendo o primeiro organismo multicelular a ter o genoma sequenciado, *C. elegans* possui todas as células identificadas, sendo no total 959 células (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). Com isso, após o sequenciamento do genoma humano, foi possível comparar e achar semelhanças entre os dois genomas (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b). *C. elegans* conserva cerca de 41% dos genes humanos (CALDWELL *et al*, 2020). Dentre eles, os genes implicados na DP: *LRRK2/lrk-1*, *PINK1/pink-1*, *PRKN/pdr-1*, *DJ-1/djr-1.1/djr-1.2* e *ATP13A2/catp-6* (COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b).

O modelo genético de *C. elegans* é utilizado para estudar formas familiares da DP, associando mutação específicas com a DP (CHIA *et al*, 2020). Porém, alguns desses modelos reproduzem características diferentes das encontradas nas doenças humanas, como exemplos modelos genéticos que não induzem perda significativa do neurônio dopaminérgico, que é a característica patológica mais importante da DP (CHIA *et al*, 2020).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Discutir o uso de *C. elegans* como modelo animal para investigar a Doença de Parkinson.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Discutir sobre as neurotoxinas mais comuns associadas a neurodegeneração dopaminérgica em *C. elegans*;

2.2.2 Relatar os genes que estão relacionados com a DP em *C. elegans*;

2.2.3 Descrever os efeitos da agregação da α -sinucleína em *C. elegans*;

2.2.4 Discutir os efeitos da exposição a neurotoxinas, mutações genéticas e agregação da α -sinucleína nos comportamentos específicos do sistema dopaminérgico em *C. elegans*.

3 METODOLOGIA

Este estudo consiste em uma revisão bibliográfica, que discute sobre o uso do nematóide *C. elegans* como modelo de estudo para a DP. A pesquisa foi realizada usando as bases de dados eletrônicas: MEDLINE (PubMed) e Science direct (Elsevier), através da consulta pelos seguintes descritores: *C. elegans* or *Caenorhabditis elegans* AND Parkinson or Parkinson's Disease.

Através da combinação dos descritores, os artigos recuperados foram analisados por meio de título e resumos, fazendo uma seleção dos artigos que: (1) utilizam *C. elegans* como modelo animal para estudar a DP; (2) ou/e que fazem a comparação entre o modelo de DP de *C. elegans*, seja genético (*lrk-1*, *pink-1*, *pdr-1*, *djr-1.1/djr-1.2*, *catp-6* e *SNCA*) ou de neurotoxinas (6-OHDA, MPTP, paraquat e rotenona), com os animais que não são modelos da DP. Foram selecionados 92 artigos dos últimos 5 anos e sem restrição de idioma.

Foi acrescentado 12 trabalhos para melhor esclarecimento sobre a doença de Parkinson e 2 trabalhos para melhor entendimento sobre a síntese de dopamina em *C. elegans*. Esses estudos foram pesquisados no Google Acadêmico, no período entre 2019- 2022 e sem restrição de idioma.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EFEITOS INDUZIDOS POR NEUROTOXINAS EM *C. ELEGANS*

Os resultados dos efeitos da exposição das neurotoxinas em *C. elegans* estão dispostos na tabela 1.

4.1.1 6-hidroxidopamina (6-OHDA)

6-OHDA é uma neurotoxina semelhante estruturalmente com a dopamina, por esse motivo, essa toxina consegue utilizar o transportador de dopamina para entrar no neurônio dopaminérgico (SAEWANEE *et al*, 2021). Em *C. elegans*, a 6-OHDA foi capaz de causar neurodegeneração dopaminérgica (YOUSSEF *et al*, 2020; CHEN *et al*, 2022; WEI; CHANG; LIAO, 2017; HSU *et al*, 2021; BOOS; SHUBBAR; GELDENHUYS, 2021; TSAI *et al*, 2017; LONG *et al*, 2022; HE *et al*, 2022; POHL *et al*, 2019) (Tabela 1), observado através da diminuição da fluorescência da cepa [dat-1p::GFP], na qual o transportador de dopamina (DAT-1) é marcado com GFP (*Green Fluorescent Protein*) (SAEWANEE *et al*, 2021).

Além disso, muitos estudos mostraram que, por causar neurodegeneração seletiva, os nematóides ([dat-1p::GFP] ou N2) expostos à 6-OHDA tiveram déficits nos comportamentos dependentes de dopamina, com (1) diminuição da taxa de desaceleração basal ao tocar a bactéria, mostrado pela diminuição da curvatura corporal (SAEWANEE *et al*, 2021; CHEN *et al*, 2022; HSU *et al*, 2021; REN *et al*, 2019; TSAI *et al*, 2017; CHALORAK *et al*, 2021a; LIU *et al*, 2021; CHALORAK *et al*, 2018; LONG *et al*, 2022; CHANG *et al*, 2021; HE *et al*, 2022). (2) Diminuição do movimento de nado (HE *et al*, 2022) e (3) alteração no comportamento de quimiotaxia (Tabela 1), observado através dos nematóides tratados previamente com etanol e depois expostos à 6-OHDA, os quais não apresentaram preferência pelo etanol, enquanto o grupo controle (também tratado previamente com etanol) apresentou preferência (REN *et al*, 2019). Ademais, os nematóides selvagens expostos à 6-OHDA tiveram diminuição da sobrevivência, quando comparados com os animais controle (HSU *et al*, 2021; MA *et al*, 2021; TSAI *et al*, 2017; CHALORAK *et al*, 2021a) (Tabela 1).

A literatura mostra que a 6-OHDA leva a danos mitocondriais e geração excessiva de EROs (CHEN *et al*, 2022). O estresse oxidativo, gerado através do aumento de EROs ou diminuição das defesas antioxidantes, é um fator de risco para algumas patologias, como a DP (OFFENBURGER *et al*, 2018b). Além disso, as EROs, como o radical superóxido, produzido por 6-OHDA, podem ser os principais fatores da morte dos neurônios dopaminérgicos (SAEWANEE *et al*, 2021). Nos estudos mais recentes, foram vistos que os nematóides expostos à 6-OHDA tiveram aumento dos radicais livres, observado através da sonda fluorescente de dihidroetídio (DHE)

(LONG *et al*, 2022) ou pelo nível do biomarcador de estresse oxidativo (malondialdeído - MDA) ou pela expressão de genes envolvidos na resposta ao estresse (MA *et al*, 2021) (Tabela 1). No estudo de Yan *et al* 2019, os animais *dat-1p::GFP* cruzados com os mutante *daf-2* e expostos à 6-OHDA, tiveram aumento da fluorescência ou seja, houve preservação dos neurônios dopaminérgicos, pois com a deleção de *daf-2*, permitiu que *daf-16* induzisse a expressão de uma resposta antioxidante (YAN *et al*, 2019) (Tabela 1). Esse resultado era esperado, pois já se sabe que a ativação de DAF-16 (semelhante ao Foxo3 em mamíferos), além de prolongar a vida, pode gerar resistência frente ao estresse (YAN *et al*, 2019). Após a exposição de 6-OHDA, os níveis de mRNA de GST-4 (Glutathione-S-transferase) e GCS-1 (gama-glutamina cisteína sintetase) aumentaram (CHANG *et al*, 2021), indicando que a exposição à 6-OHDA produz estresse oxidativo, fazendo com que genes antioxidantes sejam transcritos para amenizar os danos (CHANG *et al*, 2021).

4.1.2 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP)

A MPTP é uma molécula não tóxica, que ao sofrer oxidação pela monoamina oxidase B produz o MPP⁺, uma neurotoxina (CHIA *et al*, 2020). Devido a sua semelhança estrutural com a dopamina, o MPP⁺ entra no neurônio dopaminérgico através do transportador de dopamina (CHIA *et al*, 2020). Em *C. elegans*, o MPP⁺ causa diminuição da fluorescência dos animais transgênicos, que possuem os neurônios dopaminérgicos marcados com GFP (LEE; HAN; CHA, 2021), ou seja, o MPP⁺ é capaz de causar neurodegeneração dopaminérgica (TONG *et al*, 2021; KIM *et al*, 2021; MA *et al*, 2020) (Tabela 1). Murphy; Patel; Wimalasena (2021) relataram que os nematóides expostos ao MPP⁺ tiveram perda de conectividade, ausência dos corpos celulares e bolhas nos axônios dos neurônios dopaminérgicos. Além disso, em vários estudos foi relatado que os nematóides expostos ao MPP⁺ não mostraram uma frequência de curvatura corporal reduzida em resposta à detecção de alimentos, quando comparados aos não tratados (MA *et al*, 2020; KIM *et al*, 2021; CHEON *et al*, 2017) (Tabela 1). Também houve aumento da letalidade dos nematóides, quando comparados com o controle (JOHNSON *et al*, 2020) (Tabela 1).

Parecido com o que acontece com os mamíferos, a exposição ao MPP+ em *C. elegans* induz acúmulo dessa neurotoxina nos neurônios dopaminérgicos (CHEON *et al*, 2017). Essa neurotoxina inativa o complexo I da cadeia de transporte, causando disfunção mitocondrial e morte seletiva do neurônio dopaminérgico (CHEON *et al*, 2017; LEE; HAN; CHA, 2021) ou seja, a neurotoxicidade do MPP+ está diretamente associada ao estresse oxidativo (LEE; HAN; CHA, 2021). O estudo de Murphy; Patel; Wimalasena (2021) mostrou que realmente há produção de radicais livres, quando os nematóides são expostos ao MPP+, correlacionando com a neurodegeneração dopaminérgica.

4.1.3 Paraquat e rotenona

O paraquat (herbicida) e rotenona (inseticida) são substâncias tóxicas capazes de matar os neurônios dopaminérgicos *in vitro* (WU *et al*, 2018). Em *C. elegans*, Wu *et al* (2018) relatou diminuição da fluorescência dos neurônios dopaminérgicos, principalmente CEP e ADE, dos animais expostos a rotenona e paraquat. Além disso, Wu *et al* (2018) mostrou que os nematóides tiveram: trajeto irregular e curto, redução na velocidade média e na curvatura corporal, podendo tais distúrbios serem consequência da morte neuronal dopaminérgica (Tabela 1). Brunetti *et al* (2020) também encontrou déficits no movimento quando os nematóides foram expostos à rotenona (Tabela 1), observando que a taxa de movimentos de natação foi reduzida em mais de 80% quando comparados com o controle. Tran *et al* (2021) descreveu que os nematóides expostos ao paraquat tiveram neurodegeneração dopaminérgica (Tabela 1). Ademais, foi visto que tanto a exposição de paraquat (MARSOVA *et al*, 2020) quanto a de rotenona foi capaz de diminuir a taxa de sobrevivência dos nematóides de forma tempo e dose dependente (WU *et al*, 2018) (Tabela 1).

A disfunção mitocondrial tem sido proposta como um dos mecanismos para a degeneração dopaminérgica associada à DP, por isso vários estudos estão avaliando a integridade das mitocôndrias frente à exposição de toxinas ou em animais mutantes (WU *et al*, 2018). Wu *et al*, 2018 observou que os nematóides transgênicos com marcação fluorescente nas mitocôndrias e expostos ao paraquat e a rotenona, tiveram

diminuição na intensidade da fluorescência e na densidade das mitocôndrias. Além disso, utilizando microscopia eletrônica, foram visualizados: vesículas autofágicas e arranjo irregular das cristas mitocondriais dos nematóides expostos ao paraquat e rotenona (WU *et al*, 2018). Todos esses resultados indicam que a exposição ao paraquat e a rotenona gera uma óbvia disfunção mitocondrial (Tabela 1), e que é bastante consistente com alguns estudos *in vitro* (WU *et al*, 2018). Ademais, esses resultados revelam que o processo de mitofagia pode ser um mecanismo chave para o não desenvolvimento da DP, pois com a degradação seletiva das mitocôndrias por autofagia, haveria a prevenção do acúmulo de mitocôndria disfuncional, mantendo, assim, as células saudáveis (WU *et al*, 2018).

Tabela 1: Efeitos das neurotoxinas em diferentes cepas de *C. elegans* para o estudo da doença de Parkinson.

-* Cepa não especificada

Neurotoxinas	Cepa	Efeito	Referências
6-OHDA	[dat-1p::GFP]	Neurodegeneração dopaminérgica	YOUSSEF <i>et al</i> , 2020; CHEN <i>et al</i> , 2022; WEI; CHANG; LIAO, 2017; HSU <i>et al</i> , 2021; BOOS; SHUBBAR; GELDENHUYS, 2021; TSAI <i>et al</i> , 2017; LONG <i>et al</i> , 2022; HE <i>et al</i> , 2022; POHL <i>et al</i> , 2019.
		Diminuição da taxa de desaceleração basal	CHEN <i>et al</i> , 2022; LONG <i>et al</i> , 2022; CHANG <i>et al</i> , 2021.
		Estresse oxidativo	CHANG <i>et al</i> , 2021.
	N2	Diminuição da taxa de desaceleração basal	SAEWANEE <i>et al</i> , 2021; TSAI <i>et al</i> , 2017; CHALORAK <i>et al</i> , 2021a; LIU <i>et al</i> , 2021; CHALORAK <i>et al</i> , 2018; HE <i>et al</i> , 2022; HSU <i>et al</i> , 2021.
		Diminuição do movimento de natação	HE <i>et al</i> , 2022.
		Estresse oxidativo	MA <i>et al</i> , 2021; HSU <i>et al</i> , 2021; LONG <i>et al</i> , 2022.
		Diminuição da sobrevivência	HSU <i>et al</i> , 2021; MA <i>et al</i> , 2021; TSAI <i>et al</i> , 2017; CHALORAK <i>et al</i> , 2021a.
	-*	Evitação ao etanol (exposição crônica)	REN <i>et al</i> , 2019.

Neurotoxinas	Cepa	Efeito	Referências
MPP+	[dat-1p::GFP]	Neurodegeneração dopaminérgica	LEE; HAN; CHA, 2021; TONG <i>et al</i> , 2021; KIM <i>et al</i> , 2021; MA <i>et al</i> , 2020; MURPHY; PATEL; WIMALASENA, 2021.
		Diminuição da taxa de desaceleração basal	MA <i>et al</i> , 2020.
		Estresse oxidativo	MURPHY; PATEL; WIMALASENA, 2021.
	N2	Diminuição da taxa de desaceleração basal	CHEON <i>et al</i> , 2017; KIM <i>et al</i> , 2021.
		Aumento da letalidade	JOHNSON <i>et al</i> , 2020.
Paraquat	[dat-1p::GFP]	Neurodegeneração dopaminérgica	WU <i>et al</i> , 2018; TRAN <i>et al</i> , 2021.
	N2	Déficits motores (trajeto irregular, redução na velocidade média e na curvatura do corpo)	WU <i>et al</i> , 2018.
		Redução da sobrevivência	MARSOVA <i>et al</i> , 2020; WU <i>et al</i> , 2018.
	[mio-3p::GFP]	Disfunção mitocondrial	WU <i>et al</i> , 2018.
Rotenona	[dat-1p::GFP]	Neurodegeneração dopaminérgica	WU <i>et al</i> , 2018.
	N2	Déficits motores (trajeto irregular, redução na velocidade média e na curvatura do corpo)	WU <i>et al</i> , 2018.
		Redução da taxa de movimentos de natação	BRUNETTI <i>et al</i> , 2020.
		Redução da sobrevivência	WU <i>et al</i> , 2018.
	[mio-3p::GFP]	Disfunção mitocondrial	WU <i>et al</i> , 2018.

Fonte: Autoral, 2022.

4.2 EFEITOS DOS PRINCIPAIS GENES RELACIONADOS COM A DOENÇA DE PARKINSON EM *C. ELEGANS*

Os resultados dos efeitos dos genes relacionados com a DP em *C. elegans* estão resumidos na tabela 2. Já os resultados dos efeitos da agregação da α -sinucleína em *C. elegans* estão resumidos na tabela 3.

4.2.1 *LRRK2*

Mutações na quinase 2 de repetição rica em leucina (*LRRK2*) são causas comuns de DP familiar (CALDWELL; WILLICOTT; CALDWELL, 2020). A mutação mais comum no gene *LRRK2* é a G2019S, a qual leva ao aumento da atividade da quinase (CHANDLER *et al*, 2021).

Senchuk, Van Raamsdonk, Moore (2021) observou que durante o envelhecimento os nematóides transgênicos que expressam a *LRRK2* G2019S humana, tiveram acúmulo de GFP nos axônios e diminuição da fluorescência nos dendritos e corpo celular (Tabela 2). O acúmulo de GFP nos axônios é um achado comum em neurônios em degeneração (SENUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021). Apesar do dano neuronal, não houve redução na sobrevivência e nem alteração da longevidade dos animais *LRRK2* (G2019S), quando comparados com o controle pDat-1::GFP (SENUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021) (Tabela 2). Porém, quando os animais *LRRK2* G2019S foram cruzados com cepas com fundo mutante que prolongam a longevidade, foi visto que além da extensão do tempo de vida, houve também neuroproteção (SENUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021) (Tabela 2). A regulação positiva de *daf-16*, por exemplo, foi capaz de aumentar o tempo médio de vida dos nematóides *LRRK2* (G2019S) para 39,1 dias, além de também promover neuroproteção, enquanto que a regulação negativa da via *daf-16* teve efeito oposto (SENUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021). Esses resultados corroboram com que já dito sobre o envelhecimento ser um fator de risco para o desenvolvimento da DP, além disso, esses dados sugerem que retardar o envelhecimento pode ser neuroprotetor contra a toxicidade induzida por *LRRK2* G2019S (SENUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021).

O estresse oxidativo está presente no envelhecimento normal, mas também está associado a doenças relacionadas à idade, como as doenças neurodegenerativas (SMITA *et al*, 2017). Long *et al* (2018) mostrou que as cepas transgênicas que expressam *LRRK2* do tipo G2019S, quando expostas ao estresse térmico e oxidativo, tiveram diminuição da sobrevivência (Tabela 2). A fim de verificar a resposta contra o estresse oxidativo, ele analisou a translocação de DAF-16, cruzando a cepa DAF-16::GFP com a *LRRK2* (G2019S). Depois de expor os nematóides ao estresse térmico e oxidativo, a translocação de DAF-16 para o núcleo

foi pouca (Tabela 2). Sugerindo, assim, que G2019S bloqueia a translocação nuclear de DAF-16 sob condições de estresse, resultando na diminuição da sobrevivência (LONG *et al*, 2018).

DAF-16 é um fator de transcrição que possui um papel importante na resistência ao estresse (LONG *et al*, 2018). Uma vez que DAF-16 é ativado, ele ativa a expressão de genes como *sod-3* para aumentar a resistência ao estresse (LONG *et al*, 2018). Portanto, a ativação dessa via pode ter resultado na neuroproteção, observada no estudo de Senchuk; Van Raamsdonk; Moore (2021), enquanto que o bloqueio da translocação nuclear de DAF-16 pode ser um mecanismo pelo qual a cepa LRRK2 G2019S induz a toxicidade, visto no estudo de Long *et al* (2018).

4.2.2 *PRKN*, *PINK1* e *DJ-1*

A origem da DP ainda é incompreendida, mas há evidências que a disfunção mitocondrial é um ponto chave na patogênese dessa doença (COOPER *et al*, 2017; TSAI *et al*, 2020). Por isso, é preciso estudar os genes envolvidos na função mitocondrial, pois alguns deles já demonstraram causar formas monogênicas da DP, como o *PRKN*, *PINK* e *DJ-1* (COOPER *et al*, 2017).

PRKN codifica a parkin, proteína que faz parte do complexo multiprotéico que marca as proteínas para degradação no sistema ubiquitina-proteassoma (COOPER *et al*, 2017; HSU *et al*, 2021). Já *PINK-1* codifica PINK-1, a primeira ubiquitina-quinase conhecida, que recruta receptores de autofagia, aumentando a capacidade de parkin de marcar as mitocôndrias defeituosas, a fim de iniciar a mitofagia (COOPER *et al*, 2017; HSU *et al*, 2021). *DJ-1*, codifica uma proteína antioxidante, bastante útil na neutralização do estresse oxidativo (CHIA *et al*, 2020). *PINK1*, *PRKN* e *DJ-1* são codificados por *pink-1*, *pdr-1* e *djr-1.1* em *C. elegans*, respectivamente (COOPER *et al*, 2017).

Cooper *et al* (2017) mostrou que a deleção de *pdr-1*, *pink-1* e *djr-1.1* não afetou a longevidade do nematóide, mas alterou o comportamento de fuga induzida pelo etanol nos mutantes *pdr-1* e também reduziu a taxa de desaceleração basal dos nematóides *pdr-1* e *pink-1* (Tabela 2). Esses comportamentos dependentes de

dopamina foram observados devido à disfunção neuronal, pois não houve morte neuronal. Os nematóides *djr-1.1* não tiveram déficit significativo no comportamento dependente de dopamina (COOPER *et al*, 2017). Ademais, nesse mesmo estudo, também foi visto que houve disfunções mitocondriais, ao verificar que os nematóides com deleção *pdr-1*, *pink-1* e *djr-1.1* apresentaram morfologias mitocondriais diferentes dos animais selvagens (COOPER *et al*, 2017). O consumo do oxigênio e os níveis de ATP também estavam alterados (COOPER *et al*, 2017). Além do mais, foi visto que a via mtUPR (resposta de proteína desdobrada mitocondrial) é ativada em mutantes *pdr-1* e *pink-1* e que a interrupção de mtUPR, através da deleção de *atfs-1* causou: diminuição da taxa de defecação em todas as três cepas; diminuição da sobrevivência e do movimento de natação nos mutantes *pdr-1* e diminuição da velocidade de rastejamento nos nematóides *pdr-1* e *pink-1* (COOPER *et al*, 2017) (Tabela 2).

Quando há estresse, há também grande quantidade de proteínas não dobradas ou mal dobradas acumuladas na mitocôndria e isso ativa as chaperonas mitocondriais HSP60 e HSP70 que restauram as proteínas mal dobradas e ajudam as recém sintetizadas a dobrarem-se corretamente (JI *et al*, 2020). O mtUPR, desempenham um papel importante no controle de qualidade mitocondrial, fazendo a sinalização retrógrada da mitocôndria para o núcleo (JI *et al*, 2020). ATFS-1 é um fator de transcrição, ativado pela via mtUPR, que vai até o núcleo para ativar a expressão gênica protetora (MARTINEZ *et al*, 2017). Por isso, a ativação de mtUPR nos nematóides mutantes *pdr-1* e *pink-1* pode proteger os nematóides dos efeitos prejudiciais das mitocôndrias anormais (COOPER *et al*, 2017).

O estudo da interação entre genes e exposição tóxica é importante, pois é possível explicar o porquê de um subconjunto de população exposta a tal substância desenvolver a DP (HARTMAN *et al*, 2019). Cooper *et al* (2017) descreveu que os nematóides com a deleção *djr-1.1* expostos ao paraquat tiveram aumento da sensibilidade ao estresse oxidativo crônico. Wu *et al* (2018) relatou que os nematóides expostos ao paraquat ou rotenona tiveram aumento da expressão de *pink-1*. Além disso, as cepas com deleção de *pink-1* tiveram menor letalidade quando expostas ao paraquat ou rotenona, e apresentaram comportamentos (mudança de velocidade média, curvas corporais e comprimento de onda durante o rastejamento) mais brandos que os animais selvagens (WU *et al*, 2018). Hartman *et al* (2019) obteve resultado parecido, quando observou que os nematóides com deleção de *pink-1* foram

protegidos da neurodegeneração causada por 6-OHDA. Porém, os nematóides com deleção de *pdr-1* mostraram-se sensíveis à neurodegeneração induzida por 6-OHDA (HARTMAN *et al*, 2019). Esses efeitos opostos podem ser surpreendentes, pois esses genes estão associados à mesma via, mas esse efeito divergente já foi relatado antes (HARTMAN *et al*, 2019). HSU *et al* (2021) mostrou que os nematóides N2 expostos ao 6-OHDA tiveram diminuição da expressão de *pink-1* e *pdr-1* (Tabela 2).

A mitofagia é um processo importante para prevenção do acúmulo de mitocôndria disfuncional, mantendo as células saudáveis (WU *et al*, 2018). A indução da mitofagia em *C. elegans* está relacionada com o aumento da expressão de *pink-1* (WU *et al*, 2018) e *pdr-1*, pois esses genes estão associados a proteção das células da disfunção mitocondrial induzida pelo estresse (HARTMAN *et al*, 2019). Por isso, a deleção desses genes correlacionada com a exposição a neurotoxinas pode gerar um aumento de risco de desenvolver a DP (HARTMAN *et al*, 2019).

4.2.3 ATP13A2

O gene *ATP13A2* codifica a bomba ATPase tipo 5, a qual mantém a função do lisossoma (ANAND *et al*, 2020). Mutações no *ATP13A2* estão relacionadas à forma precoce da DP, chamada de Síndrome de Kufor Rakeb (KRS) (ANAND *et al*, 2020). *C. elegans* possui 3 genes semelhantes com *ATP13A2*, o *catp-5*, *catp-6* e *catp-7*, porém grande parte dos estudos verificam a atuação de *catp-6* devido a sua semelhança com o *ATP13A2* dos mamíferos (VRIJSEN *et al*, 2020; VAN *et al*, 2020). Em *C. elegans*, foi visto que a deleção de *catp-6* reduziu a expectativa de vida dos nematóides (BAESLER *et al*, 2019) (Tabela 2). Esse resultado revela que a ausência de CATP-6 interfere no envelhecimento dos nematóides (BAESLER *et al*, 2019).

Anand *et al* (2020) relatou que os nematóides com deleção de *catp-6* tiveram diminuição na taxa dos movimentos de natação e danos mitocondriais, vistos através do corante tetrametilrodamina. Também foi observado que os mutantes *catp-6* foram sensíveis à rotenona (ANAND *et al*, 2020). Esse resultado foi parecido com o de Vrijssen *et al* (2020), que relatou aumento do superóxido dos animais com deleção do gene *catp-6*, que foram expostos à rotenona. O estresse oxidativo refletiu no aumento da letalidade, que foi parcialmente resgatada, quando houve a reexpressão de *catp-*

6. (Tabela 2). Esses resultados revelam que o *catp-6* tem uma função protetora em *C. elegans*, tendo um papel importante na resposta ao estresse (VRIJSEN *et al*, 2020).

Tabela 2: Efeitos da deleção ou expressão de genes associados a DP em cepas transgênicas de *C. elegans* usadas para estudar a doença de Parkinson.

Gene	Cepa	Efeitos	Referências
LRRK2	[Pdat-1::GFP, Pdat-1::LRRK2(G2019S), lin-15(+)]	A expressão de LRRK2 (G2019S) humano causou neurodegeneração, porém não alterou a sobrevivência	SENUCHUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021.
	daf-2(e1370) III; cwrls856 [Pdat-1::GFP, Pdat-1::LRRK2(G2019S), lin-15(+)]	A deleção de <i>daf-2</i> da cepa que expressa LRRK2 (G2019S) humano, causou aumento da longevidade e neuroproteção	SENUCHUK; VAN RAAMSDONK; MOORE, 2021.
	Punc51p::LRRK2(G2019S)	A expressão de LRRK2 (G2019S) humano, causou diminuição da sobrevivência quando os nematóides passaram por estresse oxidativo ou térmico	LONG <i>et al</i> , 2018.
	Punc51p::LRRK2(G2019S), [DAF-16p::DAF-16a/b::GFP + rol-6]	Diminuição da translocação de DAF-16 para o núcleo quando os animais que expressavam LRRK2 (G2019S) humano e passaram por estresse oxidativo ou térmico	LONG <i>et al</i> , 2018.
	lrk-1(tm1898) com o plasmídeo (P myo-2 ::V1S e P flp-21 ::SV2-ICR-DsRed) injetado	Diminuição dos agregados de α -sinucleína, diminuição de bolhas axonais e fragmentações e melhora na expectativa de vida na cepa com deleção de <i>lrk-1</i>	BAE <i>et al</i> , 2018.
PRKN	pdr-1(gk448)	Deleção de <i>pdr-1</i> não alterou a sobrevivência, mas foi visto diminuição do comportamento de evitar o etanol e da taxa de desaceleração basal	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	pdr-1(gk448); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	Deleção de <i>pdr-1</i> não causou neurodegeneração	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	pdr-1(gk448); bclIs78[Pmyo-3::mitoGFP]	Deleção de <i>pdr-1</i> alterou a morfologia e função mitocondrial	COOPER <i>et al</i> , 2017

Gene	Cepa	Efeitos	Referências
PRKN	pdr-1(gk448); zcls13[Phsp-6::GFP]	Deleção de <i>pdr-1</i> ativou a mitoUPR	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	pdr-1(gk448); atfs-1(gk3094); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	Deleção de <i>pdr-1</i> e da <i>atfs-1</i> causou diminuição da sobrevivência, do movimento de natação e velocidade de rastejamento nos nematóides	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	N2	Diminuição da expressão de <i>pdr-1</i> dos nematóides expostos a 6-OHDA	HSU <i>et al</i> , 2021; TSAI <i>et al</i> , 2020.
	pdr-1 (tm598); vtIs1 [P dat-1 ::GFP, rol-6 (su1006)]	A cepa com deleção de <i>pdr-1</i> mostrou-se ser sensíveis à neurodegeneração induzida por 6-OHDA	HARTMAN <i>et al</i> , 2019.
	pdr-1(gk448); jerIs004[Peft-3::a-syn:TagRFP:let-858_unc-119(+); unc-119(-);vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>pdr-1</i> na cepa que expressa α -sinucleína causou neurodegeneração e diminuição do movimento de natação	COOPER <i>et al</i> , 2018a.
PINK1	<i>pink-1 (ok3538)</i>	A deleção de <i>pink-1</i> causou diminuição da taxa de desaceleração basal	COOPER <i>et al</i> , 2017.
		A deleção de <i>pink-1</i> gerou menor letalidade, comportamento de mudança de velocidade média, curvas corporais e comprimento de onda durante o rastejamento mais brandos, quando expostos ao paraquat ou rotenona	WU <i>et al</i> , 2018.
	pink-1(ok3538); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>pink-1</i> não causou neurodegeneração	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	pink-1(ok3538); bcls78[Pmyo-3::mitoGFP]	A deleção de <i>pink-1</i> alterou a morfologia e função mitocondrial	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	pink-1(ok3538); zcls13[Phsp-6::GFP]	A deleção de <i>pink-1</i> ativou a mtUPR	COOPER <i>et al</i> , 2017.
	pink-1(ok3538); atfs-1(gk3094); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>pink-1</i> e <i>atfs-1</i> gerou diminuição da velocidade de rastejamento nos nematóides	COOPER <i>et al</i> , 2018.
	[pink-1p::pink-1::GFP + myo-2p::mCherry + herring sperm DNA]	Aumento da expressão de <i>pink-1</i> quando os animais foram expostos ao paraquat ou rotenona	WU <i>et al</i> , 2018.

Gene	Cepa	Efeitos	Referências
PINK1	N2	Diminuição da expressão de <i>pink-1</i> dos nematóides expostos a 6-OHDA	HSU <i>et al</i> , 2021; TSAI <i>et al</i> , 2020.
	pink-1 (tm1779); vtIs1 [P dat-1::GFP, rol-6 (su1006)]	A deleção de <i>pink-1</i> protegeu o nematoide da neurodegeneração causada por 6-OHDA	HARTMAN <i>et al</i> , 2019.
	pink-1(ok3538); jrls004[Peft-3::a-syn:TagRFP:let-858_unc-119(+); unc-119(-); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>pink-1</i> na cepa que expressa a α -sinucleína causou neurodegeneração e diminuição do movimento de natação	COOPER <i>et al</i> , 2018a.
DJ-1	djr-1.1(tm918)	A deleção de <i>djr-1.1</i> não causou mudança do comportamento dependente de dopamina	COOPER <i>et al</i> , 2017.
		A deleção de <i>djr-1.1</i> aumentou a sensibilidade ao estresse oxidativo crônico quando os animais foram expostos ao paraquat	COOPER <i>et al</i> , 2018.
	djr-1.1(tm918); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>djr-1.1</i> não gerou neurodegeneração	COOPER <i>et al</i> , 2018.
	djr-1.1(tm918); bclIs78[Pmyo-3::mitoGFP]	A deleção de <i>djr-1.1</i> alterou a morfologia e função mitocondrial	COOPER <i>et al</i> , 2019.
	djr-1.1(tm918); djr-1.2(tm1346); jrls004[Peft-3::a-syn::TagRFP:let-858_unc-119(+); unc-119(-); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>djr-1.1</i> na cepa que expressa α -sinucleína causou diminuição do movimento de natação	COOPER <i>et al</i> , 2018a.
ATP13A2	W08D2.5(ok3473) IV.	A deleção de <i>catp-6</i> reduziu a sobrevivência	BAESLER <i>et al</i> , 2019.
		A deleção de <i>catp-6</i> diminuiu a taxa dos movimentos de natação e danos mitocondriais	ANAND <i>et al</i> , 2020.
		A deleção de <i>catp-6</i> aumentou o superóxido e a letalidade dos animais expostos à rotenona	VRIJSEN <i>et al</i> , 2020.

Gene	Cepa	Efeitos	Referências
ATP13A2	catp -6 (ok3473); jerIs004[Peft-3::a- syn:TagRFP:let-858_unc- 119(+)] II; unc-119(-);vtIs7[Pdat- 1::GFP(pRB490)]	A deleção de <i>catp</i> -6 na cepa que expressa α -sinucleína causou diminuição do movimento de natação	COOPER <i>et al</i> , 2018a.

Fonte: Autoral, 2022.

4.2.4 α -sinucleína

O gene *SNCA* humano codifica α -sinucleína, a agregação anormal dessa proteína forma os corpos de Lewy, presente em pacientes com a DP (PERNI *et al*, 2021). Sabe-se que a agregação da α -sinucleína pode ser neurotóxica, pois os agregados dessa proteína podem elevar os níveis de ERO, causando, assim, estresse oxidativo (CHALORAK *et al*, 2018). *C. elegans* não possui gene semelhante ao *SNCA*, por isso os modelos transgênicos superexpressam as formas mutantes e selvagens da α -sinucleína humana (ALVAREZ *et al*, 2020; COOPER; VAN RAAMSDONK, 2018b; MA, L. *et al*, 2018). Podemos encontrar cepas transgênicas de *C. elegans* que expressam a α -sinucleína em: (1) células musculares da parede do corpo (2) em neurônios dopaminérgicos e (3) todos os neurônios (ALVAREZ *et al*, 2020).

A utilização de cepas que expressam a α -sinucleína humana nas células musculares é vantajosa, pois a ligação da proteína fluorescentes à α -sinucleína permite visualizar e localizar o acúmulo dessa proteína (LONG *et al*, 2022). Além disso, é visto os efeitos da agregação no comportamento locomotor do nematóide, assemelhando-se com a sintomatologia da DP (LONG *et al*, 2022).

A agregação da α -sinucleína está relacionada com a idade do nematóide (HUGHES *et al*, 2022). Alguns estudos relataram que os animais que expressam a α -sinucleína nas paredes celulares, tiveram aumento de agregados dependente da idade (PERNI *et al*, 2018; HUGHES *et al*, 2022). Hardenberg *et al* (2021) revelou que a α -sinucleína se encontra no estado difuso em grande parte da vida adulta do nematoide (Dia 1 a 11) e somente na velhice que começaram a formar as agregações (Dias 13 a 15). A presença de α -sinucleína nas células musculares do nematoide pode

alterar os comportamentos relacionados ao movimento (YOUSSEF *et al*, 2020; LONG *et al*, 2022). Alguns estudos observaram: diminuição na curvatura corporal (PUJOLS *et al*, 2018; PERNI *et al*, 2018; HUGHES *et al*, 2022), aumento da taxa de paralisia (PERNI *et al*, 2018) e diminuição no movimento de natação nos nematóides (BRUNETTI *et al*, 2020). Mesmo com os efeitos motores, alguns estudos mostraram que a agregação de α -sinucleína humana nas células musculares dos nematóides, não interferiu na sobrevivência do nematóide (HUGHES *et al*, 2022; WANG *et al*, 2019). Contudo, Chalorak *et al* (2021b) revelou que a sobrevivência foi reduzida em 22,20%, quando comparado com nematóides do tipo selvagem (Tabela 3).

Ao verificar o efeito da expressão de α -sinucleína nos neurônios dopaminérgicos, vários estudos relataram neurodegeneração dopaminérgica dependente da idade, observados pela diminuição da fluorescência (TRIPODI *et al*, 2020; POHL *et al*, 2019; CHALORAK *et al*, 2021b). Os neurônios dopaminérgicos são mecanorreceptores, sensíveis ao toque áspero e feromônio (ZHANG *et al*, 2018). Além do mais, são responsáveis pelo comportamento motor, por isso, danos nesses neurônios causam desordens nos movimentos, semelhante com o que acontece com pacientes com DP (ZHANG *et al*, 2018). Diante disso, Chalorak *et al* (2021b) observou diminuição na desaceleração basal, evitação do etanol e na busca de área restrita nos nematóides que expressam a α -sinucleína nos neurônios dopaminérgicos. E Dominguez *et al* (2021) observou disfunção no comportamento de natação sugerindo que a expressão de α -sinucleína afeta a homeostase da dopamina por apresentar disfunções nos movimentos. Além disso, foi visto que a sobrevivência foi diminuída em 7,45% (CHALORAK *et al*, 2021b) (Tabela 3).

Os animais transgênicos com a expressão de α -sinucleína ubiquamente tiveram morfologia neuronal dopaminérgica alterada, com a presença de vacúolos nos dendritos (COOPER *et al*, 2018a). Os danos nos neurônios dopaminérgicos refletiram na diminuição da função neuronal, por isso, foi visto diminuição da taxa de desaceleração basal (COOPER *et al*, 2018a) (Tabela 3). Os resultados sugerem que, embora a expressão de α -sinucleína não seja suficiente para causar perda neuronal, ela leva à disfunção neuronal com o avançar da idade (COOPER *et al*, 2018a).

Ademais, a descoberta de outros genes, além do *SNCA*, relacionados com a DP monogênica pode explicar o porquê de a DP ser uma doença que envolve o acúmulo de α -sinucleína, pois alguns desses genes possuem atividades que podem

afetar a função ou agregação da α -sinucleína (COOPER *et al*, 2018a). A diminuição de Parkina e PINK1 em camundongos, por exemplo, leva ao aumento da agregação de α -sinucleína, enquanto que a superexpressão de DJ-1 e ATP13A2 diminui a agregação da α -sinucleína em modelos de levedura (COOPER *et al*, 2018a). Em *C. elegans*, a deleção de *pink-1* e *pdr-1* nos nematóides que expressam α -sinucleína ubiquamente resultou em perda neuronal dopaminérgica. Além disso, a deleção de *pdr-1*, *pink-1*, *djr-1.1* e *catp-6* nos nematóides que expressam α -sinucleína ubiquamente levou a diminuição do movimento de natação (COOPER *et al*, 2018a) (Tabela 3).

As cepas mutantes que expressam α -sinucleína no músculo faríngeo e nos neurônios e que tinham deleção do gene *lrk-1* (semelhante ao *LRKK2* humano) não tiveram agregação com o envelhecimento (BAE *et al*, 2018). Além disso, foi visto diminuição dos vacúolos axonais e fragmentações e melhora na longevidade, quando comparados com os nematóides que expressavam α -sinucleína no músculo faríngeo e nos neurônios e que não tinham deleção do gene *lrk-1* (BAE *et al*, 2018) (Tabela 3). Ou seja, a deleção do gene *lrk-1* interfere na propagação da α -sinucleína, diminuindo a propagação e melhorando os efeitos nocivos da α -sinucleína (BAE *et al*, 2018). A deleção do gene *Lrrk2* em ratos tiveram efeitos semelhantes aos observados nos nematóides mutantes *lrk-1* (BAE *et al*, 2018).

As mutações de ponto único são importantes para o desenvolvimento da DP familiar, até o momento são conhecidas duas mutações (A30P e A30G) na região N-terminal e seis (E46K, H50Q G51D, A53T, A53V e A53E) na região NAC (ULAMEC *et al*, 2022). Dentre as mutações no gene *SNCA*, as substituições de aminoácidos A30P e A53T demonstraram estar associados a DP familiar (PERNI *et al*, 2021). PERNI *et al* (2021) relatou que os nematóides com a mutação A30P apresentam redução da velocidade de movimento e aumento da taxa de paralisia (PERNI *et al*, 2021). Enquanto que os nematóides com mutação A53T tiveram efeito mais dramático, apresentaram frequência de curvatura corporal e velocidade de movimento diminuídas e aumento da taxa de paralisia (PERNI *et al*, 2021). Huang *et al* (2021) encontrou resultados semelhantes quando verificou o efeito da expressão da α -sinucleína A53T, relatando curvatura corporal e movimento de natação prejudicados. Além disso, houve também diminuição da sobrevivência e danos nos neurônios dopaminérgicos desses nematóides (HUANG *et al*, 2021) (Tabela 3).

Como a DP está relacionada com a agregação de proteínas e estresse oxidativo, o aumento da via ubiquitina-proteassoma, da autofagia (TSAI *et al*, 2020) e de genes relacionado com a resposta antioxidante pode ser útil na prevenção dessa doença (HAQUE *et al*, 2020). Alguns estudos revelaram que a via PINK1/parkin é capaz de proteger as células de diversos tipos de estresse celular, pois atua através do sistema ubiquitina-proteassoma (SUP) para promover a mitofagia (TSAI *et al*, 2020). Hsu *et al* (2021) e Tsai *et al* (2020) observou que os nematóides que expressavam α -sinucleína na parede corporal tiveram diminuição da expressão de *pink-1* (semelhante ao *PINK-1* humano) e *pdr-1* (semelhante ao *PRKN* humano). O aumento da expressão de *pink-1* e *pdr-1* pode elevar a atividade ubiquitina-proteassoma e da autofagia, podendo assim reduzir a agregação da α -sinucleína (TSAI *et al*, 2020; YANG *et al*, 2020). Portanto, garantir o funcionamento da SUP e da autofagia pode ser fundamental para a prevenção da DP (TSAI *et al*, 2020). Além disso, já foi relatado que a ativação de DAF-16 em *C. elegans* protege os neurônios contra a proteotoxicidade (HAQUE *et al*, 2020). Haque *et al* (2020) observou que o silenciamento de *daf-2* na cepa que expressa α -sinucleína nas células musculares, causou diminuição da expressão da α -sinucleína, visualizada pela diminuição da fluorescência (Tabela 3). Esse resultado foi esperado, pois o silenciamento de DAF-2 resultou no deslocamento de DAF-16 para o núcleo, permitindo a transcrição de enzimas antioxidantes (HAQUE *et al*, 2020).

Tabela 3: Efeitos da agregação de α -sinucleína em diferentes cepas de *C. elegans*.

α -sinucleína	Cepa	Efeito	Referências
Parede corporal	pkIs2386 [Punc-54:: α -SYN::YFP]	Agregados durante a velhice	HARDENBERG <i>et al</i> , 2021.
		Diminuição na flexão corporal	PUJOLS <i>et al</i> , 2018; PERNI <i>et al</i> , 2018.
		Aumento da taxa de paralisia	PERNI <i>et al</i> , 2018.
		Silenciamento de <i>daf-2</i> causou diminuição da expressão de α -sinucleína	HAQUE <i>et al</i> , 2020.
	pkIs2386 [Punc-54:: α -SYN::YFP]	Diminuição da expressão de <i>lrk-1</i> , <i>pink-1</i> e <i>pdr-1</i>	TSAI R. <i>et al</i> , 2020.
		Diminuição da expressão de <i>pink-1</i> e <i>pdr-1</i>	HSU <i>et al</i> , 2021.

α -sinucleína	Cepa	Efeito	Referências
Parede corporal	(grk-1 (ok1239), pkIs2386 [unc-54 p:: α -sinucleína::YFP + unc-119 (+)]),	Diminuição no movimento de natação nos nematóides	BRUNETTI <i>et al</i> , 2020.
	pkIs2386 (unc-54p::alfa-sinucleína::YFP + unc-119 (+))	Sem interferência na sobrevivência	HUGHES <i>et al</i> , 2022; WANG <i>et al</i> , 2019.
		Diminuição da sobrevivência	CHALORAK <i>et al</i> , 2021b.
		Diminuição na flexão corporal	HUGHES <i>et al</i> , 2022.
	zglIs17[P(unc-54)::asynA30P::YFP]	A expressão de α -sinucleína A30P causou redução da velocidade de movimento e aumento da taxa de paralisia	PERNI <i>et al</i> , 2021.
	zglIs52[P(unc54)::asyn(A53T)::YFP]	A expressão de α -sinucleína A53T causou frequência de curvatura corporal e velocidade de movimento diminuídas e aumento da taxa de paralisia	PERNI <i>et al</i> , 2021.
Nos neurônios dopaminérgicos	[pdat-1::haSyn; pdat-1::DsRed]	Neurodegeneração	TRIPODI <i>et al</i> , 2020.
		Neurodegeneração nos nematóides expostos a 6-OHDA	POHL <i>et al</i> , 2019.
	[Pdat-1:GFP; Pdat-1: α -syn]	Neurodegeneração, diminuição na desaceleração basal, na taxa de evitação do etanol e na busca de área restrita	CHALORAK <i>et al</i> , 2021b.
	[Pdat-1:GFP; Pdat-1: α -syn]	Diminuição da sobrevivência	CHALORAK <i>et al</i> , 2021b.
	nbIs70[dat-1p::gfp; dat-1p::SNCA Wt]	Disfunção no comportamento de natação	DOMINGUEZ <i>et al</i> , 2021.
Em todos os neurônios	dat-1p::GFP; aex-3p:: α -syn(A53T)	A expressão de α -sinucleína A53T causou danos aos neurônios dopaminérgicos, alteração na curvatura corporal, movimento de natação e redução da sobrevivência	HUANG <i>et al</i> , 2021.
Ubiquamente	[Peft-3:: α -sinucleína:TagRF	Neurodegeneração	COOPER <i>et al</i> , 2018a.
	P:let-858_unc-119(+); unc-119(-); vtIs7[Pdat-1::GFP(pRB490)],	Diminuição da taxa de desaceleração basal	COOPER <i>et al</i> , 2018a.
		Sem interferência na sobrevivência	COOPER <i>et al</i> , 2018a.

Fonte: Autoral, 2022.

5 CONCLUSÃO

Apesar do avanço científico, a DP continua sendo uma doença progressiva de causa desconhecida, sem cura e com tratamentos limitados e pouco eficazes. Por esses motivos, é preciso estudar a patogênese dessa doença, entendendo mais sobre o papel dos fatores genéticos e ambientais, para que assim seja possível descobrir novos fármacos mais eficazes, garantindo a melhoria na qualidade de vida do paciente. O nematóide *C. elegans* possui diversas vantagens para o estudo da DP, dentre elas a conservação do sistema de neurotransmissão e a produção de neurotransmissores dopaminérgicos, os quais estão diminuídos na DP. A diminuição da dopamina reflete nos sintomas motores encontrados nessa enfermidade e assim como os humanos, a neurodegeneração dopaminérgica está relacionada com alguns comportamentos do nematóide. Além disso, o uso de modelos neurotóxicos e genéticos pode fornecer informações sobre as vias e genes envolvidos na DP, além de possibilitar a identificação e testagem de novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- AKINYEMI, Ayodele Jacob *et al.* Lead (Pb) exposure induces dopaminergic neurotoxicity in *Caenorhabditis elegans*: Involvement of the dopamine transporter. **Toxicology reports**, v. 6, p. 833-840, 2019.
- ALVAREZ, Javier *et al.* The role of Ca²⁺ signaling in aging and neurodegeneration: insights from *Caenorhabditis elegans* models. **Cells**, v. 9, n. 1, p. 204, 2020.
- ANAND, Nikhita *et al.* Dysregulated iron metabolism in *C. elegans* catp-6/ATP13A2 mutant impairs mitochondrial function. **Neurobiology of disease**, v. 139, p. 104786, 2020.
- APFELD, Javier; FONTANA, Walter. Age-dependence and aging-dependence: neuronal loss and lifespan in a *C. elegans* model of Parkinson's disease. **Biology**, v. 7, n. 1, p. 1, 2017.
- ARAÚJO, Mariana Honório Azevedo Galvão de *et al.* Alterações vasculares da retina na doença de Parkinson detectadas por angiografia por tomografia de coerência óptica–revisão sistemática e metanálise. 2021
- BAE, Eun-Jin *et al.* LRRK2 kinase regulates α -synuclein propagation via RAB35 phosphorylation. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2018.
- BAESLER, Jessica *et al.* Zn homeostasis in genetic models of Parkinson's disease in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 55, p. 44-49, 2019.
- BEILINA, Alexandra *et al.* The Parkinson's disease protein LRRK2 interacts with the GARP complex to promote retrograde transport to the trans-Golgi network. **Cell reports**, v. 31, n. 5, p. 107614, 2020.
- BOOS, Jacob R.; SHUBBAR, Ahmed; GELDENHUYS, Werner J. Dual monoamine oxidase B and acetylcholine esterase inhibitors for treating movement and cognition deficits in a *C. elegans* model of Parkinson's disease. **Medicinal Chemistry Research**, v. 30, n. 5, p. 1166-1174, 2021.
- BRUNETTI, Giovanni *et al.* Healthspan Maintenance and Prevention of Parkinson's-like Phenotypes with Hydroxytyrosol and Oleuropein Aglycone in *C. elegans*. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 7, p. 2588, 2020.
- CALDWELL, Kim A.; THIES, Jennifer L.; CALDWELL, Guy A. No Country for Old Worms: A systematic review of the application of *C. elegans* to investigate a bacterial source of environmental neurotoxicity in Parkinson's disease. **Metabolites**, v. 8, n. 4, p. 70, 2018.

CALDWELL, Kim A.; WILLICOTT, Corey W.; CALDWELL, Guy A. Modeling neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Disease Models & Mechanisms**, v. 13, n. 10, p. dmm046110, 2020.

CARRETE, Henrique. A doença de Parkinson e os parkinsonismos atípicos: a importância da ressonância magnética como potencial biomarcador. **Radiologia Brasileira**, v. 50, p. 5-6, 2017.

CASCELLA, Roberta *et al.* Probing the origin of the toxicity of oligomeric aggregates of α -synuclein with antibodies. **ACS Chemical Biology**, v. 14, n. 6, p. 1352-1362, 2019.

CHALORAK, Pawanrat; DHARMASAROJA, Permphan; MEEMON, Krai. Downregulation of eEF1A/EFT3-4 enhances dopaminergic neurodegeneration after 6-OHDA exposure in *C. elegans* model. **Frontiers in neuroscience**, v. 14, p. 303, 2020.

CHALORAK, Pawanrat *et al.* Holothuria scabra extracts exhibit anti-Parkinson potential in *C. elegans*: A model for anti-Parkinson testing. **Nutritional Neuroscience**, v. 21, n. 6, p. 427-438, 2018.

CHALORAK, Pawanrat *et al.* Neurorescue Effects of Frondoside A and Ginsenoside Rg3 in *C. elegans* Model of Parkinson's Disease. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4843, 2021a.

CHALORAK, Pawanrat *et al.* Diterpene glycosides from *Holothuria scabra* exert the α -synuclein degradation and neuroprotection against α -synuclein-Mediated neurodegeneration in *C. elegans* model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 279, p. 114347, 2021b.

CHANDLER, Rachael J. *et al.* Modelling the functional genomics of Parkinson's disease in *Caenorhabditis elegans*: LRRK2 and beyond. **Bioscience Reports**, v. 41, n. 9, 2021

CHANG, Chun-Han *et al.* N- γ -(L-glutamyl)-L-selenomethionine shows neuroprotective effects against Parkinson's disease associated with SKN-1/Nrf2 and TRXR-1 in *Caenorhabditis elegans*. **Phytomedicine**, v. 92, p. 153733, 2021.

CHEN, Kevin S. *et al.* Small molecule inhibitors of α -synuclein oligomers identified by targeting early dopamine-mediated motor impairment in *C. elegans*. **Molecular neurodegeneration**, v. 16, n. 1, p. 1-25, 2021.

CHEN, Qiu-Xu *et al.* Galangin Exhibits Neuroprotective Effects in 6-OHDA-Induced Models of Parkinson's Disease via the Nrf2/Keap1 Pathway. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 8, p. 1014, 2022.

CHEON, Se-Myeong *et al.* *Sorbus alnifolia* protects dopaminergic neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 481-486, 2017.

CHIA, S. J. *et al.* Historical Perspective: Models of Parkinson's Disease. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 7 p. 2464, 2020,

COOPER, Jason F. *et al.* Activation of the mitochondrial unfolded protein response promotes longevity and dopamine neuron survival in Parkinson's disease models. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2017.

COOPER, Jason F. *et al.* α -synuclein expression from a single copy transgene increases sensitivity to stress and accelerates neuronal loss in genetic models of Parkinson's disease. **Experimental neurology**, v. 310, p. 58-69, 2018a.

COOPER, Jason F.; VAN RAAMSDONK, Jeremy M. Modeling Parkinson's Disease in *C. elegans*. **Journal of Parkinson's disease**, v. 8, n. 1, p. 17-32, 2018b.

DA CONCEIÇÃO, Ritaley Nogueira dos Santos *et al.* Análise Epidemiológica de pacientes com doença de Parkinson nos últimos 5 anos nas regiões brasileiras. **Revista de Saúde**, v. 13, n. 1, p. 61-66, 2022.

DA SILVA SANTOS, Sheyla; DE LIMA FERRO, Thauan Narciso. Atuação do fisioterapeuta neurofuncional no paciente com Doença de Parkinson: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e5211225363-e5211225363, 2022.

DE SOUZA FIALHO, Thainá Rodrigues *et al.* Farmacoterapia da doença de parkinson-Uma revisão bibliográfica Parkinson's disease pharmacotherapy-A literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 92588-92596, 2021.

DHAKAL, Rabin *et al.* Review of biological effects of acute and chronic radiation exposure on *Caenorhabditis elegans*. **Cells**, v. 10, n. 8, p. 1966, 2021.

DINDA, Biswanath *et al.* Therapeutic potentials of plant iridoids in Alzheimer's and Parkinson's diseases: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 169, p. 185-199, 2019.

DOHERTY, Ciaran *et al.* A short motif in the N-terminal region of α -synuclein is critical for both aggregation and function. **Nature structural & molecular biology**, v. 27, n. 3, p. 249-259, 2020.

DOMINGUEZ-MEIJIDE, Antonio *et al.* Doxycycline inhibits α -synuclein-associated pathologies in vitro and in vivo. **Neurobiology of Disease**, v. 151, p. 105256, 2021.

DOS SANTOS, Ramon Paulinelli Aragão *et al.* Uso da Cannabis e seus derivados na doença de Parkinson: Use of Cannabis and its derivatives in parkinson's disease. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 6, p. 22534-22545, 2022.

FERNANDES, Itana; DE SOUZA ANDRADE FILHO, Antônio. Estudo clínico-epidemiológico de pacientes com doença de Parkinson em Salvador-Bahia. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v. 22, n. 1, 2018.

GAETA, Anthony L.; CALDWELL, Kim A.; CALDWELL, Guy A. Found in translation: the utility of *C. elegans* alpha-synuclein models of Parkinson's disease. **Brain sciences**, v. 9, n. 4, p. 73, 2019.

GARCIA-MORENO, Jesús Calahorra et al. Tyrosol, a simple phenol from EVOO, targets multiple pathogenic mechanisms of neurodegeneration in a *C. elegans* model of Parkinson's disease. **Neurobiology of aging**, v. 82, p. 60-68, 2019.

GIUNTI, Sebastián et al. Drug discovery: Insights from the invertebrate *Caenorhabditis elegans*. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 9, n. 2, p. e00721, 2021.

HAQUE, Rizwanul et al. Human insulin modulates α -synuclein aggregation via DAF-2/DAF-16 signalling pathway by antagonising DAF-2 receptor in *C. elegans* model of Parkinson's disease. **Oncotarget**, v. 11, n. 6, p. 634, 2020.

HARDENBERG, Maarten C. et al. Observation of an α -synuclein liquid droplet state and its maturation into Lewy body-like assemblies. **Journal of molecular cell biology**, v. 13, n. 4, p. 282-294, 2021.

HARTMAN, Jessica H. et al. Genetic defects in mitochondrial dynamics in *Caenorhabditis elegans* impact ultraviolet C radiation-and 6-hydroxydopamine-induced neurodegeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3202, 2019.

HE, Li et al. Synthesis of Melatonin Derivatives and the Neuroprotective Effects on Parkinson's Disease Models of *Caenorhabditis elegans*. **Frontiers in chemistry**, v. 10, 2022.

HSU, Yu-Ling et al. Peiminine reduces ARTS-mediated degradation of XIAP by modulating the PINK1/parkin pathway to ameliorate 6-hydroxydopamine toxicity and α -synuclein accumulation in Parkinson's disease models in vivo and in vitro. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 10240, 2021.

HUANG, Xiaobing et al. Human amyloid beta and α -synuclein co-expression in neurons impair behavior and recapitulate features for Lewy body dementia in *Caenorhabditis elegans*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1867, n. 10, p. 166203, 2021.

HUGHES, Samantha et al. Using a *Caenorhabditis elegans* Parkinson's Disease Model to Assess Disease Progression and Therapy Efficiency. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 5, p. 512, 2022.

Ji, Ting et al. Does perturbation in the mitochondrial protein folding pave the way for neurodegeneration diseases?. **Ageing Research Reviews**, v. 57, p. 100997, 2020.

JOHNSON, Shelby L. et al. Levodopa-reduced *Mucuna pruriens* seed extract shows neuroprotective effects against Parkinson's disease in murine microglia and human neuroblastoma cells, *Caenorhabditis elegans*, and *Drosophila melanogaster*. **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 1139, 2018.

JOHNSON, Shelby L. et al. Equol, a blood–brain barrier permeable gut microbial metabolite of dietary isoflavone daidzein, exhibits neuroprotective effects against neurotoxins induced toxicity in human neuroblastoma sh-sy5y cells and *Caenorhabditis elegans*. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, n. 4, p. 512-517, 2020.

KIM, Soobin et al. Synthesis of Proposed Structure of Aaptoline A, a Marine Sponge-Derived 7, 8-Dihydroxyquinoline, and Its Neuroprotective Properties in *C. elegans*. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 5964, 2021.

LEE, Seung Hyun; HAN, Young Taek; CHA, Dong Seok. Neuroprotective effect of damaurone D in a *C. elegans* model of Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, v. 747, p. 135623, 2021.

LI, Hongli et al. Pepper component 7-ethoxy-4-methylcoumarin, a novel dopamine D2 receptor agonist, ameliorates experimental Parkinson's disease in mice and *Caenorhabditis elegans*. **Pharmacological Research**, v. 163, p. 105220, 2021

LI, Yang et al. Copper and iron ions accelerate the prion-like propagation of α -synuclein: a vicious cycle in Parkinson's disease. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 562-573, 2020.

LIANG, Joseph JH; MCKINNON, Issa A.; RANKIN, Catharine H. The contribution of *C. elegans* neurogenetics to understanding neurodegenerative diseases. **Journal of Neurogenetics**, v. 34, n. 3-4, p. 527-548, 2020.

LIU, Ying et al. Velvet Antler Methanol Extracts Ameliorate Parkinson's Disease by Inhibiting Oxidative Stress and Neuroinflammation: From *C. elegans* to Mice. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2021, 2021.

LONG, Simei et al. G2019S LRRK2 increases stress susceptibility through inhibition of DAF-16 nuclear translocation in a 14-3-3 associated-manner in *Caenorhabditis elegans*. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, p. 782, 2018.

LONG, Tao et al. Ferulic Acid Exerts Neuroprotective Effects via Autophagy Induction in *C. elegans* and Cellular Models of Parkinson's Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, 2022.

MOR, Danielle E.; DANIELS, Malcolm J.; ISCHIROPOULOS, Harry. The usual suspects, dopamine and alpha-synuclein, conspire to cause neurodegeneration. **Movement Disorders**, v. 34, n. 2, p. 167-179, 2019.

MOR, Danielle E.; ISCHIROPOULOS, Harry. The convergence of dopamine and α -synuclein: implications for Parkinson's disease. **Journal of experimental neuroscience**, v. 12, p. 1179069518761360, 2018.

MURPHY, David; PATEL, Harshil; WIMALASENA, Kandatege. *Caenorhabditis elegans* Model Studies Show MPP+ Is a Simple Member of a Large Group of Related Potent Dopaminergic Toxins. **Chemical Research in Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 1275-1285, 2021.

MA, Jing *et al.* Protective effects of baicalin in a *Caenorhabditis elegans* model of Parkinson's disease. **Toxicology Research**, v. 10, n. 3, p. 409-417, 2021.

MA, Liang *et al.* *Caenorhabditis elegans* as a model system for target identification and drug screening against neurodegenerative diseases. **European Journal of Pharmacology**, v. 819, p. 169-180, 2018.

MA, Xiaoli *et al.* Dietary supplementation with peptides from sesame cake alleviates Parkinson's associated pathologies in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 103737, 2020.

MAGALHÃES, Francisco *et al.* Teorias causais, sintomas motores, sintomas não-motores, diagnóstico e tratamento da Doença de Parkinson: uma revisão bibliográfica. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 11, n. 7, pág. e10811729762-e10811729762, 2022.

MANALO, Rafael Vincent M.; MEDINA, Paul Mark B. Caffeine reduces deficits in mechanosensation and locomotion induced by L-DOPA and protects dopaminergic neurons in a transgenic *Caenorhabditis elegans* model of Parkinson's disease. **Pharmaceutical Biology**, v. 58, n. 1, p. 721-731, 2020.

MARSOVA, Maria *et al.* Protective effects of *Lactobacillus fermentum* U-21 against paraquat-induced oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* and mouse models. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 7, p. 1-10, 2020.

MARTINEZ, Bryan A. *et al.* Dysregulation of the mitochondrial unfolded protein response induces non-apoptotic dopaminergic neurodegeneration in *C. elegans* models of Parkinson's disease. **Journal of Neuroscience**, v. 37, n. 46, p. 11085-11100, 2017.

MAULIK, Malabika *et al.* Genetic silencing of fatty acid desaturases modulates α -synuclein toxicity and neuronal loss in Parkinson-like models of *C. elegans*. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 11, p. 207, 2019.

NARANJO-GALINDO, Francisco José *et al.* *C. elegans* as an Animal Model to Study the Intersection of DNA Repair, Aging and Neurodegeneration. **Frontiers in Aging**, p. 68, 2022.

OFFENBURGER, Sarah-Lena; JONGSMA, Elisabeth; GARTNER, Anton. Mutations in *Caenorhabditis elegans* neuroligin-like glit-1, the apoptosis pathway and the calcium chaperone crt-1 increase dopaminergic neurodegeneration after 6-OHDA treatment. **PLoS genetics**, v. 14, n. 1, p. e1007106, 2018a.

OFFENBURGER, Sarah-Lena *et al.* 6-OHDA-induced dopaminergic neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans* is promoted by the engulfment pathway and inhibited by the transthyretin-related protein TTR-33. **PLoS Genetics**, v. 14, n. 1, p. e1007125, 2018b.

PERNI, Michele *et al.* Multistep inhibition of α -synuclein aggregation and toxicity in vitro and in vivo by trodusquemine. **ACS chemical biology**, v. 13, n. 8, p. 2308-2319, 2018

PERNI, Michele *et al.* Comparative Studies in the A30P and A53T α -Synuclein *C. elegans* Strains to Investigate the Molecular Origins of Parkinson's Disease. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 9, p. 552549, 2021.

POHL, Franziska *et al.* GST-4-dependent suppression of neurodegeneration in *C. elegans* models of Parkinson's and Machado-Joseph disease by rapeseed pomace extract supplementation. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, p. 1091, 2019.

PUJOLS, Jordi *et al.* Small molecule inhibits α -synuclein aggregation, disrupts amyloid fibrils, and prevents degeneration of dopaminergic neurons. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 41, p. 10481-10486, 2018.

REN, Jie *et al.* Tricetin protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity in Parkinson's disease model by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway and preventing mitochondria-dependent apoptosis pathway. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 378, p. 114617, 2019.

SAEWANEE, Nada *et al.* Neuroprotective effect of metformin on dopaminergic neurodegeneration and α -synuclein aggregation in *C. elegans* model of Parkinson's disease. **Neuroscience Research**, v. 162, p. 13-21, 2021.

SANDHOF, Carl Alexander *et al.* *C. elegans* models to study the propagation of prions and prion-like proteins. **Biomolecules**, v. 10, n. 8, p. 1188, 2020.

SEEGOBIN, Steven P. *et al.* Progress in LRRK2-associated Parkinson's disease animal models. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, p. 674, 2020.

SENUCHUK, Megan M.; VAN RAAMSDONK, Jeremy M.; MOORE, Darren J. Multiple genetic pathways regulating lifespan extension are neuroprotective in a G2019S LRRK2 nematode model of Parkinson's disease. **Neurobiology of disease**, v. 151, p. 105267, 2021.

SILVA, Ana Beatriz Gomes *et al.* Doença de Parkinson: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 47677-47698, 2021.

SILVA, Silvana Venâncio da. **O efeito do exercício físico de alta intensidade na densidade neuronal e expressão de astrócitos antes e depois da indução da doença de Parkinson em ratos.** Tese de mestrado. Universidade Federal de São João del-Rei, 2022.

SMITA, Shachi Shuchi *et al.* Shatavarin IV elicits lifespan extension and alleviates Parkinsonism in *Caenorhabditis elegans*. **Free radical research**, v. 51, n. 11-12, p. 954-969, 2017.

SOFELA, Samuel; SAHLOUL, Sarah; SONG, Yong-Ak. Biophysical analysis of drug efficacy on *C. elegans* models for neurodegenerative and neuromuscular diseases. **PloS one**, v. 16, n. 6, p. e0246496, 2021.

SOMENSI, Nauana. Avaliação das bases moleculares e celulares de processos inflamatórios e neuroinflamatórios na doença de parkinson: o papel dos receptores TLR4 e RAGE. 2022.

SURGUCHOV, Andrei. Invertebrate models untangle the mechanism of neurodegeneration in Parkinson's disease. **Cells**, v. 10, n. 2, p. 407, 2021.

TJAHJONO, Elissa *et al.* Mitochondria-affecting small molecules ameliorate proteostasis defects associated with neurodegenerative diseases. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2021.

TONG, Yichen *et al.* Marine-derived xyloketal compound ameliorates MPP⁺-induced neuronal injury through regulating of the IRE1/XBP1 signaling pathway. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 12, n. 16, p. 3101-3111, 2021.

TRAN, Judith *et al.* Therapeutic effects of TP5, a Cdk5/p25 inhibitor, in in vitro and in vivo models of Parkinson's disease. **Current Research in Neurobiology**, v. 2, p. 100006, 2021.

TRIPODI, Farida *et al.* Protective effect of *Vigna unguiculata* extract against aging and neurodegeneration. **Aging (Albany NY)**, v. 12, n. 19, p. 19785, 2020.

TSAI, Chia-Wen *et al.* Neuroprotective effects of betulin in pharmacological and transgenic *Caenorhabditis elegans* models of Parkinson's disease. **Cell transplantation**, v. 26, n. 12, p. 1903-1918, 2017.

TSAI, Rong-Tzong *et al.* Maackiain ameliorates 6-hydroxydopamine and SNCA pathologies by modulating the PINK1/Parkin pathway in models of Parkinson's Disease in *Caenorhabditis elegans* and the SH-SY5Y cell line. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 12, p. 4455, 2020.

ULAMEC, Sabine M. *et al.* Single residue modulators of amyloid formation in the N-terminal P1-region of α -synuclein. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 1-16, 2022.

VAN PELT, Kate M.; TRUTTMANN, Matthias C. *Caenorhabditis elegans* as a model system for studying aging-associated neurodegenerative diseases. **Translational medicine of aging**, v. 4, p. 60-72, 2020.

VILARINHO, Kauara; DE CASTRO, Ane Beatriz Vital; SANTOS, Alana Freitas. Benefícios da atividade funcional em idosos com doença de Parkinson: revisão bibliográfica. **Recisatec-revista científica saúde e tecnologia-issn 2763-8405**, v. 1, n. 4, p. e1433-e1433, 2021.

VINCE, Matthew Joseph Kline. **Examining Monoamine Oxidase Inhibitor Targets Using *Caenorhabditis elegans***. 2020. Tese de Doutorado. Ohio University.

VOZDEK, Roman; PRAMSTALLER, Peter P.; HICKS, Andrew A. Functional Screening of Parkinson's Disease Susceptibility Genes to Identify Novel Modulators of α -Synuclein Neurotoxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Frontiers in Aging Neuroscience**, p. 332, 2022.

VRIJSEN, Stephanie *et al.* ATP13A2-mediated endo-lysosomal polyamine export counters mitochondrial oxidative stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 49, p. 31198-31207, 2020.

Wang, Yiru A *et al.* Genetic background modifies phenotypic and transcriptional responses in a *C. elegans* model of α -synuclein toxicity. **BMC genomics** v. 20, n. 1 p. 232, 2019.

WU, Siyu *et al.* Mutation of hop-1 and pink-1 attenuates vulnerability of neurotoxicity in *C. elegans*: the role of mitochondria-associated membrane proteins in Parkinsonism. **Experimental neurology**, v. 309, p. 67-78, 2018.

YAN, Jinyuan et al. Gastrodin protects dopaminergic neurons via insulin-like pathway in a Parkinson's disease model. **BMC neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2019.

YANG, Xin et al. Spermidine inhibits neurodegeneration and delays aging via the PINK1-PDR1-dependent mitophagy pathway in *C. elegans*. **Aging (Albany NY)**, v. 12, n. 17, p. 16852, 2020.

YOUSSEF, Khaled; TANDON, Anurag; REZAI, Pouya. Studying Parkinson's disease using *Caenorhabditis elegans* models in microfluidic devices. **Integrative Biology**, v. 11, n. 5, p. 186-207, 2019.

YOUSSEF, Khaled et al. Parallel-Channel Electrotaxis and Neuron Screening of *Caenorhabditis elegans*. **Micromachines**, v. 11, n. 8, p. 756, 2020.

ZENG, Xian-Si; GENG, Wen-Shuo; JIA, Jin-Jing. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: pathogenic mechanism and assessment. **ASN neuro**, v. 10, p. 1759091418777438, 2018.

ZHANG, Zhuoyu et al. MANF protects dopamine neurons and locomotion defects from a human α -synuclein induced Parkinson's disease model in *C. elegans* by regulating ER stress and autophagy pathways. **Experimental neurology**, v. 308, p. 59-71, 2018