

DESIRÉE FERRO SCAPINELLI

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INIBIDORES DE
CICLOOXIGENASES SOBRE O COMPORTAMENTO MOTOR EM UM
MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE PARKINSON**

**CAMPO GRANDE, MS
2014**

DESIRÉE FERRO SCAPINELLI

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INIBIDORES DE
CICLOOXIGENASES SOBRE O COMPORTAMENTO MOTOR EM UM
MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE PARKINSON**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza

**CAMPO GRANDE, MS
2014**

FOLHA DE APROVAÇÃO

DESIRÉE FERRO SCAPINELLI

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INIBIDORES DE CICLOOXIGENASES SOBRE O COMPORTAMENTO MOTOR EM UM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE PARKINSON

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Albert Shiaveto de Souza (Presidente)
UFMS – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Prof. Dr^a Alexandra Maria Almeida Carvalho Pinto
UFMS - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Prof. Dr^a Paula Felipe Martinez
UFMS - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Alessandro Diogo De Carli (Suplente)
UFMS - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador, **Prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza**, que doou não somente de seu tempo, mas de seu conhecimento científico, auxiliando-me em todas as etapas deste trabalho e dividindo as preocupações e as ansiedades. Minha eterna gratidão e respeito.
- Aos meus **pais e familiares** pela preocupação e pelo suporte ofertado durante todo o percurso da realização de um grande trabalho.
- Ao fisioterapeuta **Ricardo Saravy de Araújo**, pela excelente contribuição na realização deste trabalho e pelos momentos de amizade.
- Ao técnico de laboratório, **Luiz**, por cuidar tão bem das nossas instalações e animais com carinho e dedicação.
- À **todos**, que ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho, sem os quais seria impossível alcançar essas metas.
- Ao **Programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste**, através de seus professores e funcionários, que possibilitaram a realização de um grande sonho, a concretização de um grande projeto.

RESUMO

Scapinelli Ferro D. Influência de diferentes inibidores de ciclooxigenases sobre o comportamento motor em um modelo animal da doença de parkinson. Campo Grande. 2014. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Introdução: Os inibidores da ciclooxigenase desempenham um papel importante na modulação sináptica dos núcleos da base do encéfalo, porém, a interação entre esses dois fatores com os inibidores de receptores de dopamina D2 permanece pouco esclarecida. **Objetivos:** Avaliar a influência de dois diferentes inibidores de ciclooxigenases, indometacina e naproxeno, sobre o comportamento motor de camundongos submetidos à inibição de receptores de dopamina nos núcleos basais do encéfalo. **Método:** Neste estudo foram utilizados camundongos suíços, machos (20-30g), subdivididos para a realização de dois experimentos, com dois subexperimentos cada. Cada subexperimento foi constituído de 6 grupos (n=8 cada), totalizando 24 grupos experimentais (n=192). Experimento I – os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de salina ou haloperidol (1mg/kg) e após uma hora: aplicação i.p. (experimento Ia) de salina ou indometacina (15 e 30mg/kg), ou aplicação intracerebral (i.c.) bilateral no estriado (experimento Ib) de salina ou indometacina (25 e 50 nM/1µL). Experimento II – os animais receberam injeção i.p. de salina ou haloperidol (1mg/kg) e após uma hora: aplicação i.p. (experimento IIa) de salina ou naproxeno (15 e 30mg/kg), ou aplicação i.c. bilateral no estriado (experimento IIb) de salina ou naproxeno (25 e 50nM/1µL). Após 5, 35 e 65 minutos da aplicação das drogas, os animais foram submetidos ao teste de catalepsia na barra. Além disso, no momento 30 minutos, os animais foram submetidos ao teste do campo aberto, seguido pela avaliação funcional da marcha. **Análise estatística:** Os dados da latência no teste de catalepsia foram analisados pelo ANOVA de duas vias de medidas repetitivas, seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak, enquanto que para aqueles relativos ao teste do campo aberto e aos parâmetros da avaliação funcional da marcha, foram analisados pelo ANOVA de uma via, seguida pelo pós teste de Holm-Sidak. **Resultados:** L-Haloperidol (1mg/kg i.p.) causou catalepsia nos camundongos, sendo esta parcialmente revertida por indometacina (30mg/kg i.p. e 50nM/1µL i.c.) e naproxeno (50nM/1µL i.c.). A reversão das alterações motoras no campo aberto só foi observada na indometacina para as doses 15 e 30mg/kg, i.p. e 25nM, i.c. No campo aberto, não foram observadas modificações no comportamento motor pelo uso do naproxeno, aplicado tanto via i.p. quanto via i.c.. Na avaliação funcional da marcha, não houve reversão significativa das alterações motoras pela droga indometacina, já em relação ao naproxeno houve reversão apenas para o desvio látero-lateral, nas doses 15mg/kg i.p. e 50nM/1µL i.c.. **Conclusão:** As observações deste estudo sugerem a interação entre a ciclooxigenase e a dopamina no comportamento motor de camundongos, evidenciando a importância de outros neurotransmissores, além da dopamina, nos núcleos basais do encéfalo.

Palavras-chave: ciclooxigenase, dopamina, doença de Parkinson, núcleos da base.

ABSTRACT

Scapinelli Ferro D. Influence of various inhibitors on motor behavior in a cyclooxygenase animal model of parkinson's disease. Campo Grande. 2014. [Dissertation – Federal University of Mato Grosso do Sul].

Introduction: Cyclooxygenase inhibitors (COX) play an important role in synaptic modulation of basal ganglia of the brain, however, the interaction between these two factors and the inhibitors of dopamine D2 receptors remains little understood. **Goals:** Evaluate the influence of two different cyclooxygenases inhibitors, indomethacin and naproxen, on the motor behavior of mice undergoing inhibition of dopamine receptors in the basal nuclei of the brain. **Methodology:** In this study, male Swiss mice (20-30 g) were used, subdivided for conducting experiments with 2 sub-experiments 2 each. Each sub-experiment was composed of 6 groups (n = 8 each), totaling 24 experimental groups (n = 192). Experiment I: the animals received intraperitoneal (i.p.) injection of saline or haloperidol (1 mg/kg) and after one hour: i.p. application (experiment Ia) of saline or indomethacin (15 and 30 mg/kg), or intracerebral application (i.c.) bilaterally in the striatum (experiment 1b) of saline or indomethacin (25 and 50 nM/1 µL). Experiment II: the animals received i.p. injection of saline or haloperidol (1 mg/kg) and after one hour: i.p. application (experiment Ii) of saline or naproxen (15 and 30 mg/kg), or bilateral in striated i.c. application (experiment IIb) of saline or naproxen (25 and 50nM/1 µL). After 5, 35 and 65 minutes of application of drugs, the animals were submitted to catalepsy test on the bar. In addition, at 30 minutes time, the animals were submitted to the open field test, followed by functional gait assessment. **Statistical analysis:** The data latency on the catalepsy test were analyzed by two way ANOVA with replication, followed by the Holm-Sidak post-test, whereas those relating to the open field test and the parameters of the functional gait assessment, were analyzed by a one way ANOVA followed by the Holm-Sidak post-test. **Results:** the L-Haloperidol (1mg/kg intraperitoneal) caused catalepsy in the mice, which was partially reversed by indomethacin (30 mg/kg i.p. and 50nM/1 µL i.c.) and naproxen (50nM/1 µl i.c.). The reversal of the motor changes in the open field was only observed on indomethacin for doses 15 and 30 mg/kg, i.p. and 25nM, i.c. In the open field, were not observed modifications to the motor behaviour with the use of naproxen, applied either via i.p. or via i.c. On functional gait assessment, there was no significant rollback by indomethacin, compared to naproxen happened in which rollback only occurred to the latero-lateral deviation, in doses of 15 mg/kg i.p. and 50nM/1 µL i.c. **Conclusion:** The observations of this study suggest a interaction between the cyclooxygenase and dopamine in motor behavior of mice, demonstrating the importance of other neurotransmitters, besides dopamine to the basal nuclei of the brain.

Key words: cyclooxygenase, dopamine, Parkinson's disease, basal ganglia.

LISTA DE TABELAS

Tabela 3 - Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia.....	33
Tabela 4 - Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia.....	33
Tabela 7 - Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib.....	36
Tabela 8 - Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib.....	37
Tabela 11- Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa.....	40
Tabela 12- Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa.....	40
Tabela 15- Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb.....	43
Tabela 16- Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cirurgia estereotáxica em roedores, para implantação de cânulas direcionadas ao estriado.....	22
Figura 2 - Bomba de micro infusão utilizada para a colocação bilateral das drogas no estriado.....	23
Figura 3 - Infusão bilateral das drogas e seus veículos no estriado do camundongo.....	23
Figura 4 - Teste de catalepsia na barra.....	26
Figura 5 - Representação da avaliação funcional da marcha. Pegadas dos camundongos mostrando o desvio látero-lateral (DLL), desvio ântero-posterior (DAP), comprimento do passo direito (CPD) e comprimento do passo esquerdo (CPE).	27
Figura 6 - Teste do campo aberto para verificar a quantidade de erguimentos e quadrantes percorridos.....	28
Figura 7 - Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento Ia, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas.....	31
Figura 8 - Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia.....	32
Figura 9 - Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento Ib, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas.....	35
Figura 10 - Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib.....	36
Figura 11 - Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento IIa, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas.....	38
Figura 12 - Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa.....	39
Figura 13 - Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento IIb, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas.....	42

Figura 14 - Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb.....	43
Figura 15 - Esquema da modulação da COX-2 através da via colinérgica atuando nos receptores de dopamina na via nigroestriatal.....	48

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1- Representação do efeito da indometacina, sobre o comportamento de catalepsia induzida por L-haloperidol..... 24
- Quadro 2 - Representação do efeito do naproxeno, sobre o comportamento de catalepsia induzida por L-haloperidol..... 25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
CPD	Comprimento do passo direito
CPE	Comprimento do passo esquerdo
COX	Ciclooxigenase
COX 1	Ciclooxigenase tipo 1
COX-2	Ciclooxigenase tipo 2
DA	Dopamina
DAP	Desvio ântero-posterior
DLL	Desvio látero-lateral
DP	Doença de Parkinson
D2	Dopamina do tipo 2
GPe	Globo pálido externo
GPi	Globo pálido interno
i.c.	Intracerebral
i.p.	Intraperitoneal
L-DOPA	(L-3,4-dihydroxyphenylalanine)
NB	Núcleos da Base
PGH2	Prostaglandina H2 sintase
SN	Substância Negra
SNc	Substância Negra compacta
SNC	Sistema Nervoso Central
SNr	Substância Negra reticulada
TE	Telencéfalo
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
VTA	Área tegmental ventral

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetro
g	Gramma
kg	Kilograma
L	Litro
mg	Miligrana
n	Tamaño da amostra
nM	Nanomol
μL	Microlitro
°C	Graus Celsius
%	Percentual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	19
2.1 Geral	19
2.2 Específico	19
3 MÉTODO	20
3.1 Animais	20
3.2 Drogas	20
3.3 Vias de administração das drogas	21
3.3.1 <u>Via intraperitoneal</u>	21
3.3.2 <u>Via intracerebral</u>	21
3.4 Experimentos e grupos experimentais	23
3.4.1 <u>Experimento I – Efeito da indometacina, sobre o comportamento de catalepsia induzida por haloperidol</u>	23
3.4.2 <u>Experimento II – Efeito do naproxeno, sobre o comportamento de catalepsia induzida por haloperidol</u>	24
3.5 Avaliação funcional dos animais	25
3.5.1 <u>Teste de catalepsia na barra</u>	25
3.5.2 <u>Avaliação funcional da marcha</u>	25
3.5.3 <u>Teste do campo aberto</u>	26
3.6 Confirmações da localização das cânulas e descarte dos animais	27
3.7 Análise estatística	28
4 RESULTADOS	29
5 DISCUSSÃO	44
6 CONCLUSÕES	49
7 REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	
Anexo I – <u>Cópia do protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)</u>	
Anexo II – <u>Tabelas referentes aos resultados de catalepsia e teste do campo aberto dos dois experimentos</u>	

1 INTRODUÇÃO

Os núcleos da base e o cerebelo são as estruturas responsáveis pelas atividades nos tratos descendentes do Sistema Nervoso Central (SNC). Esses núcleos estão interconectados e assim, formam um sistema funcional que foi denominado “sistema extrapiramidal”. São compostos pelos seguintes núcleos situados no cérebro e mesencéfalo: a substância negra, o caudado, o putâmen, o globo pálido e os núcleos subtalâmicos. Por terem proximidade anatômica, alguns desses núcleos recebem nomes comuns: o globo pálido e o putâmen formam o núcleo lenticular e o conjunto do caudado e putâmen formam o estriado (SHEPERED, 1998). Esses núcleos regulam a força e a contração muscular, os movimentos de várias articulações e as sequências de movimentos (JOEL; WEINER, 2000).

A substância negra (SN) é um núcleo mesencefálico, designado assim pela coloração de suas células. Algumas dessas células apresentam neuromelanina, fazendo com que o núcleo pareça preto pela presença abundante de neurônios contidos em seu citoplasma. Ela apresenta duas partes: a compacta (SNc) e a reticulada (SNr). A parte compacta fornece dopamina para o estriado. A parte reticulada e a parte interna do globo pálido são vias de saída do sistema dos núcleos da base. A saída desses núcleos inibe o tálamo motor e o núcleo pedúnculo-pontino do mesencéfalo e a estimulação do núcleo pedúnculo-pontino provoca comportamentos rítmicos, como padrões de locomoção. Embora o funcionamento dos núcleos da base seja vital para os movimentos normais, eles não têm conexões diretas com os motoneurônios inferiores. Sua influência é exercida por áreas de planejamento motor e córtex cerebral, e pelo núcleo pedúnculo-pontino do mesencéfalo. A influência sobre a área motora suplementar do córtex cerebral é indireta por meio do tálamo (EKMAN, 2000; JÚNIOR; FELÍCIO; PRADO, 2006).

A dopamina (DA) está presente na SN e é um neurotransmissor que está relacionado a diferentes funções encefálicas. A mais notável é a função associada às vias motoras. A ação dopaminérgica inerente ao controle postural e movimento voluntário é associada ao conjunto de fibras que parte de corpos neuronais localizados na substância negra do mesencéfalo e projeta-se até o estriado (via Nigroestriatal), que é uma das vias responsáveis pela modulação dos impulsos motores provenientes do córtex cerebral (LIEBERMAN, 2005). Os receptores dopaminérgicos são encontrados pré e pós-sinápticamente. Existem cinco subtipos de receptores de dopamina que podem ser agregados em duas classes distintas: a família D1 incluindo os receptores D1 e D5 e a família D2 que inclui D2, D3 e D4 (SATHLER, 2012; TARAZI; BALDESSARINI, 1999). No

estudo mencionado por Sealfon e Olanow (2000), foi demonstrado que camundongos com bloqueio induzido farmacologicamente por receptores D1 e D2 tiveram grandes distúrbios motores, indicando que ambos os tipos de receptores são importantes para a regulação de movimentos. As cinco proteínas receptoras diferentes de dopamina possuem distribuições distintas no cérebro. Ambos os receptores D1 e D2 são expressos em altos níveis no estriado (núcleo caudado e putâmen), onde desempenham um papel no controle motor dos núcleos basais (RICCI; ROSSODIVITA; AVOLA; TAYIEBATI, 2001).

A liberação da DA é modulada por receptores pré-sinápticos localizados no corpo celular, dendritos ou terminais nervosos de células dopaminérgicas, denominados autorreceptores. A estimulação de autorreceptores da região somatodendrítica diminui a taxa de disparos destes neurônios, enquanto a estimulação de autorreceptores dos terminais nervosos inibe a síntese e a liberação de DA. Todos esses autorreceptores são classificados como sendo da subfamília D2, e mostraram-se cerca de dez vezes mais sensíveis aos efeitos da dopamina. As vias dopaminérgicas ascendentes do SNC de mamíferos podem ser divididas em: mesoestriatal (ou nigroestriatal), que tem origem predominante na substância negra do mesencéfalo e inerva o estriado dorsal, em particular os núcleos caudado e putamen; mesocortical, que surge predominantemente na área tegmental ventral (VTA) e projeta-se para o córtex pré-frontal; e mesolímbica, que também tem origem predominante na VTA e inerva estruturas do sistema límbico, incluindo núcleo accumbens, amígdala e hipocampo (GARDNER; ASHBY JR, 2000; OADES; HALLIDAY, 1987).

A modulação da atividade dos neurônios talâmicos é resultante da atividade dessas duas vias direta e indireta funcionalmente opostas. As projeções do estriado ao segmento interno do globo pálido (GPi) e a SNr constituem a chamada via direta (receptor dopaminérgico D1 desinibe o tálamo e libera os movimentos). A segunda via serve para aumentar o nível de inibição tônica e é chamada de via indireta (receptor dopaminérgico D2 inibe a transmissão ao longo da via, inibindo o tálamo e o movimento) (DUTRA, 2009; ARROYO, 2010).

Através de suas conexões com o córtex motor, principalmente com a área motora suplementar, os núcleos da base fornecem disparos internos que garantem a realização de sequências de movimentos aprendidos, e mantêm uma prontidão motora de forma a auxiliar a preparação e a manutenção de tarefas motoras, garantindo a realização de tarefas funcionais. Dessa forma, torna-se evidente o papel crucial dos núcleos basais no controle de movimentos voluntários. Adicionalmente às conexões dos núcleos basais com áreas do córtex motor através do tálamo existem projeções destes núcleos para o tegmento mesopontino localizado no tronco encefálico.

Estas consistem em projeções gabaérgicas, principalmente provenientes da SNr, e desempenham papel importante no controle do tônus muscular postural e da locomoção (SCALZO, 2009).

O distúrbio motor mais comum dos núcleos da base é a doença de Parkinson (DP), que consiste na morte de neurônios nigroestriatais. Esses neurônios projetam para o estriado (núcleo putâmen e caudado) sua morte leva a alterações na atividade dos circuitos neurais que regulam o movimento (SIOKA; FOTOPOULOS; KYRITSIS, 2010).

O funcionamento normal da substância negra favorece a atividade na via direta, que deve ser facilitada para o córtex motor suplementar, onde se torna ativo tanto antes como durante os movimentos. A diminuição na produção de dopamina característica da DP resulta em uma hipoativação da via direta (D1), gerando um desequilíbrio das duas vias e promovendo, portanto, um predomínio da via indireta, o que gera um aumento da ativação de um núcleo inibitório dos núcleos basais e conseqüentemente a um desligamento do tálamo e núcleos do telencéfalo (TE) que recebem eferências destes. Esta excessiva inibição do tálamo resulta em supressão do sistema cortical motor gerando como manifestações clínicas a acinesia, rigidez e tremor, enquanto que a diminuição em áreas locomotoras do TE podem contribuir para anormalidades de postura e marcha típica na DP (SOUZA, 2008; PAVÃO, 2007; SIOKA; FOTOPOULOS; KYRITSIS, 2010).

A Doença de Parkinson não apresenta uma etiologia bem definida. A morte celular ocorre antes que os sinais clínicos da doença de Parkinson fiquem evidentes; cerca de 80% das células produtoras de dopamina morrem antes do aparecimento dos sinais da doença (EKMAN, 2000; WARRAICH *et al.*, 2009). Além da perda neuronal dopaminérgica, outros sistemas estão relacionados com os achados neuroquímicos e neuropatológicos na DP como: o noradrenérgico, serotonérgico, e do sistema colinérgico, através da redução de acetilcolina nos Núcleos Basais de Meynert (STOOF *et al.*, 1999). Existem hipóteses como os defeitos conformacionais nas estruturas de proteínas citoplasmáticas e disfunções mitocondriais e com conseqüente aumento do estresse oxidativo, resultando na morte neuronal. Outros fatores considerados são a excitotoxicidade e eventos apoptóticos. Além disso, alguns estudos têm demonstrado que a neuroinflamação é outro importante mecanismo envolvido no desenvolvimento e progressão da DP (PIEPER *et al.*, 2008; REALE *et al.*, 2009).

Classicamente, os pacientes com DP apresentam sintomas motores como: dificuldade em iniciar os movimentos (acinesia), lentidão dos movimentos (bradicinesia), diminuição e perda de reflexos posturais, tremor em repouso, principalmente das mãos e da mandíbula, alteração da escrita e da fala e rigidez do tônus muscular (JANKOVIC, 2008), e sintomas não motores como: distúrbios

do sono, alucinações, depressão e déficits cognitivos, são consequências da morte de neurônios em outras regiões do encéfalo. Os sintomas aparecem a partir de 50% da perda dos neurônios dopaminérgicos da SNc e redução de 80% dos níveis dopaminérgicos estriatais (PIMENTEL, 2009).

O protocolo farmacológico na DP utiliza várias terapias como escolha padrão no tratamento desses pacientes. As estratégias farmacológicas que tem levado progresso à terapêutica da DP se baseiam em terapias dopaminérgicas, nas drogas não-dopaminérgicas e na descoberta de compostos que modifiquem o curso da DP (BRAGA, 2008). O tratamento utilizando o L-DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina) tem como objetivo repor os níveis de DA, que se encontram comprometidos devido ao grau de neurodegeneração. Porém, à longo prazo, tem diminuído sua eficácia, e ainda não está claro como esse tratamento pode melhorar os sintomas e até mesmo reverter os efeitos da perda de DA (SARRE; VANDENEDEE; EBINGER, 1998; KOSTRZEWA et al., 2005). Para a investigação de novos recursos terapêuticos eficazes para a DP, é necessário o estudo e desenvolvimento de modelos animais que melhor reproduzem a DP. Modelos experimentais são ferramentas importantes na ciência médica, permitindo o estudo dos mecanismos patogênicos e ajudando a compreender os princípios terapêuticos no tratamento dos sintomas de doenças humanas (GERLACH; RIEDERER, 1996)

Muitos modelos que induzem a DP são utilizados como ferramentas para o estudo dessa doença, destacando-se o uso de bloqueadores dos receptores D2 de dopamina, como o L-haloperidol. Este fármaco é um importante antagonista de receptores de dopamina D2, localizados predominantemente em neurônios estriatais e acarreta sintomas colaterais diretamente ligados a este bloqueio. O perfil farmacocinético do L-haloperidol mostra que esta droga apresenta dissociação lenta e grande afinidade por receptores D2 (FROTA, 2003). Deste modo, é postulado que o haloperidol utilizado no tratamento de alterações psiquiátricas, principalmente os antipsicóticos típicos, induzem o parkinsonismo em humanos, sendo, inclusive, utilizado como indutor de parkinsonismo em modelos animais. Também é relatado que ele induz uma diminuição do comprimento da passada (marcha festinante) nos ratos e a diminuição da uniformidade do padrão da marcha (AMENDE *et al.*, 2005; KURZ *et al.*, 2007) indicando que este modelo animal pode ser de suma importância no estudo do parkinsonismo (FROTA, 2003; AMENDE *et al.*, 2005; METZ; BALLERMANN; SMITH; FOUAD, 2005; FERRAZ *et al.*, 2008; POTHAKOS; KURZ; LAU, 2009) bem como, no estudo de alternativas terapêuticas para diminuir os parafefeitos de fármacos desta natureza (MIWA *et al.*, 2000; MIYAMOTO *et al.*, 2008; FERNAGUT *et al.*, 2002).

O estudo de novas terapias para a DP está voltado para sistemas não dopaminérgicos dentro dos gânglios basais que vão além das vias nigroestriatais lesionadas (BROTCHIE, 1998; JENNER, 2000). Alguns agentes como os receptores adenosinérgicos, glutamatérgicos, canabinóides, opióides, α_2 -adrenérgicos e receptores colinérgicos nicotínicos e muscarínicos apresentam um potencial terapêutico que interagem com as vias dopaminérgicas e modulam os receptores D1 e D2 influenciando no comportamento motor (JENNER, 2003; KITAOKA *et al.*, 2007).

Além desses, outros neurotransmissores, como as prostaglandinas, têm sido implicadas para modular a transmissão neural. No estudo feito por Yamagata *et al.* (1993) foi demonstrada a presença da COX-2, nos níveis basais no cérebro, especialmente a prostaglandina E2, sendo o principal metabólito da COX-2 (FATHI-MOGHADDAM *et al.*, 2008; OLIVEIRA, 2007).

A ciclooxigenase (COX), também chamada de prostaglandina H2 (PGH2), foi identificada como a principal enzima responsável pela conversão do ácido araquidônico (AA) em PGH2 (SMITH; LANDS, 1972). Embora a velocidade de síntese de PGH2 dependa da disponibilidade de ácido araquidônico, a COX é considerada uma enzima limitante da velocidade na rota de biossíntese de prostaglandinas e tromboxanos a partir do AA. A COX é uma enzima bifuncional e possui duas atividades enzimáticas que ocorrem em dois sítios catalíticos distintos: atividade de ciclooxigenase – catalisa a oxidação e ciclização do AA até o hidroperóxido prostaglandina G2 (PGG2), e a atividade de peroxidase – catalisa a peroxidação do PGG2 até o hidroxiperóxido prostaglandina H2 (PGH2) (OLIVEIRA, 2007). A PGH2 é quimicamente instável e é rapidamente convertida por sintases específicas em uma série de prostaglandinas e tromboxanos, como a prostaglandina F2- α (PGF 2- α), prostaglandina D2 (PGD2), prostaglandina I2 (PGI2), tromboxano A2 (TXA2) e prostaglandina E2 (PGE2) sendo esta o principal metabólito da COX-2 (OLIVEIRA, 2007; VANE; BAKHLE; BOTTING, 1998; SIMMONS; BOTTING, 2004; FATHI *et al.*, 2008; KUMMER; COELHO, 2002).

Entre os avanços no estudo dos eicosanóides, houve a descoberta de duas isoformas da enzima COX, a COX-1 e COX-2, ambos sendo alvos para ação das drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (St – LOUIS *et al.*, 2010). A COX-1 é expressa constitutivamente em quase todos os tecidos e acredita-se que seja responsável por funções de equilíbrio homeostático do organismo, incluindo manutenção do tônus muscular liso, agregação plaquetária, proteção da mucosa gástrica e no SNC está envolvida com funções integrativas complexas, modulação do sistema nervoso autônomo (SNA) e processamento sensorial. Já a COX-2 é a isoforma cuja expressão é constitutiva na maioria dos tecidos. Recentemente, tem sido proposto que o metabolismo de endocanabióides

pela COX-2 é um mecanismo importante de regulação das funções desses neuromoduladores (KIM; ALGER, 2004; SLANINA; SCHWEITZER, 2005). Esta é mais abundante em neurônios glutamatérgicos do hipocampo e córtex cerebral, onde se encontram nessas células os espinhos dendríticos, (RAINSFORD, 2007) mas também em células não-neuronais, como plexo coroide (VANE et al., 1998), células da meninge, células da micróglia e astrócitos.

No estudo realizado por Fathi *et al.*, (2008), mencionaram que a inibição de COX-2 pode melhorar as perturbações do movimento no modelo animal da DP e também demonstraram que a COX-2 pode causar um aumento no nível de acetilcolina no cérebro através da produção da prostaglandina E2. Foi citado que as prostaglandinas têm efeito modulador na transmissão de receptores adrenérgicos, noradrenérgicos e glutaminérgicos. Porém, além desses, outros neurotransmissores, como a dopamina, estão presentes nos núcleos da base e participam da modulação do comportamento motor. De acordo com LIMA (2006), a expressão COX-2 têm se mostrado induzida especificamente nos neurônios dopaminérgicos na substância negra, parte compacta da DP do ser humano. Esta enzima participa da regulação de processos cerebrais importantes, como: ciclo sono/vigília, termorregulação, aprendizado, memória e comportamento motor (OLIVEIRA, 2007).

Porém, há poucos estudos que demonstram como a COX age na neurotransmissão no SNC, e é de suma importância o estudo de novos fármacos no tratamento da doença de Parkinson visando um avanço nas terapias medicamentosas realizadas na medicina atual. Assim, neste trabalho foi testado o efeito de dois inibidores da ciclooxigenase (Indometacina e Naproxeno), aplicados por via intraperitoneal (i.p.) e intracerebral (i.c.) no estriado, bilateralmente, na catalepsia induzida por inibidores de dopamina (L-Haloperidol), em camundongos suíços.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a influência de dois inibidores de ciclooxigenases sobre o comportamento motor de camundongos submetidos à inibição de receptores de dopamina nos núcleos basais do encéfalo

2.2 Específicos

- Avaliar a influência de inibidores da ciclooxigenase, indometacina ou naproxeno, aplicados por via intraperitoneal (i.p.) ou via intracerebral (i.c.) (estriado bilateral), nas alterações do comportamento motor de camundongos, induzidas por inibição de receptores de dopamina por L-haloperidol;
- Estudar a interação entre a dose aplicada (15 ou 30mg/kg e 25 ou 50nM) e a resposta comportamental obtida, entre os inibidores da ciclooxigenase;

3 MÉTODO

3.1 Animais

Neste estudo experimental foram utilizados 192 camundongos Swiss (*mus musculus*), machos, oriundos do biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pesando entre 20-30g. Os animais foram mantidos, no biotério, com água e comida *ad libitum* até o início dos testes. O ciclo de luz (12/12 hs, luzes ligadas às 6:00 h) e a temperatura ambiente ($23\pm 1^\circ\text{C}$) foram controlados.

Todos os experimentos foram realizados conforme preconizados pela Lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008 e pela Resolução Normativa nº 1 de 09 de julho de 2010, do CONCEA, sendo os protocolos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), sob o protocolo 393/2011 (Anexo 1).

3.2 Drogas

Antagonista de receptores D2 de dopamina: L-Haloperidol (Haldol-Janssen-Cilag), foi dissolvido em solução salina a 0,9%; inibidores não seletivos da COX: indometacina, foi dissolvida em solução alcalina de carbonato de sódio (pH=8.6) (ROSS *et al.*, 2002) e Naproxeno, foi dissolvido em solução salina a 0,9%. (NAIDU; SHRINIVAS, 2002)

3.3 Via de administração das drogas

As drogas foram administradas por via intraperitoneal (i.p.) ou por via intracerebral (i.c.) conforme técnicas descritas a seguir:

3.3.1 Via Intraperitoneal (i.p.)

No dia do experimento as drogas foram administradas por via i.p. em um volume de 10 ml/kg de massa corporal, com seringa hipodérmica descartável de 1ml e agulha hipodérmica de 0,45 mmX13 mm.

3.3.2 Via Intracerebral (i.c.)

Sete dias antes dos experimentos, os animais (n=96) foram anestesiados (via i.p.) com quetamina (dose de 70mg/kg) e xilasina (10mg/kg), misturadas na mesma seringa. Uma vez anestesiados foram submetidos a uma cirurgia estereotáxica para implantação bilateral de cânulas de aço inox, direcionadas aos ventrículos laterais do cérebro, próximo aos núcleos caudado e putâmen (Cpu ou estriado), de acordo com as coordenadas referenciadas pelo atlas de Paxinos e Watson (1986): (anterior +0,6 mm, lateral +1,8mm e, ventral -4,0mm do bregma) (Figura 1). Ao final da implantação das cânulas, as mesmas foram fixadas ao crânio com um capacete de resina acrílica e obturadas com uma guia interna de aço inox maciço. Após este procedimento o animal foi deixado para se recuperar da cirurgia até o dia do teste. Decorridos sete dias, com animal acordado, os obturadores foram retirados e uma cânula de injeção, ligada a uma bomba de micro infusão por um tubo de polipropileno, foi baixada pela cânula guia até ao sítio final de infusão (estriado). As drogas e os respectivos veículos foram então infundidos bilateralmente no estriado (1µl por hemisfério), a uma taxa de infusão de 0,5µl/minuto (Figura 2). Após a infusão da droga, a cânula de injeção foi deixada na mesma posição por mais 1 minuto para permitir a difusão da droga no tecido nervoso, sendo então realizado o teste de catalepsia após 5 minutos da retirada da cânula de infusão (Figura 3).

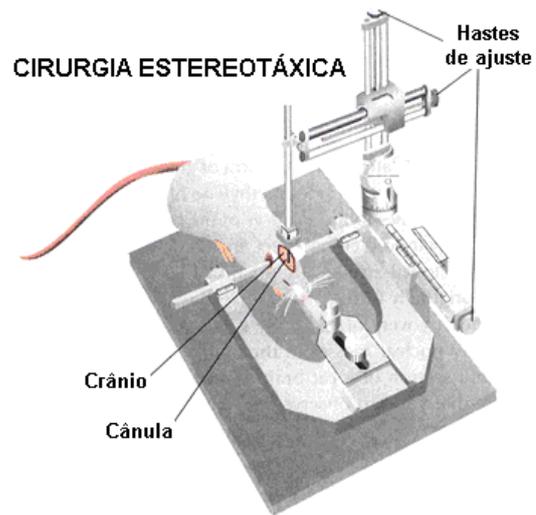


Figura 1 – Representação gráfica da cirurgia estereotáxica em roedores, para implantação de cânulas direcionadas ao estriado.



Figura 2 – Bomba de micro infusão utilizada para a colocação das drogas no estriado bilateralmente.



Figura 3 – Camundongo com cânulas de aço inox implantados bilateralmente para infusão bilateral das drogas e seus veículos no estriado dos camundongos.

3.4 Experimentos e grupos experimentais

Foram realizados dois experimentos, com 12 grupos, cada grupo constituído de 8 camundongos. Cada animal foi utilizado somente em um dos grupos experimentais.

3.4.1 Experimento I: Efeito da indometacina, sobre o comportamento de catalepsia induzida por L-haloperidol

Neste experimento os animais receberam injeção (i.p.) de salina ou L-haloperidol (1mg/kg), seguida pela aplicação (i.p. ou i.c.) de salina ou de indometacina (15 e 30mg/kg), após 30 minutos. Foram realizados os seguintes grupos experimentais:

Grupos (n=8)	IA (i.p + i.p)	Grupos (n=8)	IB (i.p + i.c)
01	Salina+Veículo	01	Salina+ Veículo
02	Salina+Indom (15mg/kg)	02	Salina+Indom (25nM/1µL)
03	Salina+Indom (30mg/kg)	03	Salina+Indom (50nM/1µL)
04	L-Haldol+Veículo	04	L-Haldol+Veículo
05	L-Haldol+Indom (15mg/kg)	05	L-Haldol+Indom (25nM/1µL)
06	L-Haldol+Indom (30mg/kg)	06	L-Haldol+Indom (50nM/1µL)

Quadro 1: Representação e efeito da indometacina, sobre o comportamento de catalepsia induzida por L-haloperidol.

3.4.2 Experimento II: Efeito do naproxeno, sobre o comportamento de catalepsia induzida por L-haloperidol

Neste experimento os animais receberam injeção (i.p.) de salina ou haloperidol (1mg/kg), seguida pela aplicação (i.p. ou i.c.) de salina ou de naproxeno (15 e 30mg/kg), após 30 minutos. Foram realizados os seguintes grupos experimentais:

Grupos (n=8)	IIA (i.p + i.c)	Grupos (n=8)	IIB (i.p + i.c)
01	Salina+Veículo	01	Salina+Veículo
02	Salina+Naproxeno (15mg/kg)	02	Salina+Naproxeno(25nM/1µL)
03	Salina+Naproxeno (30mg/kg)	03	Salina+Naproxeno (50nM/1µL)
04	L-Haldol+Veículo	04	L-Haldol+Veículo
05	L-Haldol+Naproxeno (15mg/kg)	05	L-Haldol+Naproxeno (25nM/1µL)
06	L-Haldol+Naproxeno (30mg/kg)	06	L-Haldol+ Naproxeno (50nM/1µL)

Quadro 2: Representação do efeito do naproxeno, sobre o comportamento de catalepsia induzida por L-haloperidol.

3.5 Avaliação comportamental dos animais

A avaliação comportamental dos animais após a aplicação das drogas foi realizada por meio do teste de catalepsia (ZARRINDAST; MODABBER; SABETKASAI, 1993), da avaliação funcional da marcha (HRUSKA; KENNEDY; SILBERGELD, 1979) e do teste do campo aberto (WALSH, 1976; WHIMBEY, 1967). Os testes de comportamento foram realizados sempre no mesmo horário e local, como descritos a seguir:

3.5.1 Teste de catalepsia na barra

A catalepsia foi avaliada de acordo com método da barra, no qual o camundongo é colocado com ambas as patas anteriores sobre uma barra de vidro horizontal (diâmetro de 0,5 cm), elevada 4,5 cm do solo (SANBERG et al., 1988). O tempo em segundos, durante o qual o animal permaneceu nesta posição foi registrado, até um tempo máximo de 300 segundos (ZARRINDAST; MODABBER; SABETKASAI, 1993). Foram permitidas até três tentativas de colocação do animal em posição cataléptica. O tempo de catalepsia foi considerado finalizado quando as patas anteriores tocarem o solo ou quando o camundongo subiu na barra. As medidas foram realizadas depois de 5, 35 e 65 minutos após a administração da última droga tanto pela via i.p. quanto pela via i.c. (Figura 4).



Figura 4 – Camundongo durante teste de catalepsia na barra

3.5.2 Avaliação funcional da marcha

Foi utilizada uma plataforma de madeira (5cm de largura e 29cm de comprimento), forrada com um papel apropriado, em direção a uma casinhola escura situada ao final dessa plataforma. (HRUSKA; KENNEDY; SILBERGELD, 1979). Para a avaliação funcional da marcha, as patas anteriores e posteriores dos animais foram coradas com uma solução de azul de bromofenol a 0,5%, o qual muda da cor alaranjado para a cor azul escuro quando em contato com a pata úmida do camundongo (LOWDON; SEABER; SEABER, 1988) e as pegadas foram impressas no papel. As pegadas das patas anteriores são utilizadas para caracterizarem a direção da locomoção. Duas

medidas foram feitas a partir dos registros das pegadas. Primeiro, o comprimento do passo (em centímetros) foi determinado pela distância média entre a região central de duas pegadas consecutivas. Segundo, a distância ântero-posterior e látero-lateral entre as pegadas ipsilaterais da pata anterior e posterior, foram mensuradas. Normalmente, a pegada da pata posterior é impressa um pouco atrás daquela da pata anterior, porém, ainda com uma grande sobreposição entre elas (MULLENIX; NORTON; CULVER, 1975). A avaliação funcional da marcha foi realizada 65 minutos após a aplicação das drogas (Figura 5).

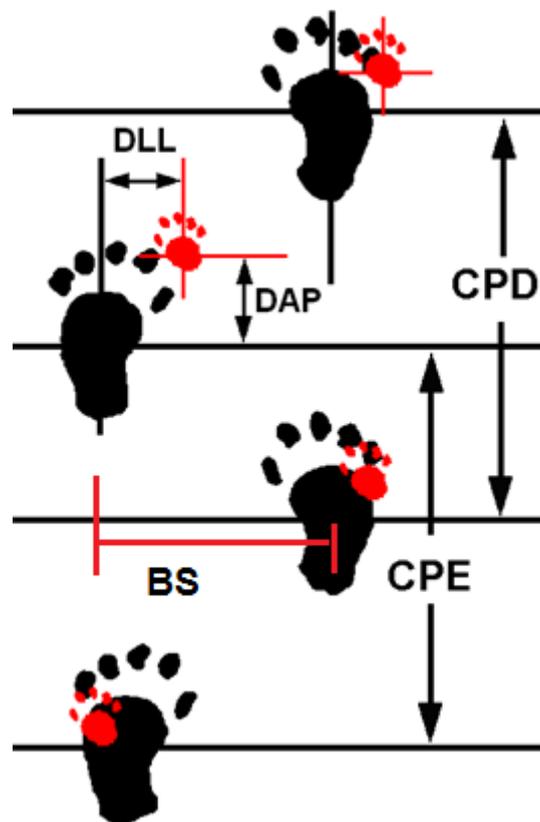


Figura 5 – Representação da avaliação funcional da marcha. Pegadas dos camundongos mostrando o desvio látero-lateral (DLL), desvio ântero-posterior (DAP), comprimento do passo direito (CPD), comprimento do passo esquerdo (CPE) e Base de sustentação (BS). Pegadas em preto são referentes aos membros posteriores, enquanto que pegadas em vermelho são referentes aos membros anteriores.

3.5.3 Teste do campo aberto

Este teste foi utilizado para avaliar o estado motor e a emocionalidade do animal. Através dos estudos de Whimbey e Denenberg (1967), ficou demonstrado que no teste de campo aberto, havia uma forte correlação positiva entre o comportamento de deambulação e o comportamento exploratório do rato (exceto no primeiro dia de teste no campo aberto), e negativamente relacionado

com o medo e a quantidade de bolos fecais expelidos durante o teste (GRAY, 1987). Outros parâmetros de avaliação foram sendo gradativamente acrescentados ao teste, sendo que atualmente, mais de 30 itens são listados neste teste (WALSH; SEABER, 1976).

Em nosso laboratório, os parâmetros avaliados durante a realização do teste do campo aberto foram: a frequência dos comportamentos de exploração horizontal e vertical, em uma arena cilíndrica, de 40 cm de diâmetro, com paredes de acrílico translúcido, de 30 cm de altura, colocada sobre uma base de madeira recoberta de fórmica de cor branca, a qual foi subdividida em 12 quadrantes de 104,7 cm² cada (Figura 6).



Figura 6 – Camundongo realizando teste do campo aberto para verificar a exploração vertical e horizontal.

3.6 Confirmações da localização das cânulas e descarte dos animais

Após o procedimento experimental, foi injetado por meio de cada uma das cânulas implantadas nos animais, 1μ/ L de solução de azul de metileno a 4%, em solução salina a 0,9%. Em seguida, os animais foram eutanasiados com dose letal de CO₂, os cérebros foram retirados e seccionados. O descarte dos animais foi congelado e em seguida acondicionado em sacos plásticos apropriados para lixo biológico e posteriormente descartados pelos responsáveis pela coleta de resíduos hospitalar da UFMS.

3.7 Análise estatística

Neste estudo, a avaliação do efeito do grupo experimental e do momento de análise, bem como a interação entre estes dois fatores, em relação ao tempo de catalepsia apresentado pelos animais, foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA de duas vias de medidas repetitivas), seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak. Já a comparação entre os grupos experimentais, em relação aos comportamentos de exploração horizontal e vertical no Campo Aberto e aos parâmetros da avaliação funcional da marcha, foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA de uma via), seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak. Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas e gráficos. A análise estatística foi realizada utilizando-se o “Software” SigmaPlot, versão 12.0, considerando um nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

A correta localização das cânulas foi confirmada pela presença do corante azul de metileno no estriado dos animais, sendo que todas as cânulas deste estudo estavam corretamente posicionadas.

4.1 Resultados do Experimento Ia

Os resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento Ia, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas, estão apresentados na Tabela 1 (anexo II) e ilustrados na Figura 7.

Na análise de variância de duas vias dos dados referentes ao tempo de catalepsia nos animais dos grupos do Experimento Ia, houve efeito do grupo experimental ($p < 0,001$), efeito do tempo ($p < 0,001$) e interação entre grupo e tempo ($p < 0,001$). Na comparação entre os momentos 5, 35 e 65 minutos, em relação ao comportamento de catalepsia, houve diferença entre este momento de análise para os grupos salina+salina, L-haloperidol + salina, L-haloperidol + indometacina 15 mg/kg e L-haloperidol + indometacina 30 mg/kg (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$). Para o grupo salina + salina, o tempo de catalepsia no momento 65 minutos foi maior do que aquele observado nos momentos 5 e 35 minutos após a aplicação das drogas. Para os grupos L-haloperidol + salina e L-haloperidol + indometacina 15 mg/kg, o tempo de catalepsia no momento 65 minutos foi maior do que aquele nos momentos 5 e 35 minutos. Nestes grupos, o tempo de catalepsia no momento de 35 minutos também foi maior do que aquele para o momento de 5 minutos. Em relação ao grupo L-haloperidol + indometacina 30 mg/kg, o tempo de catalepsia nos momentos 35 e 65 minutos foi maior do que aquele observado no momento de 5 minutos. Para os grupos Salina+indometacina 15 ml/kg e salina + indometacina 30 ml/kg, não houve diferença significativa entre os momentos de análise, em relação ao tempo de catalepsia (pós-teste de Holm-Sidak, $p > 0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais em cada momento de análise, nos momentos 5, 35 e 65 minutos, o tempo de catalepsia dos grupos que receberam L-haloperidol foi significativamente maior do que o daquele observado para os grupos Salina. Além disso, no momento 65 minutos, o tempo de catalepsia observado no grupos salina + indometacina 30 mg/kg foi menor do que aquele para o grupo salina + salina e o tempo de catalepsia observado no grupo L-haloperidol + indometacina 30 mg/kg foi menor do que aquele para o grupo L-haloperidol + salina.

Este último resultado evidencia que a dose de 30 mg/kg de indometacina foi capaz de reverter parcialmente a catalepsia induzida pelo L-haloperidol.

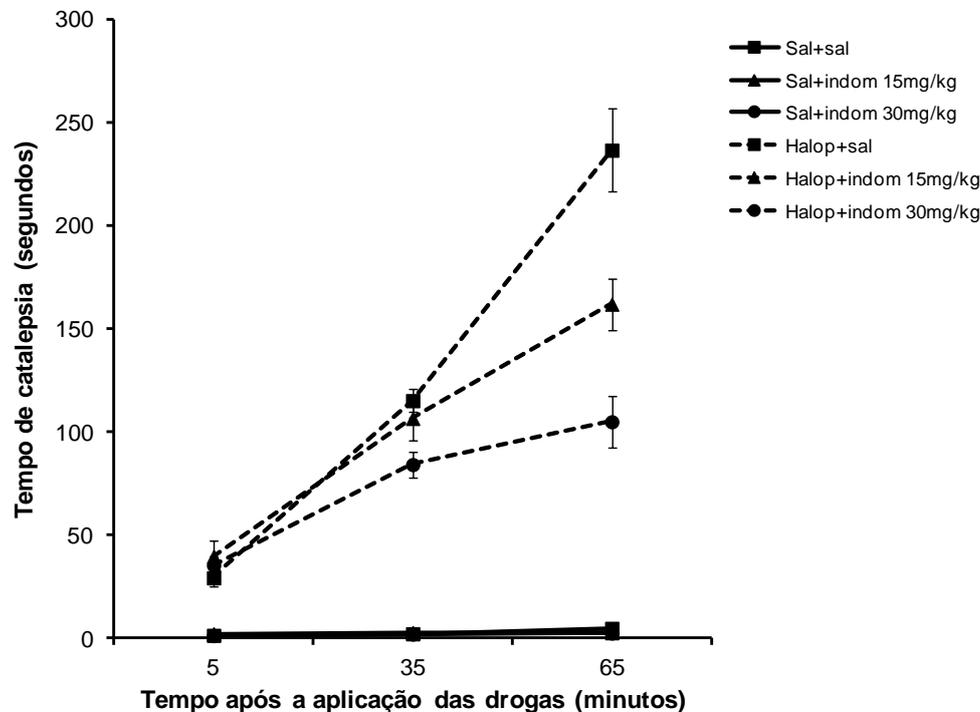


Figura 7 – Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento Ia, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas. Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia, estão apresentados na Tabela 2 (anexo II) e ilustrados na Figura 8.

Na comparação entre os grupos experimentais, houve diferença significativa entre eles, em relação aos comportamentos de exploração horizontal (quadrantes percorridos) e de exploração vertical (erguimentos), expressos pelos animais (teste ANOVA de uma via, horizontal: $p < 0,001$; vertical: $p < 0,001$). Em relação à exploração horizontal, os animais do grupo Salina+indometacina 30 mg/kg percorreram um número maior de quadrantes que aqueles dos demais grupos experimentais. Além disso, os animais dos grupos que receberam L-haloperidol percorreram um número menor de quadrantes que aqueles dos grupos experimentais salina. Finalmente, os animais dos grupos L-haloperidol + indometacina 15 e 30 mg/kg, percorreram mais quadrantes que os animais do grupo L-haloperidol + salina, indicando uma reversão parcial do efeito hipocomotor do haloperidol. Em relação à exploração vertical, os animais do grupo salina+indometacina 30 mg/kg realizaram um número maior de erguimentos que aqueles dos grupos experimentais L-

haloperidol + salina e Haloperidol + indometacina 15 e 30 mg/kg (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$). Além disso, os animais dos grupos L-haloperidol + indometacina 15 e 30 mg/kg, realizaram mais erguimentos que os animais do grupo L-haloperidol + salina indicando neste caso, uma reversão total do efeito motor causado pelo L-haloperidol.

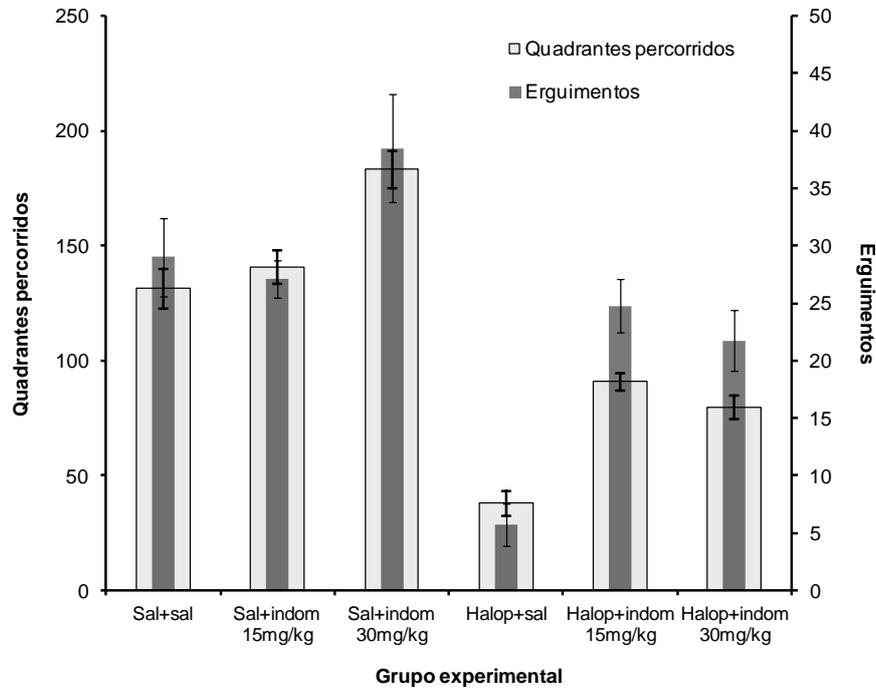


Figura 8 – Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia. Cada coluna representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia

Grupos experimentais	Avaliação da marcha I	
	Base de sustentação (cm)	Comprimento do passo (cm)
Salina+veículo	22,69±0,77A	36,28±1,18 ^a
Salina+indometacina 15 mg/kg	24,39±1,18A	34,60±0,83 ^a
Salina+indometacina 30 mg/kg	22,24±0,91A	35,13±0,43 ^a
Haldol +veículo	24,54±0,57A	34,80±1,30 ^a
Haldol +indometacina 15 mg/kg	23,46±0,97A	32,80±0,67 ^a
Haldol +indometacina 30 mg/kg	24,15±1,46A	37,48±3,04 ^a
Valor de p (entre grupos)	0,508	0,370

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas iguais na coluna indicam diferença não significativa entre os grupos experimentais (teste ANOVA de uma via, $p>0,05$).

Já os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia

Grupos experimentais	Avaliação da marcha II	
	Desvio ântero-posterior (cm)	Desvio látero-lateral (cm)
Salina+veículo	8,41±1,28A	3,43±0,47A
Salina+indometacina 15 mg/kg	6,98±0,65A	3,58±0,35A
Salina+indometacina 30 mg/kg	5,09±0,85A	4,31±0,79A
Haldol +veículo	5,91±0,78A	5,24±0,71A
Haldol +indometacina 15 mg/kg	6,51±1,07A	4,63±0,50A
Haldol +indometacina 30 mg/kg	5,25±1,05A	3,90±0,37A
Valor de p (entre grupos)	0,173	0,203

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas iguais na coluna indicam diferença não significativa entre os grupos experimentais (teste ANOVA de uma via, $p>0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais (tabela 3 e tabela 4), não houve diferença significativa entre eles, em relação aos parâmetros avaliados durante a avaliação funcional da marcha.

4.2 Resultados do Experimento Ib

Os resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento Ib, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas, estão apresentados na Tabela 5 (anexo II) e ilustrados na Figura 9.

Na análise de variância de duas vias dos dados referentes ao tempo de catalepsia nos animais dos grupos do Experimento Ib, houve efeito do grupo experimental ($p < 0,001$), efeito do tempo ($p < 0,001$) e interação entre grupo e tempo ($p < 0,001$). Na comparação entre os momentos 5, 35 e 65 minutos em relação ao comportamento de catalepsia, houve diferença entre este momento de análise para os grupos salina + salina, L-haloperidol + salina, L-haloperidol + indometacina 25 nM e L-haloperidol + indometacina 50 nM. Para os grupos L-haloperidol + salina, L-haloperidol + indometacina 25 nM e L-haloperidol + indometacina 50 nM, o tempo de catalepsia no momento 65 minutos foi maior do que aquele nos momentos 5 e 35 minutos. Nestes grupos, o tempo de catalepsia no momento de 35 minutos também foi maior do que aquele para o momento de 5 minutos. Para os grupos salina+indometacina 25 nM e salina+indometacina 50 nM, não houve diferença significativa entre os momentos de análise, em relação ao tempo de catalepsia. Na comparação entre os grupos experimentais em cada momento de análise, nos momentos 5, 35 e 65 minutos, o tempo de catalepsia dos grupos que receberam L-haloperidol (L-haloperidol + salina, L-haloperidol + indometacina 25 e 50 nM) foi significativamente maior do que o daquele observado para os grupos salina + salina, salina+indometacina 25 nM e salina+indometacina 50 nM. Além disso, nos momentos 5 e 65 minutos, o tempo de catalepsia observado no grupo L-haloperidol+indometacina 50 nM foi menor do que aquele para o grupo L-haloperidol+salina. Este último resultado evidencia que a dose de 50 nM de indometacina foi capaz de reverter parcialmente a catalepsia induzida pelo L-haloperidol.

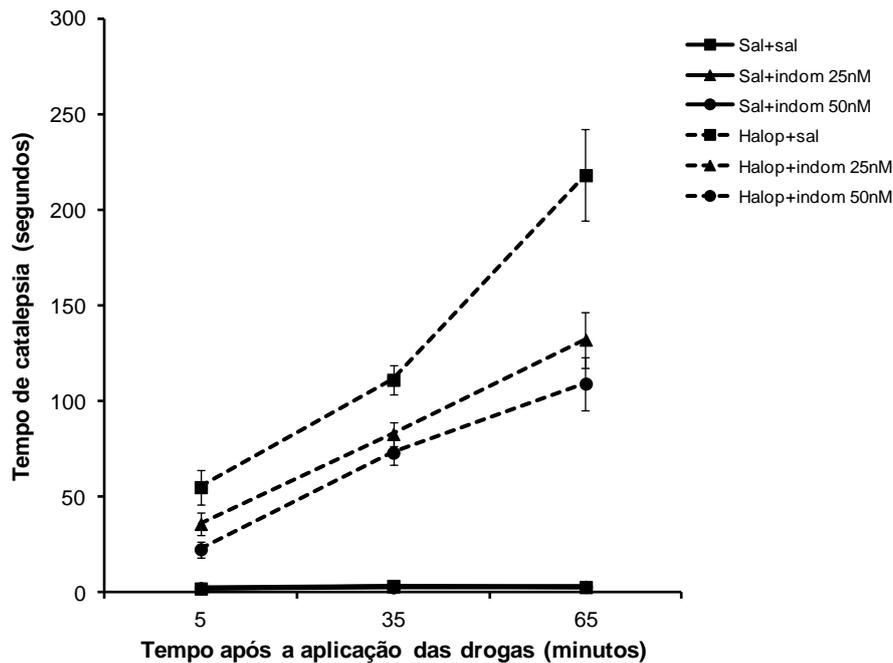


Figura 9 – Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento Ib, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas. Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib, estão apresentados na Tabela 6 (anexo II) e ilustrados na Figura 10.

Na comparação entre os grupos experimentais, houve diferença significativa entre eles, em relação aos comportamentos de exploração horizontal (quadrantes percorridos) e de exploração vertical (erguimentos) expressos pelos animais. Em relação à exploração horizontal, os animais dos grupos que receberam percorreram um número menor de quadrantes que aqueles dos grupos experimentais salina. Além disso, os animais do grupo L-haloperidol + indometacina 25 nM percorreram um número maior de quadrantes que aqueles do grupo L-haloperidol + salina, indicando uma reversão parcial do efeito hipocomotor do L-haloperidol, na dose de 25 nM. Em relação à exploração vertical, os animais dos grupos que receberam L-haloperidol (L-haloperidol + salina e L-haloperidol + indometacina 25 e 50 nM) realizaram menos erguimentos que aqueles dos grupos experimentais salina + salina, salina + indometacina 25 nM e Salina+indometacina 50 nM. Além disso, os animais do grupo salina + salina realizaram mais erguimentos que os animais dos grupos Salina+indometacina 25 nM e salina + indometacina 50 nM.

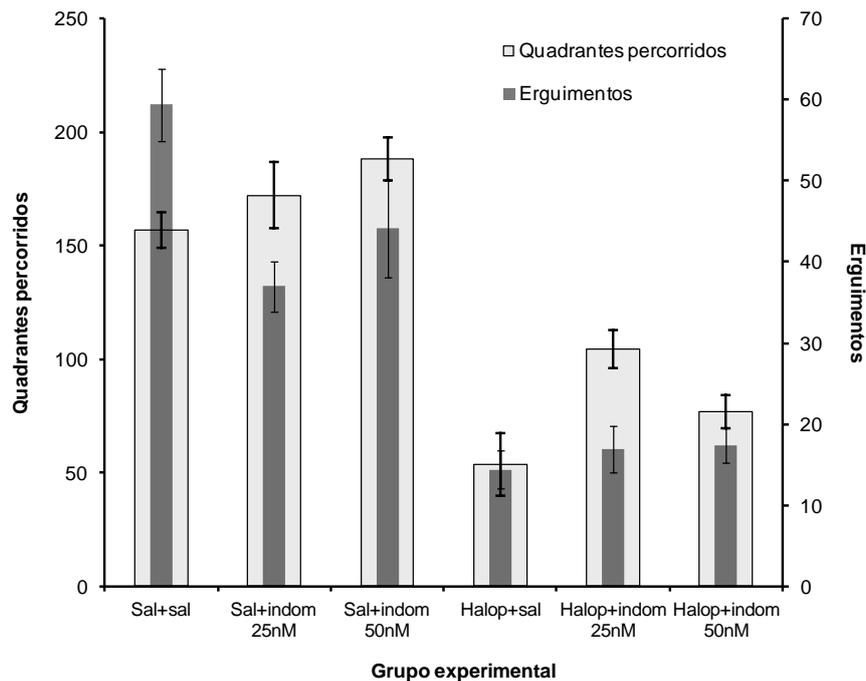


Figura 10 – Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib. Cada coluna representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados referentes á avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib.

Grupos experimentais	Avaliação da marcha I	
	Base de sustentação (cm)	Comprimento do passo (cm)
Salina+veículo	25,30±0,88AB	39,13±1,11AB
Salina+indometacina 25 nM	28,80±1,10A	41,25±0,83A
Salina+indometacina 50 nM	24,75±1,01B	39,25±1,09AB
Haldol + veículo	25,61±0,62AB	35,58±0,96B
Haldol +indometacina 25 nM	25,36±0,57AB	35,25±0,82B
Haldol +indometacina 50 nM	24,55±0,88B	37,33±0,98AB
Valor de p (entre grupos)	0,015	<0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, houve diferença entre eles em relação à base de sustentação, sendo que para os animais do grupo Salina + indometacina 25 nM ela foi maior do que para os animais dos grupos salina + indometacina 50 nM e L-haloperidol + indometacina 50 nM. Em relação ao comprimento do passo, também houve diferença entre os grupos experimentais, sendo que o comprimento do passo dos animais do grupo salina+indometacina 25 nM foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos L-haloperidol + salina e L-haloperidol + indometacina 25 nM.

Já os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib, estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados referentes á avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib.

Grupos experimentais	Avaliação da marcha II	
	Desvio ântero-posterior (cm)	Desvio látero-lateral (cm)
Salina+ veículo	9,06±1,54A	4,39±0,49A
Salina+indometacina 25 nM	9,99±1,46A	5,36±0,16A
Salina+indometacina 50 nM	5,85±1,05A	4,35±0,30A
Haldol + veículo	6,63±1,07A	4,83±0,27A
Haldol +indometacina 25 nM	4,74±1,01A	4,11±0,07A
Haldol +indometacina 50 nM	5,25±1,11A	4,71±0,35A
Valor de p (entre grupos)	0,020	0,080

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas iguais na coluna indicam diferença não significativa entre os grupos experimentais (teste ANOVA de uma via, $p>0,05$).

Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais, em relação aos parâmetros desvio ântero-posterior e desvio látero-lateral durante a avaliação funcional da marcha.

4.3 Resultados do Experimento IIa

Os resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento IIa, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas, estão apresentados na Tabela 9 (anexo II) e ilustrados na Figura 11.

Na análise de variância de duas vias dos dados referentes ao tempo de catalepsia nos animais dos grupos do Experimento IIa, houve efeito do grupo experimental ($p<0,001$), efeito do tempo ($p<0,001$) e interação entre grupo e tempo ($p<0,001$). Na comparação entre os momentos 5, 35 e 65

minutos, em relação ao comportamento de catalepsia, houve diferença entre estes momentos de análise para os grupos Salina + salina, Salina + naproxeno 15 mg/kg, L-haloperidol + salina, L-haloperidol + naproxeno 15 mg/kg e L-haloperidol + naproxeno 30 mg/kg. Para os grupos Salina + salina e Salina + naproxeno 30 mg/kg, o tempo de catalepsia no momento 35 minutos foi maior do que aquele observado no momento 5 minutos após a aplicação das drogas. Para os grupos L-haloperidol + salina e L-haloperidol + naproxeno 15 mg/kg, o tempo de catalepsia no momento 65 minutos foi maior do que aquele nos momentos 5 e 35 minutos. Nestes grupos, o tempo de catalepsia no momento de 35 minutos também foi maior do que aquele para o momento de 5 minutos. Para o grupo L-haloperidol + naproxeno 30 mg/kg, o tempo de catalepsia nos momentos 35 e 65 minutos foi maior do que aquele observado no momento de 5 minutos. Para o grupo salina + naproxeno 15 mg/kg, não houve diferença significativa entre os momentos de análise, em relação ao tempo de catalepsia. Na comparação entre os grupos experimentais em cada momento de análise, nos momentos 5, 35 e 65 minutos, o tempo de catalepsia dos grupos que receberam L-haloperidol (L-haloperidol + salina, L-haloperidol + naproxeno 15 e 30 mg/kg) foi significativamente maior do que o daquele observado para os grupos salina + salina, salina + naproxeno 15 mg/kg e salina + naproxeno 30 mg/kg.

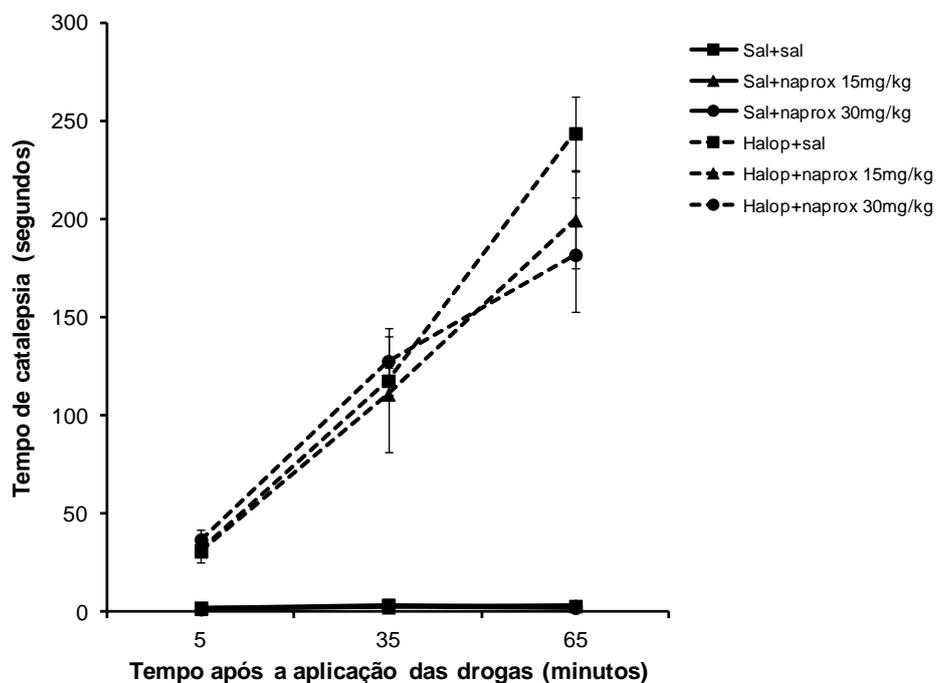


Figura 11 – Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento IIa, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas. Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa, estão apresentados na Tabela 12 (anexo II) e ilustrados na Figura 10.

Na comparação entre os grupos experimentais, houve diferença significativa entre eles, em relação aos comportamentos de exploração horizontal (quadrantes percorridos) e de exploração vertical (erguimentos) expressos pelos animais. Em relação à exploração horizontal, os animais dos grupos que receberam L-haloperidol (L-haloperidol + salina, L-haloperidol + naproxeno 15 e 30 mg/kg) percorreram um número menor de quadrantes que aqueles dos grupos experimentais Salina + salina, salina + Naproxeno 15 e 30 mg/kg. Em relação à exploração vertical, os animais do grupo salina + naproxeno 30 mg/kg, realizaram um número maior de erguimentos que aqueles dos demais grupos experimentais. Além disso, os animais do grupo salina + naproxeno 15 mg/kg, realizaram mais erguimentos que os animais do grupo L-haloperidol + salina.

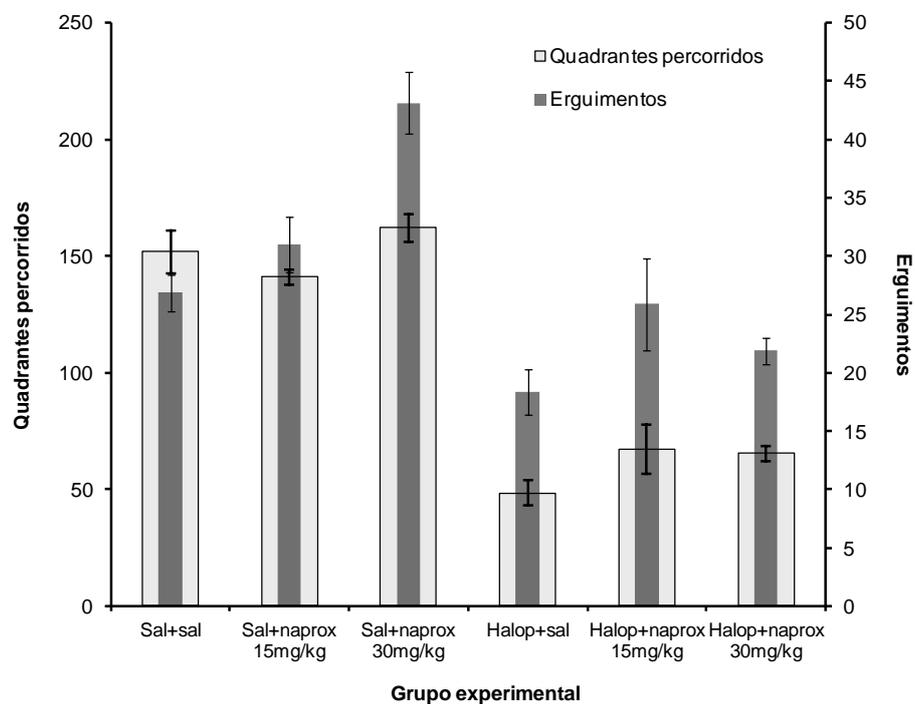


Figura 12 – Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa. Cada coluna representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa, estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa.

Grupos experimentais	Avaliação da marcha I	
	Base de sustentação (cm)	Comprimento do passo (cm)
Salina+ veículo	22,96±0,91A	37,03±0,89A
Salina+naproxeno 15 mg/kg	22,84±0,72A	36,15±0,54A
Salina+naproxeno 30 mg/kg	22,46±0,67A	36,33±0,71A
Haldol + veículo	25,29±0,61A	37,30±3,12A
Haldol +naproxeno 15 mg/kg	25,39±0,52A	34,10±1,22A
Haldol +naproxeno 30 mg/kg	23,80±0,58A	34,45±1,38A
Valor de p (entre grupos)	0,009	0,612

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas iguais na coluna indicam diferença não significativa entre os grupos experimentais (teste ANOVA de uma via, $p>0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, não houve diferença significativa entre eles, em relação aos parâmetros base de sustentação, comprimento do passo e desvio ântero-posterior, avaliados durante a avaliação funcional da marcha.

Já os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa, estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa.

Grupos experimentais	Avaliação da marcha II	
	Desvio ântero-posterior (cm)	Desvio látero-lateral (cm)
Salina+ veículo	3,59±0,72A	4,06±0,32AB
Salina+naproxeno 15 mg/kg	5,65±1,07A	3,26±0,26B
Salina+naproxeno 30 mg/kg	5,23±1,08A	3,53±0,29AB
Haldol + veículo	7,95±0,56A	4,38±0,30AB
Haldol +naproxeno 15 mg/kg	5,00±1,19A	4,80±0,35A
Haldol +naproxeno 30 mg/kg	4,98±0,97A	3,65±0,37AB
Valor de p (entre grupos)	0,068	0,014

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$).

Em relação ao desvio látero-lateral, houve diferença entre os grupos experimentais (teste ANOVA de uma via, $p=0,014$), sendo o desvio observado no grupo L-haloperidol + naproxeno 15 mg/kg, maior do que aquele para o grupo Salina + naproxeno 15 mg/kg.

4.4 Resultados do Experimento IIb

Os resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento IIb, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas, estão apresentados na Tabela 13(anexo II) e ilustrados na Figura 13.

Na análise de variância de duas vias dos dados referentes ao tempo de catalepsia nos animais dos grupos do Experimento Ib, houve efeito do grupo experimental ($p<0,001$), efeito do tempo ($p<0,001$) e interação entre grupo e tempo ($p<0,001$). Na comparação entre os momentos 5, 35 e 65 minutos, em relação ao comportamento de catalepsia, houve diferença entre estes momentos de análise para os grupos L-haloperidol + salina, L-haloperidol + naproxeno 25 nM e L-haloperidol + naproxeno 50 nM. Para os grupos L-haloperidol + naproxeno 25 e 50 nM, o tempo de catalepsia nos momentos 35 e 65 minutos foi maior do que aquele observado no momento de 5 minutos. Para o grupo L-haloperidol + salina, o tempo de catalepsia no momento 65 minutos foi maior do que aquele nos momentos 5 e 35 minutos. Ainda neste grupo, o tempo de catalepsia no momento de 35 minutos foi maior do que aquele para o momento de 5 minutos. Para os grupos salina + salina, salina + naproxeno 25 nM e salina + naproxeno 50 nM, não houve diferença significativa entre os momentos de análise, em relação ao tempo de catalepsia.

Na comparação entre os grupos experimentais em cada momento de análise, nos momentos 5, 35 e 65 minutos, o tempo de catalepsia dos grupos que receberam L- foi significativamente maior do que o daquele observado para os grupos salina (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$). Além disso, no momento 5 minutos, o tempo de catalepsia observado no grupo L-haloperidol + naproxeno 25 nM foi maior do que aquele para os grupos L-haloperidol + salina e L-haloperidol + naproxeno 50 nM. No momento de 65 minutos, o tempo de catalepsia observado no grupo L-haloperidol + naproxeno 50 nM foi menor do que aquele para o grupo L-haloperidol + salina. Este último resultado evidencia que a dose de 50 nM de naproxeno foi capaz de reverter parcialmente a catalepsia induzida pelo L-haloperidol.

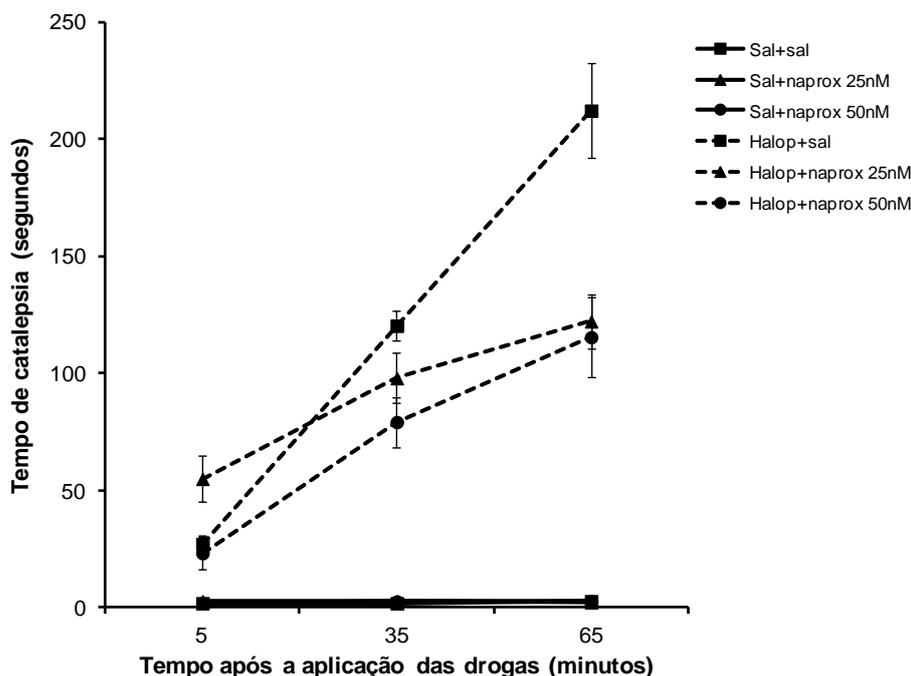


Figura 13 – Gráfico ilustrando o tempo de catalepsia para os grupos do experimento Iib, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas. Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Iib, estão apresentados na Tabela 14 (anexo II) e ilustrados na Figura 14.

Na comparação entre os grupos experimentais, houve diferença significativa entre eles, em relação aos comportamentos de exploração horizontal (quadrantes percorridos) e de exploração vertical (erguimentos) expressos pelos animais. Em relação à exploração horizontal, os animais dos grupos que receberam L-haloperidol (L-haloperidol + salina, L-haloperidol + naproxeno 25 e 50 nM) percorreram um número menor de quadrantes que aqueles dos grupos experimentais salina + salina, salina + Naproxeno 25 e 50 nM. Além disso, os animais do grupo salina + naproxeno 25 nM percorreram menos quadrantes que os animais do grupo Salina+salina. Em relação à exploração vertical, os animais dos grupos que receberam L-haloperidol (L-haloperidol + salina, L-haloperidol + naproxeno 25 e 50 nM) realizaram menos erguimentos que aqueles dos grupos experimentais salina + salina, salina + Naproxeno 25 e 50 nM. Além disso, os animais do grupo salina + naproxeno 25 nM realizaram menos erguimentos que os animais dos grupos salina + salina e salina + naproxeno 50 nM.

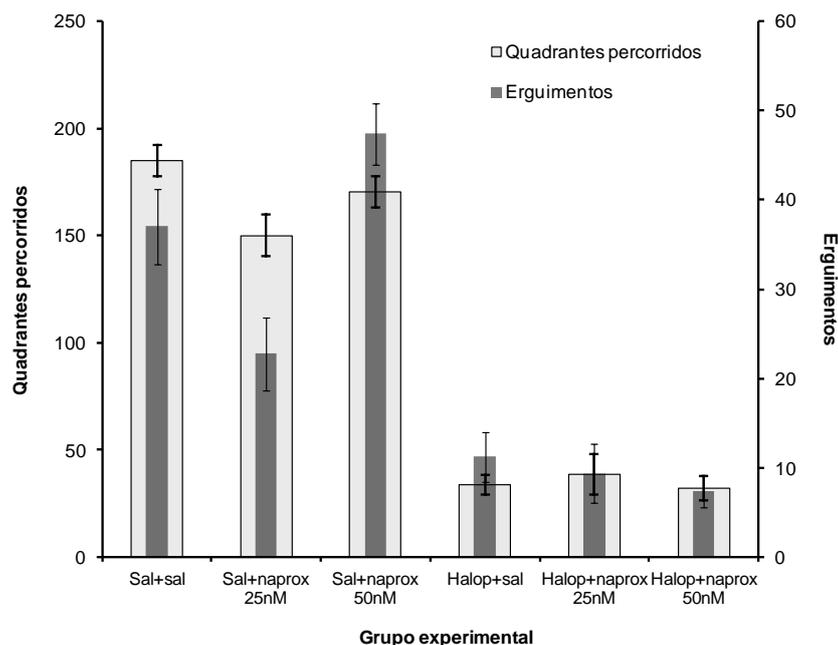


Figura 14 – Gráfico ilustrando o número de quadrantes percorridos (exploração horizontal) e de erguimentos (exploração vertical) expressos pelos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb. Cada coluna representa à média e a barra o erro padrão da média.

Os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação à base de sustentação e ao comprimento do passo, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb, estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Resultados referentes à base de sustentação e comprimento do passo dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb

Grupos experimentais	Avaliação da marcha I	
	Base de sustentação (cm)	Comprimento do passo (cm)
Salina+ veículo	25,18±0,33AB	40,33±0,44AB
Salina+naproxeno 25 nM	23,71±0,60AB	36,95±1,41BC
Salina+naproxeno 50 nM	26,34±1,32A	42,78±1,22A
Haldol + veículo	22,73±0,43B	34,10±1,20C
Haldol +naproxeno 25 nM	25,11±0,63AB	35,93±1,58BC
Haldol +naproxeno 50 nM	25,23±0,59AB	36,13±1,23BC
Valor de p (entre grupos)	0,017	<0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

Houve diferença significativa entre os grupos experimentais, em relação à base de sustentação, sendo que a base de sustentação para os animais do grupo Haloperidol + salina foi significativamente menor que a daqueles do grupo salina + naproxeno 50 nM. Quanto ao comprimento do passo, os grupos também diferiram entre si, sendo o comprimento do passo dos

animais do grupo salina + naproxeno 50 nM maior do que o daqueles dos grupos salina + naproxeno 25 nM, L-haloperidol + salina e L-haloperidol + naproxeno 25 e 50 nM. Além disso, o comprimento do passo dos animais do grupo Salina+salina foi maior que aquele dos animais dos grupos L-haloperidol + salina e L-haloperidol + naproxeno 25 e 50 nM.

Já os resultados referentes à avaliação da marcha, especificamente em relação ao desvio ântero-posterior e ao desvio látero-lateral, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb, estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – referentes ao desvio Antero-posterior e desvio látero-lateral dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb

Grupos experimentais	Avaliação da marcha II	
	Desvio ântero-posterior (cm)	Desvio látero-lateral (cm)
Salina+ veículo	4,65±0,94A	5,00±0,43AB
Salina+naproxeno 25 nM	7,11±0,64A	3,75±0,29BC
Salina+naproxeno 50 nM	5,80±0,52A	5,23±0,33AB
Haldol + veículo	6,89±1,41A	3,45±0,21C
Haldol +naproxeno 25 nM	9,10±1,34A	4,73±0,39ABC
Haldol +naproxeno 50 nM	6,14±0,82A	5,28±0,43A
Valor de p (entre grupos)	0,068	0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

Não houve diferença entre os grupos experimentais, em relação ao desvio ântero-posterior na avaliação funcional da marcha porém, em relação ao desvio látero-lateral uma diferença significativa entre os grupos foi observada, sendo o desvio no grupo L-haloperidol + naproxeno 50 nM maior do que aquele para os grupos salina + naproxeno 25 nM e L-haloperidol + salina. Além disso, o desvio látero-lateral nos animais do grupo L-haloperidol + salina foi menor que aquele para os grupos salina + salina e salina + naproxeno 50 nM.

5 DISCUSSÃO

Foi avaliada a influência da indometacina e naproxeno, dois antagonistas não seletivos da COX, aplicadas via i.p. ou i.c., no comportamento motor em camundongos empregando os testes de catalepsia, campo aberto e avaliação da marcha, após a inibição de receptores de dopamina (L-haloperidol) nos núcleos basais do encéfalo.

Na presente investigação, os resultados obtidos demonstraram que o L-Haloperidol (1mg/kg i.p.) causa catalepsia em camundongos e a indometacina (30mg/kg i.p. e 50nM/1µL i.c.) e o naproxeno (50nM/11µL i.c.) tem efeito de reverter, apenas parcialmente, o seu efeito cataléptico. A reversão das alterações motoras no campo aberto só foi observada na indometacina para as doses 15 e 30mg/kg, via i.p. e 25nM, via i.c. No campo aberto, não foram observadas modificações no comportamento motor pelo uso do naproxeno, aplicado tanto via i.p. quanto via i.c. Na avaliação funcional da marcha, houve apenas reversão significativa das alterações motoras pela droga naproxeno nas doses 15mg/kg i.p. e 50nM/1µL i.c., no desvio látero-lateral.

Alguns antipsicóticos que são rotineiramente utilizados na gestão de alguns transtornos, são geralmente associados com efeitos colaterais extrapiramidais. A catalepsia em animais por neurolépticos típicos como o L-haloperidol é um modelo comportamental robusto para estudar a função nigroestriatal e a sua modulação por outros sistemas de neurotransmissores colinérgicos e dopaminérgicos. A catalepsia ocorre devido ao bloqueio de dopamina (D2) e a transmissão dopaminérgica é reduzida (AGHASADEGHI et al., 2012). Estes achados hipocinéticos mostraram que a inibição de receptores de dopamina dos núcleos basais do encéfalo causou hipocinesia e catalepsia, sintomas parecidos com aqueles observados em pacientes com doença de Parkinson (DEL BEL *et al.*, 2002)

É possível afirmar que o L-Haloperidol desempenha um papel no controle do comportamento motor (KURZ, 2007), além de diminuir a atividade motora espontânea dos roedores (PAMPLONA; JUNIOR; TAKAHASHI, 2010). Corroborando com estes estudos, neste trabalho, o grupo L-Haloperidol+salina teve um tempo de catalepsia significativamente maior que o grupo salina+salina. Portanto o L-Haloperidol causou catalepsia e modificou significativamente a exploração horizontal e vertical no teste do campo aberto.

O tratamento da doença de Parkinson está baseado em terapias dopaminérgicas, com o intuito de reverter os efeitos da diminuição de dopamina estriatal induzida pela destruição da via

nigro-estriatal (OBESO; OLANOW; NUT, 2000; JANKOVIC, 2002). A reposição de dopamina (DA), com L-DOPA como terapêutica, ainda é o tratamento mais eficaz (FAHN, 2008; OLANOW, 2008). Porém, atualmente, terapias não dopaminérgicas têm sido colocadas em prática como condutas terapêuticas para alterações motoras da DP (JENNER, 2008). Novas abordagens para o tratamento de distúrbios de movimentos utilizando sistemas não dopaminérgicos como adrenérgicos, glutamato, canabióides, serotoninérgicos e colinérgicos têm sido propostos (JENNER, 2008; OHNO *et al.*, 2010; BROTHIE, 2005) e entre eles, pode-se citar a enzima COX-2 que apresenta efeito modulador na transmissão neural associada à rigidez na DP (AGHASADEGHI, 2012; FATHI *et al.*, 2008; KUMMER, 2002).

Embora se conheça o papel da COX, bem como sua importância na transmissão neural influenciando no comportamento motor, ainda não existem evidências científicas explicando com clareza como a COX interage com os receptores de DA. Essa enzima está envolvida com a transmissão nervosa e a modulação do SNC (SERRA, 2010) e tem se mostrado induzida especificamente nos neurônios dopaminérgicos na substância negra, parte compacta da DP do ser humano (LIMA *et al.*, 2006). No SNC, a COX-1 se distribui por todo o tecido nervoso e está envolvida com funções integrativas complexas, modulação do sistema nervoso autônomo (SNA) e processamento sensorial.

Os AINEs exercem suas propriedades anti-inflamatórias por inibir a isoenzima COX e os efeitos benéficos em várias doenças neurodegenerativas têm sido relatados (TEISMANN *et al.*, 2003; MINGHETTI, 2004). Neste estudo foi observado que a indometacina e o naproxeno reverteram parcialmente a catalepsia induzida pelo L-Haloperidol. A indometacina é um anti-inflamatório não esteroideal não seletivo, o qual atua ao inibir ambas isoformas da COX. Já o naproxeno é uma enzima lipossolúvel que penetra no SNC mais facilmente e está associada a leves alterações no humor e na função cognitiva (CHAHADE; GIORGI; SZAJUBOK, 2008). Estudos têm avaliado os efeitos da indometacina como possível agente terapêutico em doenças neurodegenerativas. No estudo realizado por ROSS *et al.*, (2002) a indometacina resultou em 50-60% de redução dos níveis de prostaglandinas cerebrais após 1h de administração no teste de catalepsia, e também, foi capaz de reduzir a catalepsia induzida pelo L-haloperidol. Então, estes autores sugerem que a inibição não seletiva da ciclooxigenase poderia realizar um efeito modulatório sobre a liberação dopaminérgica, e, que outros neurotransmissores poderiam estar envolvidos.

No presente estudo, além da reversão parcial da catalepsia, também observamos no teste de campo aberto que os animais que receberam Indometacina após a inibição de receptores D2 de dopamina (DA) tiveram reversão total com maior resposta na exploração vertical (doses 15 e

30mg/kg i.p), e uma reversão parcial na exploração horizontal (doses 15 e 30mg/kg i.p e 25nM i.c.) na hipolocomoção. Esta droga se mostrou eficaz em relação à atividade motora dos camundongos, indicando a possibilidade de sua adoção na terapia futura da doença de Parkinson (DP). Já em relação ao naproxeno, apenas na dose 50nM (i.c.) houve reversão significativa na dose aplicada.

No estudo realizado por Braga (2008), a indometacina (10mg/kg i.p.) foi capaz de reverter a redução da atividade motora (aumento da latência para início do movimento, redução da exploração vertical e horizontal e aumento do tempo de imobilidade) provocada pela reserpina. Já nos grupos que utilizaram a indometacina (i.c.), na dose de 25nM houve reversão parcial do efeito hipolocomotor causado pelo haloperidol, representado pelo aumento do número de quadrantes percorridos pelos animais. Já no estudo realizado por LIMA (2005), em um modelo animal da DP, com lesão da Substância Negra compacta com a neurotoxina MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), foi demonstrado que o grupo que utilizou Indometacina apresentou aumento significativo na frequência de locomoção frente ao grupo controle, mostrando que a Indometacina estimulou a marcha nos roedores.

As alterações na marcha de ratos com DP induzidos por L-haloperidol são bem descritas e assemelham-se com as alterações de pacientes que desenvolvem a doença (KURZ, 2007; AMENDE *et al.*, 2005). A diminuição do comprimento da passada (marcha festinante) (POTHAKOS, 2009), o aumento da frequência de passos e a diminuição da uniformidade do padrão da marcha são alguns exemplos dessas mudanças. Existem poucos estudos que detalhem minuciosamente essas alterações motoras de pacientes que utilizam bloqueadores dos receptores D2 de dopamina, sendo que alguns destes estudos apenas citam a existência de um déficit motor durante a passada, com alterações neuromusculares que prejudicariam a marcha normal (BAPTISTA, 2011; LIEBERMAN *et al.*, 2005)

Não foram encontrados estudos que evidenciam que a inibição da COX é capaz de reverter as alterações da marcha induzidas por Haloperidol ou outra droga com efeitos motores. Porém, neste estudo, os resultados encontrados apontam que a inibição da COX não modificou as alterações da marcha induzidas por L-haloperidol. No entanto, os animais que receberam salina+indometacina na dose de 25nM i.c apresentaram uma base de sustentação e o comprimento do passo significativamente maior do que aqueles que receberam apenas o veículo. Em relação ao naproxeno, os animais que receberam salina+naproxeno na dose de 15mg/kg i.p. e 50nM i.c., apresentaram respectivamente desvio látero-lateral e comprimento do passo maiores que seus

controles. Estes resultados sugerem que a inibição da COX por si só pode causar alterações no comportamento motor dos animais.

A COX-2 e seus metabólitos, as prostaglandinas, têm um papel importante na liberação de neurotransmissores na rigidez associada com a DP, provocando um aumento dos níveis de acetilcolina (ACh) no cérebro através da produção de PGE2. Estudos futuros serão necessários para determinar os níveis de prostaglandinas nas áreas cerebrais, quando o L-haloperidol produz comportamentos catalépticos. No estudo realizado por PODDUBIUK & KLEINROK (1976), as PGF1x e PGF2x aumentaram o nível de acetilcolina (ACh) no cérebro de roedores. Esses fatos mostram que o balanço entre dopamina e acetilcolina (ACh) é de suma importância na regulação do comportamento e seria uma hipótese de como a COX-2 atua no sistema dopaminérgico através do sistema colinérgico.

No estriado (núcleo caudado e putâmen), acetilcolina (ACh) e dopamina (DA) interagem fortemente e desempenham um papel importante no controle motor normal (CALABRESI *et al*, 2006; JENSEN *et al*, 2011). O desequilíbrio da transmissão de acetilcolina e dopamina no sistema nigroestriatal é a base patogênica das desordens extrapiramidais, como no caso da DP. De acordo com a clássica hipótese clínica, a diminuição da atividade do sistema dopaminérgico é paralela à hiperfunção do sistema colinérgico. A liberação de acetilcolina depende de um controle inibitório contínuo de dopamina, mediante sua ação sobre os receptores de dopamina do tipo D2, presentes nos interneurônios colinérgicos. A diminuição da atividade dopaminérgica resulta no aumento da liberação de acetilcolina e, portanto no excesso de estimulação dos receptores muscarínicos do estriado (ALFARO *et al.*, 2005) (Figura 15).

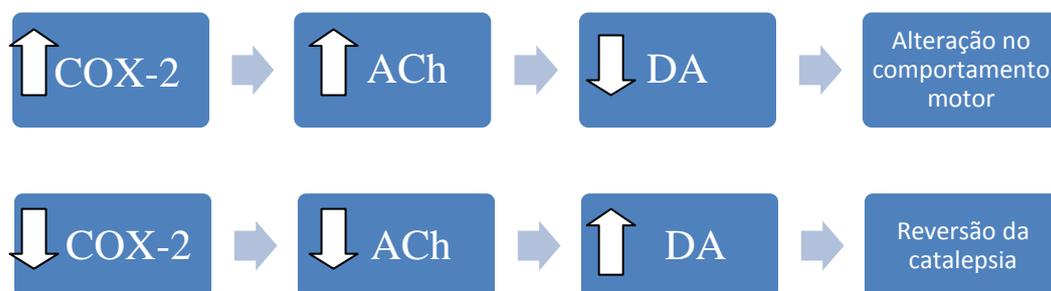


Figura 15 – Esquema da modulação da COX-2 através da via colinérgica atuando nos receptores de dopamina na via nigroestriatal.

Por fim, novos estudos são necessários para confirmarem a interação entre estes neurotransmissores, não só para o entendimento da fisiologia nos núcleos basais, mas também para o desenvolvimento de tratamentos eficazes a curto, a médio e à longo prazo para a Doença de Parkinson, buscando melhorar a qualidade de vida desses indivíduos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados observados neste estudo levam às seguintes conclusões:

- A inibição de receptores de dopamina (D2), com L-Haloperidol, causa catalepsia e hipolocomoção nos animais;
- Os inibidores não seletivos da COX revertem a catalepsia sendo a indometacina nas doses 50nM i.c. e 30mg/kg i.p e o naproxeno na dose de 50nM. No campo aberto a indometacina reverteu a hipolocomoção nas doses 15mg/kg i.p; 30mg/kg i.p. e 25nM e o naproxeno não teve o efeito de reversão. Já na avaliação da marcha apenas o naproxeno reverteu nas doses 15mg/kg i.p. e 50nM i.c.

Estes resultados podem contribuir para o entendimento da fisiologia dos núcleos da base e da doença de Parkinson, além de poder tornar-se uma alternativa de manipulações farmacológicas futuras, para o tratamento da DP em todas as fases da doença, sem o declínio da eficácia e que possam também prevenir o surgimento de complicações.

REFERÊNCIAS

Aghasadeghi MR, Siadat SD, Ardestani MS, Arabzadeh AJ, Elmi M, Moghaddam HF. Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor Compound 11b Improves Haloperidol-Induced Catatonia by Enhancing the Striatum Dopaminergic Neurotransmission. *Iran J Pharm Res.* 2012;11(1):339-345.

Alfaro GLJ. La cafeína y los antagonistas de los receptores A 2a de la adenosina como posibles adyuvantes de la terapia anticolinérgica em la enfermedad de parkinson. *Rev. Biomed.* 2005;Jun;16(2):99-111.

Amende I, Kale A, Mccue S, Glazier S, Morgan JP, Hampton TG. Gait dynamics in mouse models of Parkinson's disease and Huntington's disease. *J. Neuroeng Rehabil.* 2005;2:20.

Arroyo CT. Comportamento locomotor na doença de Parkinson: tarefas de subir e descer degraus [Dissertação]. Rio Claro - SP: Universidade Estadual Paulista; 2010.

Baptista PPA. Efeitos do exercício físico sobre diferentes parâmetros locomotores e comportamentais em ratos Wistar tratados com Haloperidol [Dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2011.

Braak H, Stanley FL. The Staging Procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered. *Mov Disord.* 2006; 21(12):2042-2051.

Braak H, Del TK. Nervous System pathology in sporadic Parkinson's Disease. *Neurology.* 2008;70:1916-1925.

Braga AR. Indução da morte de neurônios dopaminérgicos por MPTP como modelo animal da Doença de Parkinson: Uma abordagem molecular e farmacológica [Tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2008.

Brotchie JM. Adjuncts to dopamine replacement: a pragmatic approach to reducing the problem of dyskinesia in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 1998; 13(6):871-876.

Brotchie JM, Lee J, Venderova K. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2005; 112:359-391.

Calabresi P. A convergent model for cognitive dysfunctions in parkinson's disease: the critical dopamine-acetylcholine synaptic balance. *Lancet Neurol.* 2006. Nov; (5):974-983.

Chahade WH, Giorgi RDN, Szajubok JCM. Antiinflamatórios não hormonais. *Einstein.* 2008;6 (Supl 1):S166-S74.

Del Bel EA, *et al.* Motor effects of acute and chronic inhibition of nitric oxide synthesis in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 2002 Apr; 161(1):32-37.

Dutra MF. Efeitos do exercício físico sobre a expressão da proteína glial fibrilar ácida (GFAD) e comportamento motor de ratos submetidos ao modelo de doença de Parkinson induzida por 6-OHDA. [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre; 2009.

Ekman LL. Neurociência: fundamentos para a reabilitação. Guanabara Koogan S. A. 2000. Rio de Janeiro, R. J.

Elsworth JD, Roth RH. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of parkinson's disease. *Experimental Neurology*. 1997; 144:4-9.

Fahn S. The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008; 23:S497-S508.

Fathi MH, Shafiee AM, Saffari M, Navidpour L, Rahmin A. Dopaminergic but not glutamatergic neurotransmission is increased in the striatum after selective COX-2 inhibition in normal and hemiparkinsonian rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008; 103:293-296.

Fernagut PO, Diguët E, Labattu B, Tison F. A simple method to measure stride length as an index of nigrostriatal dysfunction in mice. *J Neurosci Methods*. 2002; 113:123-130.

Ferraz AC, Mateussi F, Szawka RE, Rizelio V, Delattre AM, Ringon P, Hermel EES, Xavier LL, Achaval M, Anselmofranci JA. Evaluation of estrogen neuroprotective effect on nigrostriatal dopaminergic neurons following 6-hydroxydopamine injection into the substantia nigra pars compacta or the medial forebrain bundle. *Neurochem Res*. 2008; 33: 1238-1246.

Frota LH. Cinquenta anos de medicamentos antipsicóticos em psiquiatria. Rio de Janeiro: CD-Rom; 2003.

Gardner EL, ASHBY JR, CR. Heterogeneity of the mesotelencephalic dopamine fibers: physiology and pharmacology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 24, p. 115-118, 2000.

Gerlach, M, Riederer P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J Neural Transmission*. 1996; 103:987-1041.

Gray JA. The inheritance of fear. *The psychology of fear and stress*. (4), 57-85. 1987. Cambridge, Press Syndicate of the University of Cambridge. Ref Type: Book Chapter.

Jankovic J. Levodopa strengths and weaknesses. *Neurology*.2002. Feb; 58(4) Suppl 1: S19-S32.

Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79:368-76.

Jenner P. Pathophysiology and biochemistry of dyskinesia: clues for the development of non-dopaminergic treatments. *J.Neurol*. 2000. Apr; 247 Suppl 2: II43-II50.

Jenner P. A2A antagonists as novel non-dopaminergic therapy for motor dysfunction in PD. *Neurology*. Dec; 61(11) Suppl 6:S32-S38. 2003.

Jenner P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Rev Neurosci*. 2008; 9:665-677.

Jensen A, Shimidt LS, Dencker D, Schulein C, Wess J, Wortwein G, Woldbye DP . Antipsychotic-induced catalepsy is attenuated in mice lacking the M4 muscarinic acetylcholine receptor. *Eur J Pharmacol*. 2011; (1-3):39-44.

- Joel D, Weiner I. The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience*. 2000; (96-3):451-474.
- Junior COG, Felício AC, PRADO GF. Sistema Extrapiramidal: Anatomia e Síndromes Clínicas. *Rev Neurocienc*. 2006; 14(1):048-051.
- Hoehn BD, Palmer TD, Steinberg GJ. Neurogenesis in rats after focal cerebral ischemia is enhanced by indomethacin. 2005; 36(12):2718-2724.
- Hruska RE, Kennedy S, Silbergeld EK. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci*. 1979, Jul; 25(2):171-79.
- Kim J, Alger BE. Inhibition of cyclooxygenase-2 potentiates retrograde endocannabinoid effects in hippocampus. *Nat Neurosci*. 2004; 7:697-698.
- Kitaoka S, Furuyashiki T, Nishi A, Shuto T, Koyasu S, Matsuoka T, Miyasaka M, Greengard P, Narumiya S. Prostaglandin E2 acts on EP1 receptor and amplifies both Dopamine D1 and D2 receptor signaling in the Striatum. *Journal of Neuroscience*. 2007. Nov. 27(47):12900- 12907.
- Kostrzewa RM, Nowak P, Kostrzew JP, Kostrzewa RA, Brus R. Peculiarities of L -DOPA treatment of Parkinson's disease. *Amino Acids*. 2005; 28:157-164.
- Kummer CL, Coelho TCRB. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxygenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais **Cyclooxygenase-2 Inhibitors Nonsteroid Anti-Inflammatory Drugs: Current Issue*. *Rev Bras Anesthesiol*. 2002; 52:4:498 – 512.
- Kurz MJ, Pothakos K, Jamaluddin JS, Scott-Pandorf M, Arellano C, Lau YS. A chronic mouse model of Parkinson's disease has a reduced gait certainty. *Neurosci Lett* 2007; 429:39-42.

Lieberman JA, Stroup TS, Mcevoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, Keefe RSE, Davis SM, Davis CE, Lebowitz BD, Severe J, Hsiao JK. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med.* 2005; 353:1209-1223.

Lima MMS. Estudo da participação da ciclooxygenase-2 em modelos animais de Parkinsonismo [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2005.

Lima MMS, Reksidlera AB, Zanatab SM, Machado AB, Tufik S, Vitala MABF. Different parkinsonism models produce a time-dependent induction of COX-2 in the substantia nigra of rats. *Brain reserch*, 2006.

Lowdon IM, Seaber AV, Urbaniak JR. An improved method of recording rat tracks for measurement of the sciatic functional index of de Medinaceli. *J. Neurosci.* 1988. Jul; 24(3): 279-81.

Metz GA, Tse A, Ballermann M, Smith LK, Fouad K. The unilateral 6-OHDA rat model of Parkinson's disease revisited: an electromyographic and behavioural analysis. *Eur J Neurosci.* 2005; 22:735-744.

Minghetti L. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in inflammatory and degenerative brain diseases. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004. Sep; 63(9):901-10.

Miyamoto S, Duncan GE, Marx CE, Lieberman JA. Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Mol Psychia.* 2005.

Miwa H, Nishi K, Fuwa T, Mizuno Y. Effects of blockade of metabotropic glutamate receptors in the subthalamic nucleus on haloperidol-induced parkinsonism in rats. *Neurosci.* 2000; 282:21-24.

Mullenix P, Norton S, Culver B. Locomotor damage in rats after x-irradiation in utero. *Exp. Neurol.* 1975. Aug; 48(2):310-24.

Naidu PS, KULKARNI SK. Differential effects of cyclooxygenase inhibitors on haloperidol-induced catalepsy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2002. 26:819-822.

Oades RD, HALLIDAY GM. Ventral tegmental system: neurobiology.1. Anatomy and connectivity. *Brain Research.* 1987; 434:117-65.

Obeso JA, Olanow CW, Nutt JG. Levodopa motor complications in Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 2000.Oct; 23(10) Suppl: S2-S7.

Olanow CW. Levodopa/dopamine replacement strategies in Parkinson's disease: future directions. *Mov Disord.* 2008; 23:613-22.

Oliveira JJO, Serrano SC, Teodoro AL, Dana BA. Os antiinflamatórios não hormonais. *Prática Hospitalar.* 2007; 9(51):173-8.

Ohno Y, Okano, M, Imaki J, Tataru A, Okumura T, Shimizu S. Atypical antipsychotic properties of blonanserin, a novel dopamine D2 and 5-HT2A antagonist. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010; (9):421-426.

Pamplona FA, Junior ML, Takahashi RN. Aspirin-triggered lipoxin induces CB1-dependent catalepsy in mice. *Neurosci Lett*. 2010.Feb; 5;470(1):33-7.

PAVÃO R. Aprendizagem implícita e a Doença de Parkinson [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2007.

Paxinos G, Franklin, KBJ. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, Compact*. 3th ed., Salt Lake City: Academic Press; 2008:256, ISBN 978-0123742445 /0123742447.

Pieper HC; Evert BO; Kaut O; Riederer PF; Waha A; Wullner U. Different methylation of the TNF-alpha promoter in cortex and substantia nigra: Implications for selective neuronal vulnerability. *Neurobiology of Disease*. 2008; 32: 521-527.

Pimentel JH. Avaliação do potencial terapêutico da guanosina em modelo animal da doença de Parkinson induzido por 6-OHDA [Graduação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

Poddubiuk ZM, Kleinrok Z. A comparison of the central actions of prostaglandins A1, E1, E2, F1alpha, and F2alpha in the rat. The effect of intraventricular prostaglandins on the action of some drugs and on the level and turnover of biogenic amines in the rat brain. *Psychopharmacology*. 1976.Oct 20; 50(1):95-102

Pothakos K, Kurz MJ, Lau Y. Restorative effect of endurance exercise on behavioral deficits in the chronic mouse model of Parkinson's disease with severe neurodegeneration. *BMC Neurosci*. 2009; 10:6.

Rainsford KD. Anti-inflammatory drugs in the 21st century. *Subcell Biochem*. 2007; 42:3-27.

Reale M; Larlori C; Tomas A; Gambi D; Perfetti B; Di Nicola M; Onofrj M. Peripheral cytokines profile in Parkinson's disease. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2009; 23:55-63.

Ricci AF, Rossodivita I, Avola R, Tayiebaty SK. The dopaminergic system in hypertension. *Clin Exp Hipertens*. 2001; 23: 15-24.

Ross BM, Brooks RJ, Lee M, Kalasinsky KS, Vorce SP, Seeman M, Fletcher PJ, Turenne SD. Cyclooxygenase inhibitor modulation of dopamine-related behaviours. *Eur J Pharmacology*. 2002; 450: 141-151.

Sanberg PR, Bunsey MD, Giordano M, Norman AB. The catalepsy test: its ups and downs. *Behav. Neurosci*. 1988; 102(5):748-759.

Sarre S, Vandeneede D, Ebinger G. Biotransformation of L-DOPA to Dopamine in the Substantia Nigra of Freely Moving Rats: Effect of Dopamine Receptor Agonists and Antagonists. *J Neurochem*. 1998; 70:1730-1739.

Sathler MF. Efeito agudo de cocaína no transporte de aminoácidos excitatórios em córtex de camundongos [Dissertação]. Niterói: Universidade Federal Fluminense, 2012.

Scalzo PL, Júnior ALT. Participação dos núcleos da base no controle do tônus e da locomoção. *Fisioter. Mov.*, Curitiba. 2009. Out/Dez; 22(4):595-603.

Sealfon SC, Olanow CW. Dopamine receptors: from structure to behavior. *Trends Neurosci*. 2000. Oct; 23(10 Suppl): S34-40.

Serra KP. Expressão da COX-2 em carcinomas de mama intraductais e invasores e sua relação com a expressão de HER-2, p53 e receptores de estrógeno e progesterona [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, 2010.

Shepherd GM. The synaptic Organization of the Brain. New York: Oxford University Press. 1998.

Skirboll LR; Grace AA; Bunney BS. Dopamine auto and postsynaptic receptors: electrophysiological evidence for differential sensitivity to dopamine agonists. *Science*. 1979; 206:80-82.

Slanina KA, Schweitzer P. Inhibition of cyclooxygenase-2 elicits a CB1- mediated decrease of excitatory transmission in rat CA1 hippocampus. *Neuropharmacology*. 2005; 49:653-659.

Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*. 2004; 56:387-437.

Sioka C, Fotopoulos A, Kyritsis A. Recent advances in PET imaging for evaluation of Parkinson's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010.

Smith WL, Lands WE. Oxygenation of polyunsaturated fatty acids during prostaglandin biosynthesis by sheep vesicular gland. *Biochemistry*. 1972; 11:3276-3285.

Souza CB. Efeitos de um treinamento em condição de dupla-tarefa sobre o desempenho motor e habilidade de dividir a atenção em pacientes com Doença de Parkinson [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2008.

St-Louis I, Singh M, Brasseur K, Leblanc V, Parent S, Asselin E. Expression of COX-1 and COX-2 in the endometrium of cyclic, pregnant and in a model of pseudopregnant rats and their regulation by sex steroids. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2010.

Stoof JC; Winogrodzka A; Van Muiswinkel FL; Wolters EC; Voorn P; Groenewegen HJ; Booij J; Drukarch B. Leads for the development of neuroprotective treatment in Parkinson's disease and brain imaging methods for estimating treatment efficacy. *European Journal of Pharmacology*. 1999; 375:75-86.

Tarazi FI, Baldessarini, R. J. Brain dopamine D4 receptors: basic and clinical status. *Int. J. Neuropsychopharmacol*. 1999; (2):41-58.

Teismann P, Tieu K, Choi DK, Wu DC, Naini A, Hunot S. Cyclooxygenase-2 is instrument in Parkinson's disease neurodegeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100:5473-5478.

Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1998; 38:97-120.

Yamagata K, Andreasson KI, Kaufmann WE, Barnes CA, Worley PF. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron*. 1993; 11:371-386.

Walsh R, Cummins RA. The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*. 1976; 83(3):482-504.

Warraich ST; Allbutt HN; Billing R; Radford J; Coster MJ; Kassiou M; Henderson JM. Evaluation of behavioural effects of a selective NMDA NR1A/2B receptor antagonist in the unilateral 6-OHDA lesion rat model. *Research Bulletin*. 2009; 78:85-90.

Williams J, Davies JA. The action of DL- 2,4-diaminobutyric acid on the cataleptogenic effects of pilocarpine and alpha-flupenthixol in rats. *Psychopharmacology*. 1979. Jun 28; 64(1):81-3.

Whimbey AE, Denenberg VH. Two independent behavioral dimensions in open-field performance. *J.Comp Physiol Psychol*. 1967; 63(3):500-504.

Zarrindast MR, Modabber M, Sabetkasai M. Influences of different adenosine receptor subtypes on catalepsy in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 1993; 113(2):257-261.

ANEXOS

Anexo 1 - Cópia do protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Anexo 2 – Tabelas referentes aos resultados de catalepsia e teste do campo aberto dos dois experimentos.

Tabela 1 - Resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento Ia, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas

Grupos experimentais	Catalepsia		
	Tempo após a aplicação das drogas (Minutos)		
	5	35	65
Salina+salina	1,50±0,46Bb	2,25±0,56Bb	4,88±0,48Ca
Salina+indometacina 15 mg/kg	2,25±0,56Ba	2,88±0,52Ba	2,75±0,25CDa
Salina+indometacina 30 mg/kg	1,38±0,32Ba	2,13±0,35Ba	2,63±0,32Da
Haldol +salina	29,38±4,35Ac	115,25±5,38Ab	236,63±20,28Aa
Haldol +indometacina 15 mg/kg	39,75±7,66Ac	106,63±10,34Ab	162,00±12,29Aba
Haldol +indometacina 30 mg/kg	35,50±4,29Ab	84,25±6,40Aa	105,00±12,40Ba

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$). Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tempos (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$).

Tabela 2 – Resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ia

Grupos experimentais	Exploração	
	Horizontal	Vertical
Salina+salina	131,25±8,58B	29,00±3,44AB
Salina+indometacina 15 mg/kg	140,50±7,29B	27,13±1,63AB
Salina+indometacina 30 mg/kg	183,13±8,01A	38,50±4,74A
Haldol +salina	37,88±5,28D	5,75±1,82C
Haldol +indometacina 15mg/kg	90,75±4,00C	24,75±2,33B
Haldol +indometacina 30mg/kg	79,63±5,21C	21,75±2,66B
Valor de p (entre grupos)	<0,001	<0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$).

Tabela 5 - Resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento Ib, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas

Grupos experimentais	Catalepsia		
	Tempo após a aplicação das drogas (Minutos)		
	5	35	65
Salina+salina	2,13±0,64Cb	3,50±0,46Ba	2,88±0,61Cab
Salina+indometacina 25 nM	2,38±0,91Ca	3,25±0,80Ba	3,13±0,74Ca
Salina+indometacina 50 nM	2,25±0,65Ca	2,75±0,59Ba	3,00±0,66Ca
Haldol +salina	55,13±8,99Ac	111,25±7,71Ab	218,25±23,75Aa
Haldol +indometacina 25 nM	35,88±6,08ABc	82,88±6,28Ab	132,25±14,64ABa
Haldol +indometacina 50 nM	22,63±4,30Bc	73,13±6,62Ab	109,25±13,79Ba

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tempos (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

Tabela 6 – Resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento Ib

Grupos experimentais	Exploração	
	Horizontal	Vertical
Salina+salina	156,75±7,81A	59,38±4,50A
Salina+indometacina 25 nM	172,25±14,36A	37,00±3,13B
Salina+indometacina 50 nM	188,00±9,39A	44,13±5,96B
Haldol +salina	53,63±13,69C	14,38±2,36C
Haldol +indometacina 25 nM	104,63±8,38B	16,88±2,86C
Haldol +indometacina 50 nM	77,00±7,39BC	17,38±2,05C
Valor de p (entre grupos)	<0,001	<0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p < 0,05$)

Tabela 9 – Resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento IIa, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas.

Grupos experimentais	Catalepsia		
	Tempo após a aplicação das drogas (Minutos)		
	5	35	65

Salina+salina	2,13±0,79Bb	3,63±0,65Ba	3,00±0,71Bab
Salina+naproxeno 15 mg/kg	1,63±0,18Ba	2,38±0,26Ba	3,13±0,48Ba
Salina+naproxeno 30 mg/kg	1,38±0,32Bb	2,88±0,58Ba	2,13±0,40Bab
Haldol +salina	31,50±3,09Ac	117,75±6,90Ab	243,75±18,70Aa
Haldol +naproxeno 15 mg/kg	30,88±5,51Ac	110,75±29,58Ab	199,50±24,49Aa
Haldol +naproxeno 30 mg/kg	36,88±5,28Ab	127,75±17,02Aa	181,88±29,09Aa

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$). Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tempos (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$).

Tabela 10 – Resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIa.

Grupos experimentais	Exploração	
	Horizontal	Vertical
Salina+salina	151,88±9,27B	26,88±1,56BC
Salina+naproxeno 15 mg/kg	141,00±3,24B	31,00±2,42B
Salina+naproxeno 30 mg/kg	162,00±5,97B	43,13±2,68A
Haldol +salina	48,50±5,24A	18,38±1,92C
Haldol +naproxeno 15 mg/kg	67,13±10,68A	25,88±3,92BC
Haldol +naproxeno 30 mg/kg	65,38±3,03A	21,88±1,14BC
Valor de p (entre grupos)	<0,001	<0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$)

Tabela 13 – Resultados referentes ao tempo de catalepsia para os grupos do Experimento IIb, mensurados 5, 35 e 65 minutos após a aplicação das drogas.

Grupos experimentais	Catalepsia		
	Tempo após a aplicação das drogas (Minutos)		
	5	35	65
Salina+salina	1,88±0,44Ca	1,88±0,44Ba	2,75±0,45Ca
Salina+naproxeno 25 nM	2,75±0,59Ca	2,75±0,59Ba	2,25±0,53Ca
Salina+naproxeno 50 nM	1,88±0,55Ca	2,63±0,53Ba	2,75±0,56Ca
Haldol +salina	27,13±3,57Bc	120,38±6,17Ab	212,25±20,36Aa
Haldol +naproxeno 25 nM	55,00±9,75Ab	98,00±10,73Aa	122,25±11,60ABa
Haldol +naproxeno 50 nM	23,25±7,06Bb	79,25±10,59Aa	115,50±17,01Ba

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$). Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre os tempos (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$).

Tabela 14 – Resultados referentes à exploração horizontal e vertical dos animais no Campo Aberto, 30 minutos após a aplicação das drogas, para cada um dos grupos do Experimento IIb.

Grupos experimentais	Exploração
----------------------	------------

	Horizontal	Vertical
Salina+salina	185,00±7,36A	37,00±4,15A
Salina+naproxeno 25 nM	150,00±9,63B	22,75±4,11B
Salina+naproxeno 50 nM	170,38±7,49AB	47,38±3,44A
Haldol +salina	33,63±4,61C	11,25±2,79BC
Haldol +naproxeno 25 nM	38,75±9,43C	9,38±3,35C
Haldol +naproxeno 50 nM	32,25±5,72C	7,38±1,79C
Valor de p (entre grupos)	<0,001	<0,001

Os dados estão apresentados em média±erro padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Holm-Sidak, $p<0,05$).