

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
BIOMÉDICAS**

JOSÉ AUGUSTO POCHAPSKI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMPORTAMENTAL E
NEUROPROTETOR DO ÔMEGA-3 ADMINISTRADO DURANTE O
PERÍODO PRÉ-NATAL EM UM MODELO ANIMAL DA DOENÇA
DE PARKINSON.**

**PONTA GROSSA
2016**

JOSÉ AUGUSTO POCHAPSKI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMPORTAMENTAL E
NEUROPROTETOR DO ÔMEGA-3 ADMINISTRADO DURANTE O
PERÍODO PRÉ-NATAL EM UM MODELO ANIMAL DA DOENÇA
DE PARKINSON.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas, do Departamento de Ciências Biológicas, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito para a obtenção do título de mestre em Ciências Biomédicas.

Orientador: Prof. Dr. Edmar Miyoshi

PONTA GROSSA

2016

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

P739 Pochapski, José Augusto
Avaliação do efeito comportamental e neuroprotetor do ômega-3 administrado durante o período pré-natal em um modelo animal da doença de Parkinson/ José Augusto Pochapski. Ponta Grossa, 2016. 99f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas - Área de Concentração: Fisiologia e Fisiopatologia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Edmar Miyoshi.

1.Ômega-3. 2.Neurodesenvolvimento. 3.Doença de Parkinson. I.Miyoshi, Edmar. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciências Biomédicas. III. T.

CDD: 612.015.77



Universidade Estadual
de Ponta Grossa



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FISILOGIA E FISIOPATOLOGIA, NÚMERO DA ATA 03/2016, DO MESTRANDO JOSÉ AUGUSTO POCHAPSKI REALIZADO NO DIA 22 DE FEVEREIRO DE 2016, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Aos vinte e dois dias de fevereiro de dois mil e dezesseis, às 13h30min na sala 112, CIPP, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) em seção pública sob a presidência do **Professor Dr. Edmar Miyoshi** reuniu-se a Banca Examinadora de defesa da Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas do mestrando **José Augusto Pochapski** na linha de pesquisa; Fisiologia do Sistema Nervoso Central, constituída pelos demais Doutores (membros titulares): **Professor Dr. Marcelo Machado Ferro (UEPG/PR)** e **Professora Dra. Anete Curte Ferraz (UFPR/PR)**. Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem a defesa da dissertação de Mestrado e definiu - se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição. O título da dissertação avaliada foi: **Avaliação do efeito comportamental e neuroprotetor do ômega – 3 administrados durante o período pré-natal em um modelo animal da doença de Parkinson**. Encerrado a defesa, e após reunião, a banca comunicou o resultado final da avaliação da dissertação como APROVADO considerado requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas. O aluno deverá entregar, no prazo estipulado no item 8 da IN 01/2015, referente a defesa de dissertação do programa com as modificações sugeridas pelos membros da banca examinadora. Para a obtenção do título de mestre, o aluno terá até 6 meses, após a data da defesa da sua dissertação, para apresentar ao colegiado a carta de submissão do seu artigo em revista indexada no estrato mínimo B3 dentre os periódicos indicados pela área de Ciências Biológicas II vigente. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Observações (se necessário): _____

Alteração de título: sim não

Novo título: _____

Edmar Miyoshi 1- (DEFAR - UEPG)- Presidente

Marcelo Machado Ferro 2- (DEBIO - UEPG) – Titular

Anete Curte Ferraz 3- (DEFIO - UFPR) – Titular

Ponta Grossa, 22 de Fevereiro de 2016.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por tudo, por ser o guia desde o início da minha existência até o término desta, por manter-me em pé frente as dificuldades e pela determinação e alegria em seguir em frente.

Ao meu orientador professor **Dr. Edmar Miyoshi**, pela oportunidade e confiança em mim depositado. Sou grato pelo seu companheirismo, prontidão e paciência em auxiliar-me, pelos conhecimentos transmitidos e pelo exemplo na pesquisa científica, muito obrigado.

Aos meus pais **José e Lídia**, por todo o apoio e exemplo desde os primeiros passos, por nunca medirem esforços, pelas alegrias, apoio, confiança e sabedoria. Sou eternamente grato a vocês.

Aos meus irmãos **Gabriel e Daniel** pelo companheirismo, pelos momentos de alegrias e convívio, muito obrigado por fazerem parte desta conquista.

Ao professor **Dr. Marcelo Machado Ferro** pelos conhecimentos compartilhados, pelo convívio e pela sua disponibilidade em ajudar-me.

Aos professores, **Dra. Anete Curte Ferraz e Dr. Marcelo Machado Ferro**, pelo aceite em compor esta banca de avaliação.

As colegas de laboratório **Jéssica e Flávia** por toda a ajuda no decorrer deste trabalho, pelo apoio e por toda a convivência.

Aos todos os alunos de **Iniciação Científica** pelo auxílio e convivência durante este período.

Aos **amigos** que me acompanharam no decorrer destes 2 anos, pela amizade e companheirismo, muito obrigado.

Aos professores do **Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas**, pelos conhecimentos transmitidos, apoio e convívio.

As funcionárias do biotério **Marilene e Maria** pela disposição e pelo trabalho junto aos animais utilizados nesta pesquisa.

A **Fundação Herbarium de Saúde e Pesquisa** pela doação do ômega-3 utilizado nestes experimentos.

A **CAPES** pelo apoio financeiro.

E a todos os que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

***Dedico este trabalho aos
meus pais José e Lídia, por todo
apoio, incentivo e dedicação
sou eternamente grato a vocês.***

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum na população mundial, entretanto, seu atual tratamento resume-se a alívios sintomáticos. O ômega-3 (ω -3) sendo um ácido graxo essencial no neurodesenvolvimento, também vem apresentando efeitos benéficos na DP. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar se o tratamento com ω -3 durante os períodos iniciais do neurodesenvolvimento proporciona um efeito nootrópico, antidepressivo e/ou neuroprotetor em um modelo animal da DP. Para isso, ratas foram tratadas com ω -3 durante a gestação (150 ou 300 ou 600 mg/Kg/dia) e durante a gestação+lactação (300 mg/Kg/dia). Após terem completado dois meses de idade, os filhotes machos foram submetidos aos testes de preferência à sacarose, reconhecimento social, reconhecimento de objetos e campo aberto. Completando 3 meses de idade, estes animais receberam no feixe prosencefálico medial infusão unilateral de 6-OHDA e posterior teste do comportamento rotatório ou infusão bilateral de 6-OHDA e subsequentes testes de preferência à sacarose, reconhecimento social e campo aberto. Foi observado um efeito nootrópico do ω -3 a partir dos resultados obtidos aos dois meses nos testes de reconhecimento social (ω -3 600mg/Kg) e reconhecimento de objetos (todos grupos ω -3). Em relação ao modelo animal da DP, o tratamento com ω -3 (todos os grupos ω -3) reduziu os prejuízos cognitivos induzidos pela 6-OHDA, porém sem apresentar efeito antidepressivo nestes, além de não reduzir o número de rotações contralaterais após a lesão unilateral com a 6-OHDA. Com isso, demonstramos neste trabalho um efeito nootrópico e, possivelmente neuroprotetor, da administração do ω -3 durante o período da gestação.

Palavras chave: Ômega-3. Neurodesenvolvimento. Doença de Parkinson.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease in the world population. However, its current treatment comes down to symptomatic relief. The omega-3 (ω -3) being an essential fatty acid for brain development, has been showing beneficial effects in PD. Therefore, the aim of this study was to evaluate whether treatment with ω -3 during early neurodevelopment periods provides a nootropic, antidepressant and/or neuroprotective effect in an animal model of PD. For this, female rats were treated with ω -3 during pregnancy (150, 300, 600 mg/Kg/day) and during pregnancy + lactation (300 mg/Kg /day). After completing two months of age the male offspring were submitted to the tests of sucrose preference, social recognition, object recognition and open field. Completing three months of age, the animals received in the prosencephalic unilateral 6-OHDA infusion and subsequent test of the rotational behavior or bilateral 6-OHDA infusion and subsequent tests of sucrose preference, social recognition and open field. A nootropic effect of ω -3 was observed from the results obtained on the tests of social recognition (ω -3 600) and object recognition (all groups ω -3). Regarding the animal model of PD, the ω -3 (all ω -3 groups) showed a reduction of the cognitive deficits induced by 6-OHDA, but without an antidepressive effect, although there was no demonstration of neuroprotection after unilateral lesion with 6-OHDA. Thus, in this study the ω -3 demonstrated a nootropic and a possible neuroprotective effect of the ω -3 administration during the pregnancy period.

Keywords: Omega-3. Neurodevelopment. Parkinson's disease.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
6-OHDA	6-hidroxidopamina
AA	Ácido Araquidônico
ALA	Ácido α -linolênico
AGs	Ácidos graxos
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo
COX	Ciclooxigenase
COX-2	Ciclooxigenase 2
CREB	<i>cAMP response element binding protein</i>
DA	Dopamina
DHA	Ácido docosahexaenóico
DOPAC	Ácido dihidroxifenilacético
DP	Doença de Parkinson
ED	Escore de discriminação
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FABPpm	<i>Plasma membrane fatty acid-binding protein</i>
FPM	Feixe prosencefálico medial
HVA	Ácido homovanílico
IFN- γ	Interferon gamma
LA	Ácido linoléico
LB	Corpúsculos de Lewy
L-dopa	Levodopa
LTD	<i>Long term depression</i>
LTP	<i>Long term potentiation</i>
LTs	Leucotrienos
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
MUFAs	Ácidos graxos monoinsaturados
NA	Noradrenalina
PGs	Prostaglandinas

PUFAs	Ácidos graxos poliinsaturados
RID	<i>Ratio of investigation duration</i>
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SNpc	Substância negra pars compacta
TH	Tirosina hidroxilase
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TXs	Tromboxanos
Δ -5	Delta 5
Δ -6	Delta 6
Δ -15	Delta 15
ω -3	Ômega-3
ω -6	Ômega-6
ω -7	Ômega-7
ω -9	Ômega-9

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Estrutura química dos AGs insaturados.....	18
FIGURA 2 - Reações de <i>dessaturase</i> e <i>alongase</i> dos AGs precursores LA e ALA para a produção dos demais membros das famílias do ω -6 e ω -3.....	19
FIGURA 3 - Representação da neurodegeneração da via nigroestriatal em pacientes com DP.....	29
FIGURA 4 - Representação dos animais utilizados para o acasalamento e as respectivas proles obtidas.....	40.
FIGURA 5 - Descrição dos grupos experimentais.....	41
FIGURA 6 - Ordem cronológica das etapas realizadas no presente estudo.....	43
FIGURA 7 - Testes realizados aos 2 meses de idade, tendo o início a partir do 60º dia após o nascimento	44
FIGURA 8 - Teste do comportamento rotatório após a cirurgia unilateral	44
FIGURA 9 - Testes realizados após a cirurgia estereotáxica para a infusão bilateral da toxina 6-OHDA.....	45
FIGURA 10 - Representação do comportamento rotatório em animais lesados unilateralmente a partir da infusão da toxina 6-OHDA.....	49
FIGURA 11 - Avaliação do peso corporal após o nascimento a partir do tratamento com o ω -3 durante o período gestacional.....	52
FIGURA 12 - Avaliação do ganho de peso dos filhotes após o nascimento na 1º e 2º semana.....	53
FIGURA 13- Evolução do peso nos animais dos grupos tratados com o ω -3 e do grupo controle no decorrer da 3º à 9º semana.....	54
FIGURA 14 - Consumo total de líquidos e o percentual de preferência à sacarose obtidos através do teste de preferência a sacarose realizado aos 2 meses.....	55
FIGURA 15 - Relação entre a primeira e a segunda investigação ao animal jovem no teste de reconhecimento social aos 2 meses.....	56
FIGURA 16 - Análise da quantidade de quadrantes percorridos e do número de levantadas no teste do campo aberto aos 2 meses.	57
FIGURA 17 - Análise do escore de discriminação entre objeto familiar e o objeto novo no teste de reconhecimento de objetos aos 2 meses.....	57

FIGURA 18 - Número de rotações contralaterais e ipsilaterais no 7° dia após a cirurgia estereotáxica unilateral	58
FIGURA 19 - Número de rotações contralaterais e ipsilaterais no 14° dia após a cirurgia estereotáxica unilateral.....	60
FIGURA 20 - Número de rotações contralaterais e ipsilaterais no 21° dia após a cirurgia estereotáxica unilateral.....	61
FIGURA 21 - Percentual de preferência à sacarose e consumo total de líquidos no 7° dia após a cirurgia bilateral.....	62
FIGURA 22 - Relação entre a primeira e a segunda investigação ao rato jovem no teste de reconhecimento social após a cirurgia bilateral.....	63
FIGURA 23 - Número de quadrantes percorridos e o número de levantadas durante a realização do teste do campo aberto.....	64
QUADRO 1: Resumo dos resultados obtidos a partir dos testes comportamentais.....	65

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 ÁCIDOS GRAXOS.....	17
2.1.1 Ácidos graxos poliinsaturados	18
2.1.2 Ômega-3 e os períodos iniciais do desenvolvimento.....	22
2.1.3 Ômega-3 e memória.....	25
2.1.4 Ômega-3 e a doença de Parkinson	26
2.2 DOENÇA DE PARKINSON	27
2.2.1 Epidemiologia	28
2.2.2 Fisiopatologia.....	31
2.2.3 Etiologia	31
2.2.4 Sintomas.....	33
2.2.5 Tratamento	35
2.3 MODELOS ANIMAIS DA DOENÇA DE PARKINSON.....	36
3. OBJETIVOS	39
3.1 GERAL.....	39
3.2 ESPECÍFICOS.....	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 ANIMAIS	40
4.1.1 Acasalamento	41
4.1.2 Tratamento	42
4.1.3 Avaliação do peso	43
4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS	44
4.2.1 Teste de preferência à sacarose	45
4.2.2 Teste de reconhecimento social	46
4.2.3 Teste do campo aberto	47
4.2.4 Teste de reconhecimento de objetos.....	48
4.2.5 Teste do comportamento rotatório induzido pela apomorfina.....	49
4.3 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA.	50
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
5. RESULTADOS	52
5.1 EFEITO DO TRATAMENTO COM O ÔMEGA-3 SOB O PESO CORPORAL APÓS O NASCIMENTO	52
5.2 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL APÓS O DESMAME	53
5.3 TESTE DE PREFERÊNCIA À SACAROSE (2 MESES).....	54
5.4 TESTE DE RECONHECIMENTO SOCIAL (2 MESES).....	55

5.5 TESTE DO CAMPO ABERTO (2 MESES)	56
5.6 TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS (2 MESES)	57
5.7 TESTE DO COMPORTAMENTO ROTATÓRIO	58
5.8 TESTE DE PREFERÊNCIA À SACAROSE (APÓS A CIRURGIA BILATERAL)	62
5.9 TESTE DE RECONHECIMENTO SOCIAL (APÓS A CIRURGIA BILATERAL)	63
5.10 TESTE DO CAMPO ABERTO (APÓS A CIRURGIA BILATERAL).....	64
6. DISCUSSÃO	66
7. CONCLUSÃO	76
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 77

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos (AGs) da família do ômega-3 (ω -3) são denominados AGs essenciais para o nosso organismo, isto devido a incapacidade de realizarmos a sua biossíntese. Assim, há a necessidade de obtê-los através da dieta. Os principais representantes da família do (ω -3) são o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), os quais são os principais constituintes dos fosfolipídios das membranas celulares, auxiliando na manutenção da integridade estrutural e funcional da célula. Além disso, estudos vem demonstrando o seu efeito anti-inflamatório, antioxidativo e em processo de neurodesenvolvimento.

O período gestacional representa um dos principais e fundamentais estágios do neurodesenvolvimento, sendo que estudos apontam que o aporte adequado de ω -3 durante esta fase é essencial. O aporte adequado de ω -3 no decorrer da gestação é justificado pelo fato desta família de AGs ser a mais abundante no encéfalo, representando entre 40% a 60% do AGs presentes nos fosfolipídios das membranas neuronais. A partir disso, estudos vem demonstrando a capacidade da suplementação com o ω -3 em promover desfechos positivos quanto ao desenvolvimento cognitivo. Além disso, estudos apontam efeitos positivos da suplementação com o ω -3 para com a doença de Parkinson (DP).

A DP é atualmente o principal distúrbio de movimento e a segunda mais incidente dentre as doenças neurodegenerativas, acometendo cerca de 1 a 2% da população com mais de 55 anos. Consiste em uma desordem neurodegenerativa crônica, progressiva e idade dependente, cuja principal característica fisiopatológica é a degeneração crônica e progressiva dos neurônios dopaminérgicos da substância *nigra pars compacta* (SNpc).

Embora a etiologia da DP ainda permaneça desconhecida, esta é descrita como uma doença multifatorial, apresentando sintomas motores e não motores. Entretanto, os sintomas motores característicos da DP são observados após a perda de aproximadamente 60-80% dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal, dificultando assim a realização do seu diagnóstico precoce.

A partir disto, o presente estudo buscou avaliar os efeitos comportamentais e neuroprotetores da administração pré-natal do ω -3 em ratos,

visando compreender a importância do aporte nutricional com ω -3 para o neurodesenvolvimento. Somado a isso, estudos para uma melhor compreensão da fisiopatologia da DP e a busca de potenciais tratamentos capazes de preveni-la são necessários.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÁCIDOS GRAXOS

Ácidos graxos são naturalmente componentes alimentares que desempenham importantes funções metabólicas, estruturais e funcionais no nosso organismo. Estes são considerados uma importante fonte de energia, principais componentes das membranas celulares e precursores de moléculas sinalizadoras (CALDER, 2011; JONES *et al.*, 2014). Os AGs apresentam entre si uma estrutura básica semelhante, sendo constituídos de cadeias de hidrocarbonetos contendo um grupo carboxila em uma extremidade da cadeia e um grupo metila em outra extremidade. O grupo carboxila, graças a sua elevada reatividade, possui a capacidade de formar as ligações de éster com grupos álcool (por exemplo aquelas encontradas em moléculas de colesterol e glicerol), assim podendo originar os acilgliceróis (por exemplo o triacilglicerol e fosfolipídios) e ésteres de colesterol (CALDER *et al.*, 2009; CALDER, 2011).

Os AGs podem ser classificados quanto ao tamanho da sua cadeia, e podem variar entre 2 a 30 (ou até mais) átomos de carbono e pela quantidade de duplas ligações (insaturações) existentes (CALDER, 2009, 2011). Quanto à presença de insaturações, os AGs podem ser classificados em ácidos graxos saturados, os quais não possuem insaturações em sua cadeia, em ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs), os quais possuem uma insaturação e ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) os quais possuem duas ou mais insaturações (HARDMAN, 2004; CALDER, 2009, 2011). A nomenclatura tanto de MUFAs quanto de PUFAs é dada pela quantidade de insaturações existentes e pela identificação da posição da primeira insaturação a partir do grupamento terminal metil, denominado carbono ômega (ω). Assim esta primeira insaturação é então identificada como ω -x, onde o x representará o número do carbono no qual ocorre esta insaturação. Assim por exemplo um ácido graxo com 18 carbonos e duas insaturações em sua cadeia, onde a primeira insaturação ocorre entre os carbonos número 6 e 7 a partir do grupamento metil, assim este sendo nomeado como 18:2 ω -6 (CALDER, *et al* 2009) (FIGURA 1).

A partir desta classificação, os principais representantes da família dos MUFAs são o ômega-7 (ω -7) e ômega-9 (ω -9) e os representantes da família

dos PUFAs são o ômega-3 (ω -3) e ômega-6 (ω -6) (HARDMAN, 2004; CALDER, 2009; BOUSQUET *et al.*, 2011; CARLSON *et al.*, 2013).

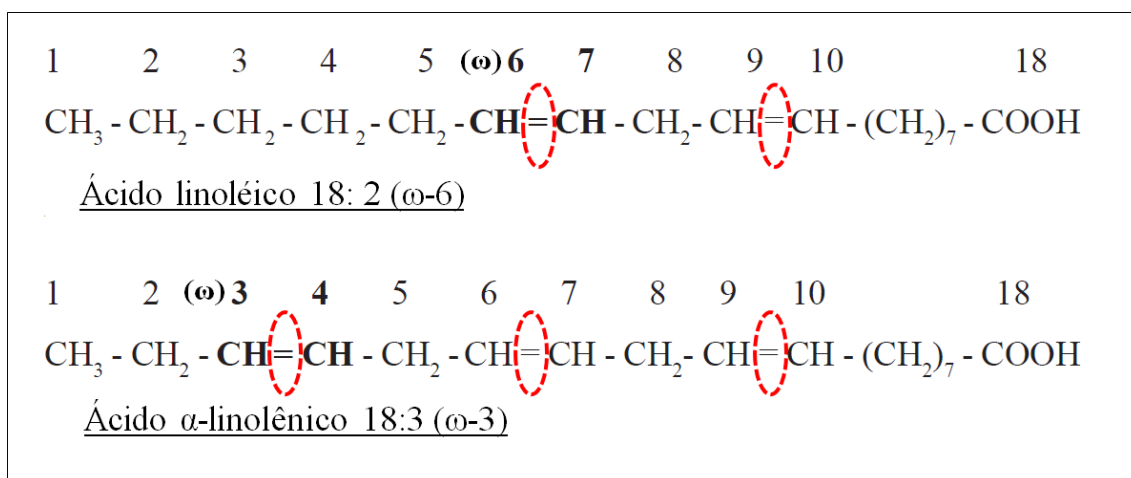


FIGURA 1: Estrutura química dos AGs insaturados. FONTE: Adaptado de SANT'ANA, 2004.

2.1.1 Ácidos graxos poliinsaturados

De maneira geral, mamíferos são capazes de sintetizar a maioria dos AGs que necessitam, com exceção dos PUFAS ω -3 e ω -6 (CALDER, 2011). Assim sendo, o ácido α -linolênico (ALA) (C18:3 ω -3), principal precursor da família ω -3 e o ácido linoléico (LA) (C18:2 ω -6), principal precursor da família do ω -6 são denominados AGs essenciais em função de não poderem ser sintetizados endogenamente, isto devido ao fato de não possuímos a enzima delta 15 (Δ -15) *dessaturase*, assim havendo a necessidade de obtê-los a partir da dieta (BURDGE, 2006; BOUSQUET *et al.*, 2011; HULL, 2011; CALDER, 2012; MORANIS *et al.*, 2012; PATTERSON *et al.*, 2012). Em razão disto, o ALA pode ser obtido através da dieta pelo consumo de linhaça, nozes, óleo de soja e canola já o LA sendo obtido principalmente a partir de óleos vegetais como o óleo de soja, milho e girassol (INNIS, 2008; CALDER *et al.*, 2009; LUCHTMAN; SONG, 2013; NESTEL *et al.*, 2015).

Como mencionado anteriormente, em função da ausência da enzima Δ -15 *dessaturase*, mamíferos não são capazes de sintetizar PUFAs. Em contrapartida, tendo como substratos o ALA e LA obtidos através da dieta, as enzimas delta-5 (Δ -5) *dessaturase*, delta-6 (Δ -6) *dessaturase* e *alongase* são capazes aumentar o número de insaturações e o comprimento da cadeia

carbônica destes, convertendo-os endogenamente a PUFAs com maior bioatividade, com isso, o ALA podendo ser convertido endogenamente à ácido eicosapentaenóico (EPA) (20:5 ω -3) e ácido docosahexaenóico (DHA) (22:6 ω -3) e o LA em ácido araquidônico (AA) (20:4 ω -6), sendo as etapas de conversão representadas na FIGURA 2 (INNIS, 2008, 2014; WALL *et al.*, 2010; CALDER, 2012; PATTERSON *et al.*, 2012). Entretanto, o fato de serem substratos das mesmas enzimas durante esta via de conversão faz com que exista uma competição entre o ALA e o LA por esta via metabólica (SIMOPOULOS, 1999; NOVAK *et al.*, 2008; CALDER, 2012).

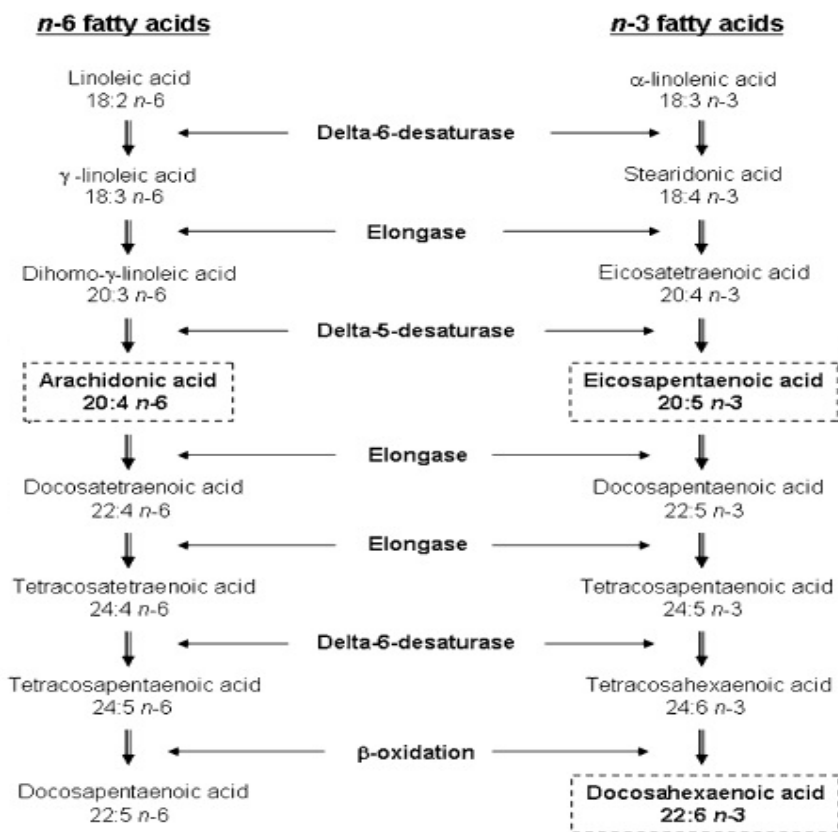


FIGURA 2: Reações de *desaturase* e *elongase* dos AGs precursores LA e ALA para a produção dos demais membros das famílias do ω -6 e ω -3. FONTE: Adaptado de WALL *et al.*, 2010.

Os principais representantes das famílias ω -3, EPA e DHA também podem ser obtidos diretamente através da alimentação, onde as suas principais fontes são os peixes de águas frias tais como a sardinha, salmão, cavala, atum (HULL, 2011; IAGHER *et al.*, 2013; ROGERS *et al.*, 2013).

Tanto o EPA quanto o DHA são requeridos pelo organismo devido ao seu importante papel como principais constituintes dos fosfolipídios das membranas celulares (principalmente o DHA), auxiliando na manutenção da integridade estrutural e funcional da célula (AL-GUBORY, 2012; GOMEZ-PINILLA; TYAGI, 2013; LUCHTMAN; SONG, 2013; HAAST; KILIAAN, 2014; DENIS *et al.*, 2015). Dentre os efeitos destes PUFAs, a partir da sua inserção nas membranas celulares se destacam a capacidade de alterar a fluidez da membrana (CALDER *et al.*, 2009; BOUSQUET *et al.*, 2011; ROGERS *et al.*, 2013), a modificação da expressão e da atividade de receptores na membrana celular (CALDER *et al.*, 2009; BOUSQUET *et al.*, 2011), bem como a modificação dos mecanismos de transdução de sinalizadores intracelulares, resultando em alterações na ativação de fatores de transcrição e modificações na expressão gênica (CALDER *et al.*, 2009; CALDER, 2012).

Entretanto, a partir da revolução agrícola houve uma grande mudança no comportamento alimentar mundial, ocasionado por um aumento na produção e consumo de grãos e seus derivados, gorduras saturadas, gorduras *trans*, açúcar e alimentos industrializados, somado a uma redução no consumo de certos alimentos como vegetais de folhas verdes e peixes, culminando isto em um desequilíbrio dietético em relação ao consumo de PUFAs ω -6/ ω -3, cujos valores recomendáveis se situariam entre 1-4:1, passando a haver um consumo na proporção de 10-20:1 (SIMOPOULOS, 1999, 2008; BORSONELO; GALDURÓZ, 2008; NOVAK *et al.*, 2008; QUINN *et al.*, 2012; CARLSON *et al.*, 2013; JONES *et al.*, 2014; JANSSEN; KILIAAN, 2014).

Um maior consumo de PUFAs da família ω -6 característico da dieta ocidental, leva a um aumento expressivo nas concentrações de AA (SIMOPOULOS, 1999; CALDER, 2009). Este, além de ser um importante componente estrutural das membranas celulares, é precursor de uma ampla gama de mediadores pró-inflamatórios, tais como prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs) e leucotrienos (LTs), assim podendo potencializar processos inflamatórios e predispor ou agravar muitas doenças inflamatórias (WALL *et al.*, 2010; LIN *et al.*, 2010; BOUSQUET *et al.*, 2011; DENIS *et al.*, 2015).

PUFAs ω -6 e ω -3 podem ser ambos metabolizados por duas vias para a geração de eicosanóides, nas quais a partir da sua liberação dos fosfolipídios de membrana pela ação da enzima fosfolipase A2 podem ser metabolizados pela

enzima cicloxigenase (COX) gerando PGs e TXs e pela enzima lipoxigenase gerando LTs (CALDER, 2009, 2010; KONES, 2010; MARAI; MASSALHA, 2014).

Entretanto, os eicosanóides derivados dos PUFAs ω -6 e ω -3 possuem ação fisiológica distinta, onde os eicosanóides derivados do AA (PGs e TXs da série 2 e LTs da série 4) possuem um potente efeito pro-inflamatório, em contrapartida, eicosanóides derivados do EPA e DHA (PGs e TXs da série 3 e LTs da série 5) possuem um efeito pro-inflamatório menos potente (CALDER, 2010, 2012; WALL *et al.*, 2010; LUCHTMAN; SONG, 2013; SOFI *et al.*, 2013; JONES *et al.*, 2014). Além disso, os PUFAs ω -3 podem atuar inibindo competitivamente a síntese de eicosanóides derivados do AA por reduzir a disponibilidade do AA na membrana celular, podendo também inibir a atividade da enzima COX (HULL, 2011; JONES *et al.*, 2014).

Além disso, conjuntamente o DHA e EPA podem estimular, via produção dos mediadores lipídicos resolvinas e protectinas, um importante efeito anti-inflamatório, devido a capacidade destes mediadores em facilitar a resolução da resposta inflamatória (SEKI *et al.*, 2009; CALDER, 2010; CARLSON *et al.*, 2013). De acordo com o seu precursor, estes mediadores podem ser classificados em resolvinas de série E a partir do precursor EPA e em resolvinas de série D a partir do DHA, sendo que as protectinas são formadas somente a partir do DHA (CALDER, 2012; CARLSON *et al.*, 2013).

Resolvinas e protectinas tem uma importante função na proteção celular e tecidual contra processos inflamatórios por apresentarem papel anti-inflamatório e imunomodulatório (CALDER *et al.*, 2009; CALDER, 2010, 2011). A neuroprotectina D1 (NPD1) por exemplo, tem apresentado importante função na regulação da manutenção funcional e da sobrevivência das células cerebrais, envolvendo vias de regulação neurotróficas, anti-apoptóticas e anti-inflamatórias (LUKIW; BAZAN 2008).

A família de PUFAs de interesse para este trabalho é a do ω -3, haja vista que muitos benefícios em relação ao seu consumo vêm sendo observados em diversas doenças, tais como o câncer (HARDMAN, 2004; YANG *et al.*, 2013; JING *et al.*, 2014), na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (CALDER, 2010; PATTERSON *et al.*, 2012; DINICOLANTONIO *et al.*, 2014; ZERBI *et al.*, 2014; KRIS-ETHERTON; FLEMING, 2015; NESTEL *et al.*, 2015), diabetes (PÉREZ-ECHARRI *et al.*, 2009), esquizofrenia (REDDY *et al.*, 2011) e

depressão (HORROCKS; FAROOQUI, 2004; FERRAZ *et al.*, 2008; ORR *et al.*, 2013; ARBABI *et al.*, 2014).

2.1.2 Ômega-3 e os períodos iniciais do desenvolvimento

O período gestacional corresponde a fase de maior desenvolvimento cerebral, a qual comporta uma ampla gama de processos altamente orquestrados que iniciam-se com a proliferação das células neuronais e gliais, seguidos pelo processo de migração e sequente formação das sinapses e mielinização (GUESNET; ALESSANDRI, 2011; BERNARDI *et al.*, 2012; INNIS, 2014; KNUESEL *et al.*, 2014). As rápidas e sequentes alterações no desenvolvimento anatômico e funcional do cérebro correspondem a um intervalo crítico onde qualquer súbita alteração pode ocasionar importantes modificações no desenvolvimento cerebral (ANDERSEN, 2003; KNUESEL *et al.*, 2014). Sucedendo-se o período gestacional, a lactação e os subsequentes primeiros anos de vida também compreendem importantes estágios do neurodesenvolvimento, nos quais ocorre uma significativa expansão anatômica e funcional do cérebro em função do crescente aumento na quantidade de células gliais, do crescimento dendrítico e mielinização nos neurônios (JANSSEN; KILIAAN, 2014).

À vista disso, é concebido que um suprimento adequado de nutrientes é necessário para um desenvolvimento neuronal adequado, sendo que uma privação nutricional pode afetar diretamente os processos de neurogênese e sinaptogênese (GREEN *et al.*, 1999; GEORGIEFF, 2007; INNIS, 2014). Nutrientes podem alterar não somente a neuroanatomia, mas podem levar a modificações neuroquímicas e neurofisiológicas, resultando em alterações na função neuronal (GEORGIEFF, 2007; INNIS, 2008; KUPERSTEIN *et al.*, 2008; WITTE *et al.*, 2013). Em relação a isto, é descrito que o consumo adequado de AGs é necessário para o aporte energético, para a síntese, funcionamento e proteção das membranas neuronais, sendo estes considerados fundamentais para um desenvolvimento neurológico ideal (INNIS, 2014; KHAIRE *et al.*, 2015).

A composição tecidual de AGs é alterada no decorrer do desenvolvimento cerebral, sendo que a maior concentração de PUFAs está localizada nos fosfolípidios de membrana, principalmente da fosfatidiletanolamina e na

fosfatidilserina (JOARDAR *et al.*, 2006; NOVAK *et al.*, 2008; BOUSQUET *et al.*, 2011). No período gestacional há a necessidade de um suprimento adequado de PUFAs para que haja um desenvolvimento neural apropriado (LUCHTMAN; SONG, 2013; JANSSEN; KILIAAN, 2014). Sendo o terceiro trimestre de gestação considerado como o maior e mais importante período de acúmulo destes PUFAs nas membranas neuronais, principalmente de PUFAs ω -3 (GUESNET; ALESSANDRI, 2011; LUCHTMAN; SONG, 2013; REES *et al.*, 2014; JANSSEN; KILIAAN, 2014).

A importância de um aporte adequado de PUFAs ω -3 no decorrer da gestação é justificada pelo fato do DHA ser um dos AGs mais abundantes no cérebro e na retina (LATOURET *et al.*, 2013; INNIS, 2014; ZARROUK *et al.*, 2015). A sua importância é enfatizada pelo fato que cerca de 50-60% do peso seco do cérebro é representado por lipídios, dentre estes os PUFAs ω -3 são a sua maioria, representando 40% à 60% do AGs presentes nos fosfolipídios das membranas neuronais (KONES, 2010; ECKERT *et al.*, 2013; LÉTONDOR *et al.*, 2014).

O aporte de ω -3, principalmente de DHA durante o terceiro trimestre de gestação é considerado fundamental, pois o terceiro trimestre corresponde a um período onde o cérebro atinge o seu pico de desenvolvimento, abrangendo elevadas taxas de neurogênese e maturação neuronal (MCNAMARA; CARLSON, 2006; DUTTAROY, 2009; REES *et al.*, 2014), assim o DHA atua modulando estes processos (MCNAMARA; CARLSON, 2006). Existem ainda evidências que este acúmulo de DHA prossegue durante o período pós-natal (MCNAMARA; CARLSON, 2006; KOLETZKO *et al.*, 2007; INNIS, 2014).

Entretanto, a presença das enzimas *desaturases* e *alongase* é baixa nos fetos, com isso, durante o período pré-natal o feto possui uma capacidade reduzida de produzir as quantidades necessárias de DHA para suprir a demanda existente (KOLETZKO *et al.*, 2007; CUNNINGHAM; MCDERMOTT, 2009; KRIS-ETHERTON; FLEMING, 2015). Por conseguinte, a principal fonte de obtenção de PUFAs durante o período gestacional é provida através do transporte destes via placenta (LARQUÉ *et al.*, 2011) e durante o período pós-natal através da amamentação (GUESNET; ALESSANDRI, 2011; LAPILLONNE *et al.*, 2013).

O acesso do feto a estes PUFAs ocorre graças a presença de uma classe específica de proteínas transportadoras presentes na placenta, as FABPpm

(*plasma membrane fatty acid-binding protein*), as quais são responsáveis pelo transporte destes PUFAs a partir da circulação sanguínea materna (CAMPBELL *et al.*, 1996; CUNNINGHAM; MCDERMOTT, 2009). Entretanto, as quantidades de ω -3 à serem disponibilizadas ao feto dependerá em grande parte do consumo materno de ω -3 em sua dieta (INNIS, 2008; REES *et al.*, 2014). Assim, conscientes da importância destes períodos para o neurodesenvolvimento, tal como do importante papel desempenhado pelos PUFAs ω -3 nestes períodos, inúmeros estudos buscaram avaliar os possíveis efeitos da manipulação das concentrações de ω -3 para com o neurodesenvolvimento (BHATIA *et al.*, 2011; ROY *et al.*, 2012; LAPILLONNE *et al.*, 2013; WILLATTS *et al.*, 2013; REES *et al.*, 2014; PUDELL *et al.*, 2014; SHERRY *et al.*, 2015).

Estudos utilizando modelos de dietas deficientes em ω -3 demonstram uma íntima relação destas com efeitos adversos ao desenvolvimento neural, desencadeando alterações morfológicas e bioquímicas (KODAS *et al.*, 2002; INNIS, 2008; YAVIN *et al.*, 2009), tais como a redução nos níveis do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (BHATIA *et al.*, 2011), maior suscetibilidade ao estresse oxidativo (ROY *et al.*, 2012) e maior propensão à desordens psiquiátricas na idade adulta (BHATIA *et al.*, 2011). Algumas destas alterações podem ser irreversíveis, como demonstrado por Kodas *et al.* (2002), onde a deficiência (grave) de ω -3 levou a alterações bioquímicas na transmissão dopaminérgica, as quais não foram revertidas com posteriores suplementações.

Bertrand *et al.* (2006) em seu estudo mostraram que uma dieta deficiente em ω -3 durante o período pré-natal levou a uma significativa redução nos níveis cerebrais de DHA e subsequente aumento nos níveis de AA, isto culminando em uma da redução da neurogênese e alterações morfológicas no hipocampo e córtex cerebral.

Em contrapartida, a suplementação pré-natal com ω -3 tem apresentado desfechos positivos para com o desenvolvimento neurológico (COLUCCIA *et al.*, 2009; LAPILLONNE *et al.*, 2013; SHERRY *et al.*, 2015). Estudos tanto em humanos quanto em modelos animais demonstram que o consumo de ω -3 durante as fases iniciais do neurodesenvolvimento pode resultar em um melhor desenvolvimento cognitivo quanto a memória e aprendizado (HIBBELN; DAVIS, 2007; CAO *et al.*, 2009; WILLATTS *et al.*, 2013; REES *et al.*, 2014; JANSSEN *et al.*, 2015), melhor desenvolvimento visual (AGOSTONI, 2010; CAMPOY *et al.*,

2012) e motor (COLUCCIA *et al.*, 2009; JANSSEN *et al.*, 2015), efeito antioxidativo (FENG *et al.*, 2012), efeitos positivos na prevenção do nascimento prematuro e do baixo peso após o nascimento (CAMPOY *et al.*, 2012; FERREIDOOONI; JENABI, 2014) e sob desordens psiquiátricas como a depressão (FERRAZ *et al.*, 2008) e ansiedade (BHATIA *et al.*, 2011; PUDELL *et al.*, 2014).

Em relação a isto, Pudell *et al.* (2014) mostraram que a suplementação com óleo de peixe durante os períodos pré e pós-natal foi capaz atenuar o surgimento dos comportamentos de depressão, ansiedade e disfunção cognitiva na idade adulta em um modelo animal de bulbectomia olfatória. Previamente, Ferraz *et al.* (2008) já haviam demonstrado a capacidade da suplementação com o óleo de peixe durante as fases iniciais do neurodesenvolvimento em prevenir o surgimento da depressão na idade adulta. A manutenção de vários efeitos positivos do ω -3 desde os períodos iniciais até a idade adulta previamente demonstrada é de extrema valia (FERRAZ *et al.*, 2008; COLUCCIA *et al.*, 2009; BHATIA *et al.*, 2011; WILLATTS *et al.*, 2013), assim reforçando a importância do seu aporte adequado.

2.1.3 Ômega-3 e memória

Tal como descrito previamente, o consumo de ω -3 tem sido relacionado a efeitos positivos sobre a memória e ao aprendizado pela modulação de vias que englobam o seu efeito antioxidativo, estímulo à neurogênese hipocampal, e modulação de vias de sinalização (HASHIMOTO *et al.*, 2013).

Uma das possíveis vias pelas quais o ω -3 poderia estar relacionado ao melhor desenvolvimento da memória e do aprendizado seria através da modulação sob os níveis de neurotrofinas, principalmente sobre o BDNF (CUNHA *et al.*, 2010; HASHIMOTO *et al.*, 2013; LUCHTMAN; SONG, 2013). O BDNF, desempenha um importante papel no desenvolvimento, manutenção, sobrevivência e plasticidade neuronal (MIYAZAWA *et al.*, 2010; BHATIA *et al.*, 2011; GOMEZ-PINILLA, 2011).

Além disso, sendo que o hipocampo e o córtex cerebral representam importantes estruturas cerebrais relacionadas com os processos de memória (KUPERSTEIN *et al.*, 2005; YETIMLER *et al.*, 2012; HASHIMOTO *et al.*, 2013), evidências apontam que a suplementação com o ω -3 durante a gestação pode

modular os níveis de BDNF tanto no hipocampo quanto no córtex cerebral (SABLE *et al.*, 2013).

A ação do BDNF está diretamente relacionada com modulação da plasticidade sináptica, atuando na plasticidade relacionada tanto com a *long term potentiation* (LTP) quanto com a *long term depression* (LTD) (CUNHA *et al.*, 2010). O BDNF pode promover a ativação do seu, trkB (*receptor tropomyosin kinase*), o qual através da sua via de sinalização que envolve a MAP kinase (*mitogen activated protein kinases*) e o PI-3 (fosfatidilinositol) leva a subsequente ativação do CREB (*cAMP response element binding protein*), o qual tem sido descrito como um mediador chave na sobrevivência celular via regulação da transcrição gênica (PATAPOUTIAN; REICHARDT, 2001; CUNHA *et al.*, 2010).

Esta relação entre a suplementação com ω -3 durante os períodos iniciais do desenvolvimento resultando em maior biodisponibilidade de DHA e sequente incorporação deste nos fosfolípidios de membrana levaria a modulação dos níveis de BDNF, modulação na morfologia neuronal e plasticidade sináptica, podendo resultar em melhor desenvolvimento e manutenção de processos de memória e aprendizado, havendo também implicações positivas na prevenção do desenvolvimento de desordens cognitivas na idade adulta (SU, 2010; BHATIA *et al.*, 2011; SABLE *et al.*, 2012; WILLATTS *et al.*, 2013).

2.1.4 Ômega-3 e a doença de Parkinson

Sendo a depleção nos níveis estriatais de dopamina (DA) uma característica intimamente relacionada com a incidência dos sintomas da doença de Parkinson (DP), a capacidade existente de manutenção dos níveis de DA pelo ω -3 é consistente com uma ação neuroprotetora relevante (BOUSQUET *et al.*, 2008).

Estudos epidemiológicos e *post-mortem* focados na relação entre o ω -3 e a DP são limitados, entretanto, existem crescentes evidências de uma íntima relação entre os hábitos alimentares e a incidência da doença (BOUSQUET *et al.*, 2011; KAMEL *et al.*, 2014). Dados epidemiológicos sugerem que a ingestão de ω -3 na dieta pode reduzir o risco de desenvolvimento da DP, onde o baixo consumo de ω -3 pode ser um fator de risco modificável para o surgimento de doenças neurodegenerativas (BOUSQUET *et al.*, 2011). Somado ao fato que a

DP *per se* pode alterar os níveis de ω -3 no encéfalo (BOUSQUET *et al.*, 2011). A relação entre o consumo de ω -3 e a DP pode ser reforçada pela capacidade deste em promover alterações em elementos chaves da transmissão dopaminérgica (BOUSQUET *et al.*, 2011), existindo também a possibilidade do ω -3 ter impacto direto sobre a proteína α -sinucleína (BOUSQUET *et al.*, 2008) e a capacidade deste em diminuir a ativação da micróglia (JI *et al.*, 2012).

Dado o grande espectro de ações mediadas pelo ω -3, é plausível que este desempenhe um papel benéfico nos diferentes níveis de degeneração neural observados na DP, pois além da sua capacidade de influenciar a fluidez da membrana celular, o ω -3 pode exercer importante papel para com a sobrevivência neuronal por promover a modulação do estresse oxidativo, apoptose, inflamação e da produção de fatores neurotróficos (como o BDNF, descrito acima) (BOUSQUET *et al.*, 2011; ORR *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2015).

Os efeitos benéficos da suplementação com o ω -3 tem sido demonstrados a partir do uso de diferentes modelos animais da DP, tais como os modelos utilizando a 6-hidroxidopamina (6-OHDA) e o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) (BOUSQUET *et al.*, 2008; DELATTRE *et al.*, 2010; HACIOGLU *et al.*, 2012; LUCHTMAN *et al.*, 2012). Hacıoglu *et al.* (2012) demonstraram que o pré-tratamento com o ω -3 em um modelo animal da DP resultou em proteção aos neurônios dopaminérgicos contra a lesão induzida pelo MPTP. Já Delattre *et al.* (2010) demonstraram que a administração crônica de ω -3 resultou em redução dos sintomas de discinesia, diminuiu a peroxidação lipídica e promoveu um aumento do *turnover* da DA, representando uma maior adaptação dos neurônios dopaminérgicos remanescentes a lesão com a neurotoxina 6-OHDA.

2.2 DOENÇA DE PARKINSON

A DP foi descrita pela primeira vez em 1817, onde o médico inglês James Parkinson em sua publicação intitulada “*An essay on the shaking palsy*” relatou o caso de quatro pacientes que apresentavam sintomas motores semelhantes como tremor de repouso, rigidez muscular, lentidão dos movimentos e instabilidade postural, os quais ele denominou inicialmente como “paralisia

agitante” (BETARBET *et al.*, 2002; DAUER; PRZEDBORSKI, 2003; MENEZES e TEIVE, 2003).

A introdução do termo doença de Parkinson na literatura médica foi sugerida pelo neurologista francês Jean-Martin Charcot no início do século XX, em homenagem à descrição clássica de James Parkinson. Entretanto, enquanto James Parkinson se ateu aos sintomas motores, Charcot relatou a presença de alterações cognitivas e comportamentais as quais não eram até então consideradas (MENEZES e TEIVE, 2003; LEES *et al.*, 2009).

2.2.1 Epidemiologia

A DP é caracterizada como uma desordem neurodegenerativa crônica, progressiva e idade dependente, sendo ela o principal distúrbio de movimento e a segunda mais incidente dentre as doenças neurodegenerativas, atrás apenas da doença de Alzheimer (BOUSQUET *et al.*, 2011; TROEUNG *et al.*, 2013; JANSSEN; KILIAAN, 2014; KNUESEL *et al.*, 2014).

A DP acomete cerca de 0,3% da população mundial (KONES, 2010). Já na população idosa, a DP apresenta um aumento exponencial da sua prevalência em pacientes com idades entre 65 e 90 anos, ocorrendo ao menos em 1 à 2% da população com mais de 55 anos (BETARBET *et al.*, 2002; CICCETTI *et al.*, 2009; BOUSQUET *et al.*, 2011; KAWAJIRI *et al.*, 2011). Manifestações da DP em faixas etárias mais jovens ocorrem raramente, estas sob grande influência genética, constituindo a forma familiar da doença (HALD; LOTHARIUS, 2005; SCHRAG; SCHOTT, 2006).

Em função do crescente envelhecimento da população mundial, a prevalência da DP tende a aumentar nas próximas décadas. Assim, a demanda de cuidados e gastos com esta patologia tende a aumentar drasticamente em um futuro próximo (KONES, 2010; KAWAJIRI *et al.*, 2011).

2.2.2. Fisiopatologia

A degeneração crônica e progressiva dos neurônios dopaminérgicos da SNpc e conseqüente redução nos níveis estriatais de DA configuram-se como a

principal característica fisiopatológica da DP (HUNTER *et al.*, 2007; HE; NAKAYAMA, 2009; PARNETTI *et al.*, 2013) (FIGURA 3).

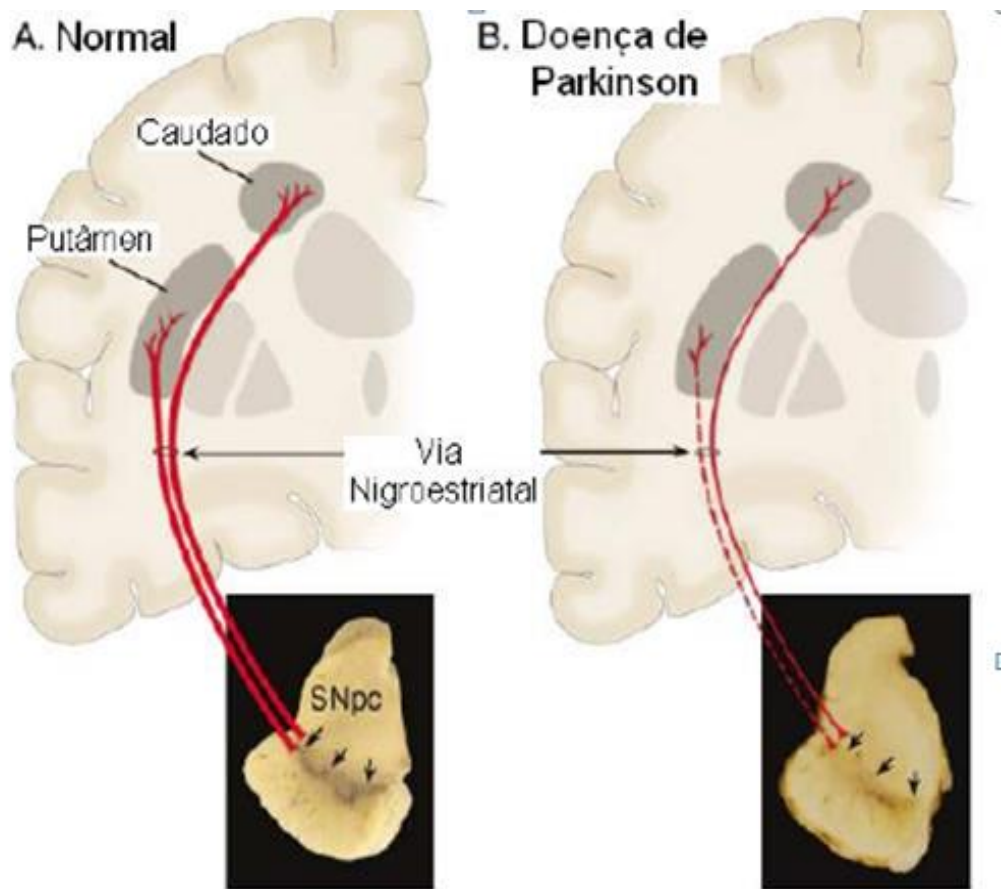


FIGURA 3: Representação da neurodegeneração da via nigroestriatal em pacientes com a DP. FONTE: Adaptado de DAUER e PRZEDORSKI (2003).

A DA é sintetizada a partir do amino ácido tirosina em duas etapas enzimáticas. Primeiramente, a tirosina é convertida a L-3,4-dihidroxi-fenilalanina (L-DOPA) pela enzima tirosina hidroxilase (TH), esta sendo a enzima limitante no processo de biossíntese. Em seguida, a L-DOPA é convertida a DA pela ação da enzima L-DOPA descarboxilase (HERMANSON *et al.*, 2003; JI *et al.*, 2012).

A substância *nigra* possui este nome devido a elevada concentração de neurônios dopaminérgicos, nos quais além da produção de DA pode ocorrer a auto-oxidação desta, gerando a neuromelanina e por consequência a pigmentação escura característica (DAUER; PRZEDBORSKI, 2003; MENEZES; TEIVE, 2003; HALD; LOTHARIUS, 2005). Sendo que a degeneração neuronal decorrente da DP leva a despigmentação da SNpc (DAUER; PRZEDBORSKI,

2003). Os neurônios dopaminérgicos na SNpc estão distribuídos em duas principais regiões, a região rostro-dorso-medial e a região caudo-ventro-lateral. Na DP a perda neuronal ocorre primeiramente na porção lateral da SNpc, seguida da degeneração na porção medial desta (FERRER *et al.*, 2011; PASSOS *et al.*, 2012).

A SNpc e a área tegmentar ventral são os dois centros de eferência dopaminérgica, sendo estas vias eferentes representadas pela via nigroestriatal, mesolímbica, mesocortical, e tuberoinfundibular (KEHAGIA *et al.*, 2010; FERRER *et al.*, 2011; YU; CHEN, 2011; CALABRESI *et al.*, 2014).

A via nigroestriatal é de extrema importância para a regulação dos gânglios da base, esta sendo potentemente afetada pela neurodegeneração característica da DP (FRISINA *et al.*, 2009; HEMMERLE *et al.*, 2012; PARNETTI *et al.*, 2013). Os gânglios da base constituem um grupo de estruturas subcorticais compostas pelo corpo estriado (formado pelos núcleos caudado e putâmen), o globo pálido (interno e externo), a substância *nigra* (*pars compacta* e *reticulada*) e o núcleo subtalâmico, os quais desempenham um importante papel na modulação dos movimentos voluntários, memória e aprendizado (OBESO *et al.*, 2000; THOMAS; BEAL, 2011; CALABRESI *et al.*, 2014). Durante o curso da DP, em função da redução nos níveis estriatais de DA, há um prejuízo na via de sinalização cortico-basal-talâmica mediada pelos gânglios da base, resultando em prejuízos no controle da atividade motora voluntária, característica comum na DP (THOMAS; BEAL, 2011; GALATI *et al.*, 2015).

Em paralelo à degeneração nigroestriatal, outras vias dopaminérgicas podem ser prejudicadas no decorrer da DP, tais como a vias de sinalização mesocortical, mesolímbica (CICCHETTI *et al.*, 2009; FERRER *et al.*, 2011; HANAGASI *et al.*, 2011). Além disso, em pacientes com a DP o processo neurodegenerativo não é exclusivo das projeções dopaminérgicas, havendo conjuntamente prejuízos à vias de sinalização serotoninérgicas, noradrenérgicas e colinérgicas (BROOKS, 2008; KEHAGIA *et al.*, 2010; FERRER *et al.*, 2011). Com isso, a extensão da neurodegeneração a vias extra-nigroestriatais e vias não dopaminérgicas fundamenta a complexidade dos sintomas apresentados na DP (LUCHTMAN *et al.*, 2012).

2.2.3 Etiologia

Embora a etiologia da DP ainda permaneça desconhecida, estudos clínicos, *post mortem*, e modelos *in vivo* e *in vitro* vem servindo de auxílio para uma melhor compreensão da sua fisiopatologia (CICCHETTI *et al.*, 2009; HEMMERLE *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2014). A partir destes estudos pode-se evidenciar a DP como uma patologia multifatorial (BARLOW *et al.*, 2007; ECKERT *et al.*, 2013), onde os processos patológicos da neuroinflamação, disfunção mitocondrial, excitotoxicidade, fatores ambientais e genéticos são referenciados como os possíveis causadores dos efeitos deletérios que acometem os neurônios dopaminérgicos (HUNTER *et al.*, 2007; FERRER *et al.*, 2011; THOMAS; BEAL, 2011; COLLINS *et al.*, 2012; TSAI *et al.*, 2014).

As caracterizações patológicas da DP que permitem o seu diagnóstico são decorrentes da existência da degeneração dos neurônios dopaminérgicos da SNpc e da presença de agregados proteicos denominados corpúsculos de Lewy (LB) (BROOKS, 2008; KAWAJIRI *et al.*, 2011). Os LB são considerados os marcadores patológicos da DP, estes apresentando a nível estrutural inclusões eosinofílicas citoplasmáticas de origem proteica, compostas principalmente pelas proteínas α -sinucleína, parkina e ubiquitina (FERRER *et al.*, 2011; KAWAJIRI *et al.*, 2011; PARNETTI *et al.*, 2013).

A influência de fatores genéticos na DP é decorrente da existência de alterações na expressão de genes codificantes das proteínas α -sinucleína, parkina, tau e PINK1, os quais podem desempenhar um papel crucial na patogênese da DP (THOMAS; BEAL, 2011; KAWAJIRI *et al.*, 2011). Isto devido a capacidade destas proteínas em promover a formação dos LB levando a quadros de disfunção mitocondrial e aumento do estresse oxidativo, alterações na dinâmica do citoesqueleto celular, entre outros (MATSUDA *et al.*, 2010; FERRER *et al.*, 2011; PARNETTI *et al.*, 2013). Porém, somente 5% à 10% dos casos da DP possuem alguma influência genética direta, esta classificada como a forma familiar da doença, sendo assim evidente o envolvimento de outros fatores no desenvolvimento da forma esporádica da DP (HALD; LOTHARIUS, 2005; MATSUDA *et al.*, 2010).

Fatores ambientais também constituem-se como uma das possíveis causas da DP, haja vista as elevadas taxas de incidência da DP em populações

que residem ou trabalham em regiões com alta exposição a compostos comumente utilizados na agricultura como pesticidas e herbicidas (KAMEL *et al.*, 2007, 2014; HANCOCK *et al.*, 2008; RHODES *et al.*, 2013).

Estudos clínicos, *post mortem* e em modelos animais têm evidenciado o papel da neuroinflamação na DP, enfatizando o possível papel da inflamação crônica como promotora da degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos (TANSEY; GOLDBERG, 2010; FERRARI; TARELLI, 2011; DOORN *et al.*, 2012; TRISTÃO *et al.*, 2014). O processo neuroinflamatório na DP é potentemente modulado pela ativação da micróglia (COLLINS *et al.*, 2012; TRISTÃO *et al.*, 2014). A micróglia é composta por células fagocitárias que comandam as defesas imunes inatas no cérebro, agindo como células *scavengers* durante processos inflamatórios, infecção, isquemia e degeneração (KONES, 2010). A SNpc é uma das regiões cerebrais com uma das maiores concentrações cerebrais da micróglia (JENNER; OLANOW, 1996). Processos inflamatórios podem alterar a conformação da micróglia, passando esta de um estado de “repouso” a um estado “ativo” (KONES, 2010; FERRARI; TARELLI, 2011). Entretanto, a ativação demasiada da micróglia resultante de processos inflamatórios crônicos leva a uma *upregulation* na expressão de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina 1 β e interleucina 6, dos níveis de óxido nítrico, das enzimas óxido nítrico *sintetase* induzível, e ciclooxigenase 2 (COX-2), contribuindo assim para um aumento do processo neurodegenerativo (KONES, 2010; FERRARI; TARELLI, 2011). O aumento da ativação da micróglia na DP não se restringe a SNpc, havendo também níveis elevados da sua ativação no córtex, núcleos da base, hipocampo e bulbo olfatório (IMAMURA *et al.*, 2003; DOORN *et al.*, 2012).

Somado a isto, Hunter *et al.* (2007), descrevem a partir da análise de mitocôndrias provenientes do estriado evidências de dano oxidativo aos componentes mitocondriais, sugerindo então que a mitocôndria pode ser um dos alvos do estresse oxidativo mediado pela micróglia. Assim é proposto que disfunção mitocondrial também desempenhe um importante papel na etiologia da DP (HUNTER *et al.*, 2007; ECKERT *et al.*, 2013). Isto justificado por esta ser a organela responsável pela maior parte da produção de adenosina trifosfato (ATP), assim a ocorrência de disfunções nos complexos da cadeia mitocondrial resultaria em degeneração neuronal como resultante da diminuição da

quantidade de ATP produzido (CHEN; LE, 2006; ECKERT *et al.*, 2013; GRENIER *et al.*, 2014). Os danos causados pelo aumento do estresse oxidativo também podem ser decorrentes da disfunção mitocondrial (HUNTER *et al.*, 2007; ECKERT *et al.*, 2013), sendo possível observar sérios danos a proteínas, lipídios e aos ácidos nucleicos em função do aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), culminando em um quadro de disfunção celular (JONES *et al.*, 2012).

Ferrer *et al.*, (2011) propõem que o estresse oxidativo é um quadro patológico existente desde as fases iniciais da DP, ocorrendo com precedência à formação do LBs na SNpc. Isto em parte pode ser explicado pela certa vulnerabilidade dos neurônios dopaminérgicos ao estresse oxidativo, haja visto que a própria metabolização da DA pode gerar ROS, e a sua auto-oxidação gera a dopamina-quinona, molécula que possui capacidade reativa (LOTHARIUS; BRUNDIN, 2002; DAUER; PRZEDBORSKI, 2003).

Portanto, é proposto que uma combinação de processos inflamatórios, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial levaria a formação de uma espécie de ciclo, culminando na degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos (HUNTER *et al.*, 2007).

2.2.4 Sintomas

A DP é caracterizada por sintomas motores e não motores que ocasionam um impacto significativo na qualidade de vida para estes pacientes e seus familiares (HEMMERLE *et al.*, 2012; RHODES *et al.*, 2013).

A DP é clinicamente descrita como uma desordem motora complexa, cujas principais manifestações são o tremor de repouso, acinesia (dificuldade em iniciar os movimentos), bradicinesia (lentidão na execução dos movimentos), alterações na marcha, rigidez e instabilidade postural (KONES, 2010; FERRER *et al.*, 2011; KAWAJIRI *et al.*, 2011; HEMMERLE *et al.*, 2012).

Entretanto, estes sintomas motores característicos são observados após a perda de aproximadamente 60-80% dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal, a qual resulta em uma depleção em torno de 80% das concentrações estriatais de DA (DEBEIR *et al.*, 2005; BOUSQUET *et al.*, 2011; HEMMERLE *et al.*, 2012). A partir disto denota-se uma notória capacidade

adaptativa dos neurônios remanescentes na manutenção dos níveis de DA, mesmo após esta perda neuronal (SAVICA *et al.*, 2010; HEMMERLE *et al.*, 2012).

Em controvérsia aos sintomas motores, os sintomas não motores surgem em estágios bem mais precoces da DP (SAVICA *et al.*, 2010; FERRER *et al.*, 2011). Estes possivelmente são decorrentes de alterações neuroquímicas existentes na fase pré-motora da DP (PREDIGER *et al.*, 2012). Estes sintomas não motores podem ser representados por distúrbios do sono, olfativos e no trato gastrointestinal, incontinência urinária, disfunções cognitivas e o desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos (KONES, 2010; BOUSQUET *et al.*, 2011; FERRER *et al.*, 2011; THOMAS; BEAL, 2011; KAWAJIRI *et al.*, 2011; DOORN *et al.*, 2012). Estes sintomas não motores levam à uma séria redução da qualidade de vida destes pacientes (DISSANAYAKA *et al.*, 2010; DOORN *et al.*, 2012; HEMMERLE *et al.*, 2012; PARNETTI *et al.*, 2013).

Evidências demonstram que a ocorrência destes sintomas não motores é crescente com a progressão da DP (DISSANAYAKA *et al.*, 2010). Em relação ao desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos em pacientes com a DP, este é geralmente relacionado com a presença da depressão e a ansiedade (KEHAGIA *et al.*, 2010; DISSANAYAKA *et al.*, 2010).

A prevalência da depressão na DP pode abranger em torno de 40-70% dos pacientes (SLAUGHTER, *et al.* 2001; FRISINA *et al.*, 2009; AARSLAND *et al.* 2012;). Hemmerle *et al.* (2012) descrevem que a depressão geralmente acompanha o paciente durante todo o curso da DP.

A depressão na DP parece ser decorrente de alterações em outros sistemas além do dopaminérgico. Estudos apontam que possíveis alterações nos níveis de serotonina (5-HT) podem estar associados a redução da neurotransmissão dopaminérgica, tal como alterações nos níveis de noradrenalina (NA) também parecem estar relacionados com a etiologia da depressão na DP (FRISINA *et al.*, 2009; SANTIAGO *et al.*, 2014).

Quanto as alterações cognitivas associadas com a DP, estas podem variar desde leves distúrbios cognitivos até a notória manifestação do quadro de demência (HANAGASI *et al.*, 2011). Distúrbios cognitivos relacionados a DP também podem ser observados em estágios precoces da DP (HANAGASI *et al.*, 2011). Estes distúrbios envolvem déficits nas funções executivas, prejuízos na

memória e aprendizado, na função visuoespacial e na atenção (KEHAGIA *et al.*, 2010; HANAGASI *et al.*, 2011; PARNETTI *et al.*, 2013). Uma possível explicação para o surgimento destes sintomas é o decorrente déficit nos níveis de catecolaminas (KEHAGIA *et al.*, 2010).

2.2.5 Tratamento

Atualmente o tratamento da DP tem por objetivo a melhora sintomática destes pacientes, haja visto que não existe nenhuma droga capaz de prevenir a perda dos neurônios dopaminérgicos ou regenerar aqueles já perdidos (BOUSQUET *et al.*, 2008; KAWAJIRI *et al.*, 2011; SONSALLA *et al.*, 2012). Por conseguinte, as terapias atualmente utilizadas objetivam em sua maioria somente uma modulação das ações da DA (FERRER *et al.*, 2011).

Nas últimas três décadas, a alternativa mais eficiente para o tratamento da DP vem sendo a utilização da levodopa (L-dopa) (SINGH *et al.*, 2006; KONES, 2010; DOORN *et al.*, 2012). Porém, em estágios iniciais da DP, outros fármacos demonstram ser uma melhor opção para o tratamento (KEHAGIA *et al.*, 2010). Com isso, a utilização de fármacos agonistas dopaminérgicos ou inibidores das enzimas responsáveis pela metabolização da DA, a monoamina oxidase e catecol-o-metiltransferase levam a uma potencialização da transmissão dopaminérgica na via nigroestriatal, apresentando assim melhoras efetivas sob ambos sintomas motores e não motores da DP (KEHAGIA *et al.*, 2010; HANAGASI *et al.*, 2011; DOORN *et al.*, 2012; REVILLA *et al.*, 2013).

Entretanto, com o decorrer do tempo a efetividade destes fármacos diminui, havendo a necessidade da utilização da L-dopa (KONES, 2010). A não utilização da L-dopa como primeira opção de tratamento nas fases iniciais da DP se dá pela ocorrência de severos efeitos colaterais decorrentes do seu uso contínuo, como a discinesia, efeitos psiquiátricos (agitação, alucinações, psicose, paranoia, hipersexualidade) e pelo surgimento de um quadro de dependência à L-dopa (SINGH *et al.*, 2006; KONES, 2010; BOUSQUET *et al.*, 2011; DOORN *et al.*, 2012). A presença destes efeitos colaterais ao L-dopa afetam diretamente a qualidade de vida dos pacientes, e em alguns casos podendo levar a um quadro sintomático mais prejudicial do que apresentado normalmente na DP (BOUSQUET *et al.*, 2011)

Porém, fazendo-se um uso contínuo há a possibilidade que a efetividade do tratamento com a L-dopa seja reduzida, culminando em eventuais falhas, podendo até mesmo ocorrer a perda da efetividade terapêutica, havendo assim a necessidade de estudos que busquem uma melhor compreensão da doença e novas alternativas para o tratamento desta patologia (THOMAS; BEAL, 2011; SONSALLA *et al.*, 2012).

2.3 MODELOS ANIMAIS DA DOENÇA DE PARKINSON

Modelos experimentais utilizando neurotoxinas são capazes de mimetizar, *in vitro* e *in vivo* são essenciais, uma vez que estes permitem o estudo dos processos neurodegenerativos que ocorrem na DP, tal como o estudo de novas abordagens terapêuticas (BLUM, 2001).

Dentre as neurotoxinas mais utilizadas em modelos animais para o estudo da degeneração associada a DP destaca-se a 6-OHDA (RODRIGUEZ *et al.*, 2001). A 6-OHDA é um análogo hidroxilado do neurotransmissor natural DA, tendo elevada seletividade a neurônios dopaminérgicos devido a sua grande afinidade ao DAT (SIMOLA, *et al.*, 2007; YONG *et al.*, 2011; BLANDINI; ARMENTERO, 2012).

Entretanto, a sua infusão direta no tecido cerebral não tem a capacidade de mimetizar totalmente o complexo padrão de degeneração que é observado em pacientes com a DP. Isto em parte devido a morte dos neurônios dopaminérgicos de forma aguda, não reproduzindo a progressão lenta característica de pacientes humanos com DP (RODRIGUEZ *et al.*, 2001; BLANDINI; ARMENTERO, 2012).

Apesar disso, a utilização de modelos animais é de extrema valia, sendo uma ferramenta importante para elucidar os mecanismos envolvidos na DP, auxiliando na busca de novas estratégias terapêuticas, além de permitir a realização de estudos invasivos, os quais não são viáveis em humanos (RODRIGUEZ *et al.*, 2001; HE *et al.*, 2009).

A 6-OHDA é incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica, assim existe a necessidade desta ser administrada diretamente no tecido cerebral (BLUM, 2001; BLANDINI; ARMENTERO, 2012).

A lesão específica decorrente da infusão da 6-OHDA sob a via dopaminérgica nigroestriatal é dependente do seu sítio de administração, sendo esta obtida após a sua administração estereotáxica no feixe prosencefálico medial (FPM), na SNpc ou no estriado (SCHWARTING *et al.*, 1996; BLANDINI; ARMENTERO, 2012). A 6-OHDA, quando administrada diretamente na SNpc ou no FPM (o qual converge as fibras aferentes dos neurônios da SNpc para o estriado), provoca uma massiva degeneração dos neurônios da via nigroestriatal, isto levando a subsequente depleção dos níveis estriatais de DA (BLANDINI; ARMENTERO, 2012).

Blandini e Armentero (2012) descrevem em seu trabalho que os mecanismos pelos quais a 6-OHDA promove a neurodegeneração são diretamente relacionados a suas propriedades pró-oxidantes. Isto por que, uma vez transportada para o interior do neurônio, a 6-OHDA acumula-se no citosol onde a sua oxidação promove uma elevada formação de peróxido de hidrogênio. Somado a isto, outro mecanismo neurotóxico da 6-OHDA é através do seu acúmulo na mitocôndria levando a inibição do complexo I mitocondrial.

A determinação *post mortem* da intensidade da lesão promovida pela 6-OHDA aos neurônios dopaminérgicos pode ser feita através de duas principais maneiras; através das análises histológicas ou através da determinação neuroquímica da quantidade residual de DA no tecido onde foi realizada a lesão. Para tal, é necessária que sejam comparados os animais lesados com a 6-OHDA com os animais não lesionados (SCHWARTING e HUSTON, 1996).

Assim, devido à dificuldade em realizar estudos relacionados a DP em humanos, há um interesse considerável quanto ao uso dos modelos animais para o estudo e compreensão dos mecanismos subjacentes a esta. Somando-se a necessidade de estudo de novas estratégias terapêuticas dirigidas a esta (BLANDINI; ARMENTERO, 2012).

A partir dos dados apresentados na literatura, quanto a importância do consumo de AGs ω -3 durante os períodos iniciais do neurodesenvolvimento, o presente trabalho buscou analisar os efeitos do consumo de ω -3 durante os períodos de gestação e gestação+lactação quanto à possíveis efeitos nootrópicos, motores e antidepressivos proporcionados por este tratamento. Além disso, somando-se às evidências de possíveis efeitos benéficos do ω -3 para com a DP e a imprescindibilidade de uma maior compreensão desta

patologia e da busca por novas estratégias terapêuticas o presente trabalho buscou avaliar os efeitos deste consumo materno de ω -3 em um modelo animal da DP nestas respectivas proles.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar se a suplementação com AGs ω -3 durante o período pré-natal promove um efeito nootrópico, antidepressivo e/ou neuroprotetor em um modelo animal de doença de Parkinson.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar se a administração de ω -3 durante o período gestacional e/ou no período gestacional + período de lactação promove alterações no peso dos filhotes após o nascimento e a influência deste tratamento no ganho de peso dos filhotes durante o período pós natal.
- Avaliar se a administração de ω -3 durante o período gestacional e/ou no período gestacional + período de lactação contribui para um melhor desenvolvimento neurológico dos filhotes quanto à memória e aprendizado.
- Avaliar se a administração de ω -3 durante o período gestacional e/ou no período gestacional + período de lactação contribui para um melhor desempenho motor dos filhotes.
- Avaliar se a administração de ω -3 durante o período gestacional e/ou no período gestacional + período de lactação é capaz de reverter as alterações motoras induzidas pela administração intracerebral unilateral de 6-OHDA nos filhotes.
- Avaliar se a administração de ω -3 durante o período gestacional e/ou no período gestacional + período de lactação consegue reverter o prejuízo de memória e aprendizado causado pela administração intracerebral bilateral de 6-OHDA nos filhotes.
- Avaliar se a administração de ω -3 durante o período gestacional e/ou durante o período gestacional + período de lactação consegue reverter a anedonia induzida pela administração intracerebral bilateral de 6-OHDA.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética do uso de animais (CEUA/UEPG) com o protocolo de aprovação 012/2013. O presente trabalho utilizou ratos da linhagem Wistar, sendo que para os procedimentos de acasalamento foram utilizadas 62 ratas fêmeas virgens e 31 ratos machos com três meses de idade procedentes do biotério da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). A partir destes animais acasalados, foram obtidos 472 filhotes, dentre os quais 229 eram machos, os quais foram utilizados nos experimentos posteriormente descritos (FIGURA 4). Os animais foram mantidos em biotério climatizado ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), com ciclo claro/escuro de 12 horas (ciclo claro inicia às 07h), em uma proporção de quatro a cinco animais por caixa de moradia, com comida e água *ad libitum*.

Foram também utilizados ratos com aproximadamente um mês de idade provenientes do biotério da UEPG para a realização do teste de reconhecimento social (posteriormente descrito).

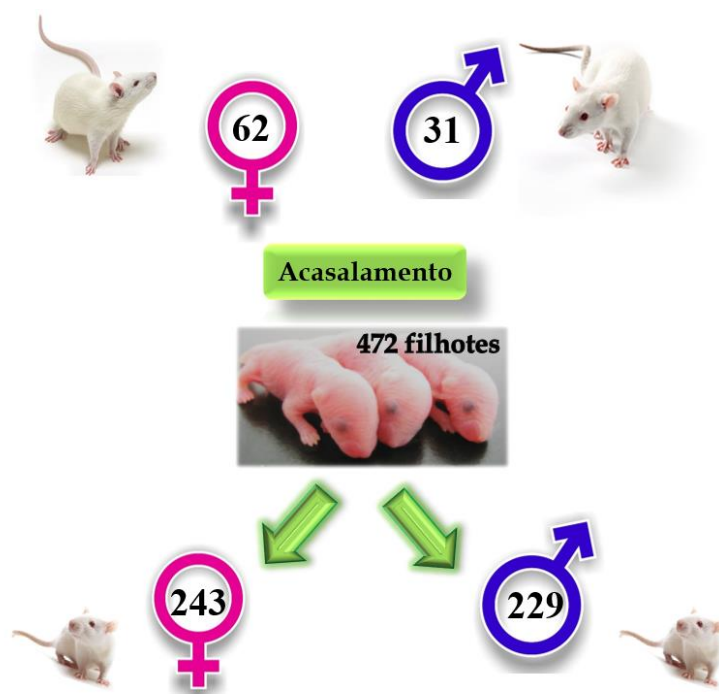


FIGURA 4: Representação dos animais utilizados para o acasalamento e as respectivas proles obtidas. Em relação as fêmeas obtidas a partir do acasalamento estas foram utilizadas em outro experimento (não descrito). FONTE: O AUTOR.

As subdivisões dos filhotes nos respectivos grupos experimentais no decorrer do presente estudo são apresentadas na FIGURA 5. Nesta estão demonstrados os grupos constituintes dos testes realizados aos 2 meses de idade e após a cirurgia estereotáxica unilateral ou bilateral.

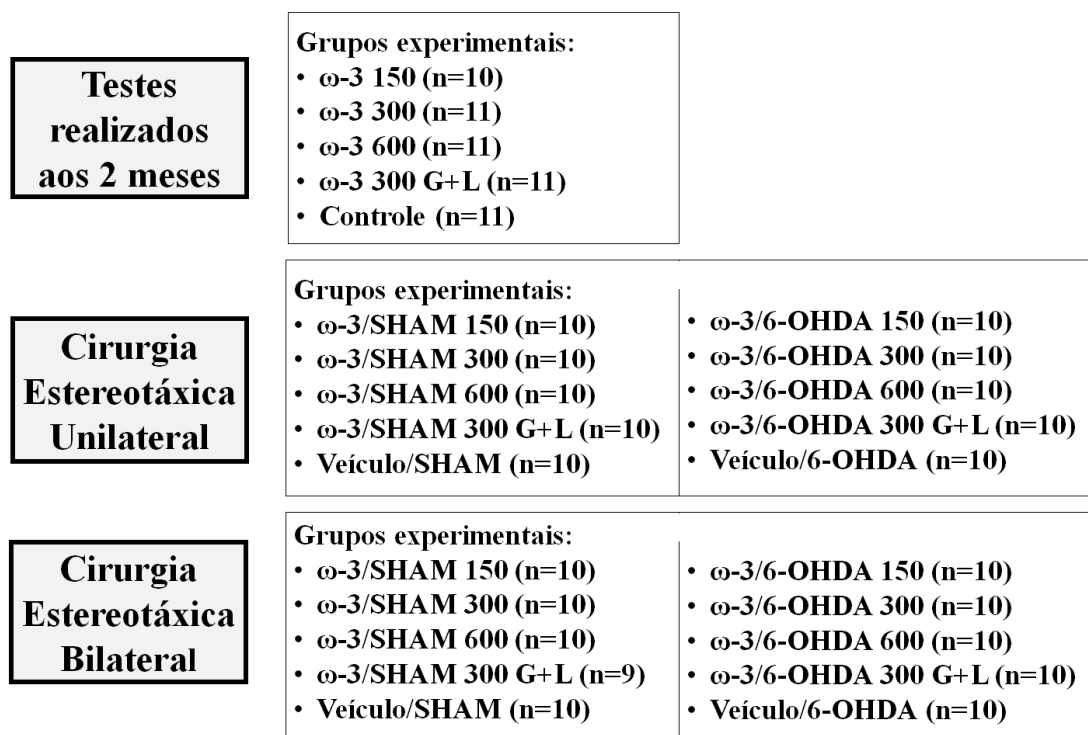


FIGURA 5: Descrição dos grupos experimentais. Representação dos animais e seus respectivos grupos utilizados nos testes realizados aos 2 meses e após a cirurgia estereotáxica unilateral ou bilateral. FONTE: O AUTOR.

4.1.1 Acasalamento

Conforme descrito previamente, o presente estudo buscou avaliar o efeito da administração de diferentes concentrações de ω -3 durante o período gestacional e durante o período gestacional + período de lactação. Para isto, primeiramente foi realizado o procedimento de acasalamento. O acasalamento ocorreu durante a fase escura do ciclo de luz (início as 19 horas com duração de 12 horas) e prosseguiu tal como descrito por Feng *et al.* (2012).

A proporção de animais adotada durante o acasalamento foi de um macho para três fêmeas por caixa de moradia. Na manhã seguinte ao acasalamento, foi realizado um lavado vaginal. Este procedimento consistiu na utilização de uma pipeta e uma ponteira, onde a ponta da ponteira foi cuidadosamente introduzida

no orifício vaginal, onde 10 µL de salina foram injetados e aspirados (3 vezes) e colocados em uma lâmina para posterior visualização ao microscópio.

O objetivo da visualização deste lavado em microscópio foi observar a possível presença de espermatozoides. Havendo a presença de espermatozoides neste lavado foi então confirmada a prenhez (dia zero da gestação), iniciando a partir disto o tratamento com ω -3. Não havendo a visualização dos espermatozoides, o procedimento de acasalamento fora então realizado novamente.

4.1.2 Tratamento

O tratamento consistiu na administração através de via oral (gavagem) de diferentes doses de ω -3. O ω -3 utilizado foi obtido através de cápsulas de óleo de peixe contendo 50% de DHA e 20% de EPA (*Herbarium Botânico S/A*®).

O tratamento iniciou-se a partir do dia zero de gestação, onde as ratas foram aleatoriamente distribuídas em cinco grupos experimentais quanto ao tratamento (adaptado de Pan *et al.*, 2011).

- Grupo tratado com ω -3 durante o período gestacional na concentração de 150 mg/Kg/dia.
- Grupo tratado com ω -3 durante o período gestacional na concentração de 300 mg/Kg/dia.
- Grupo tratado com ω -3 durante o período gestacional na concentração de 600 mg/Kg/dia.
- Grupo tratado com ω -3 durante o período gestacional + período de lactação (G+L) na concentração de 300 mg/Kg/dia.
- Grupo controle, o qual não foi submetido a nenhum tratamento.

O tratamento foi realizado durante todo o período gestacional, o qual compreendeu aproximadamente vinte e um dias. Assim, após o nascimento dos filhotes, o tratamento foi encerrado. Entretanto, para as ratas do grupo ω -3 (G+L) o tratamento prosseguiu durante o período de lactação, este correspondendo os vinte e um dias após o nascimento dos filhotes.

Durante o período de tratamento estes animais tiveram livre acesso a água e ração. Valores referentes ao peso das ratas durante o período de

tratamento foram obtidos semanalmente para que houvesse o cálculo da dose de ω -3 à ser administrado.

Após o nascimento, nenhum tratamento foi realizado nos filhotes. Após completarem o 21º dia de nascimento foi realizado o procedimento de desmame, onde os filhotes foram separados de suas mães e entre os gêneros.

A partir do desmame, foram utilizados neste estudo somente os filhotes machos obtidos a partir dos acasalamentos. A FIGURA 6 demonstra a sequência das etapas realizadas desde o acasalamento até a realização das cirurgias estereotáxicas.

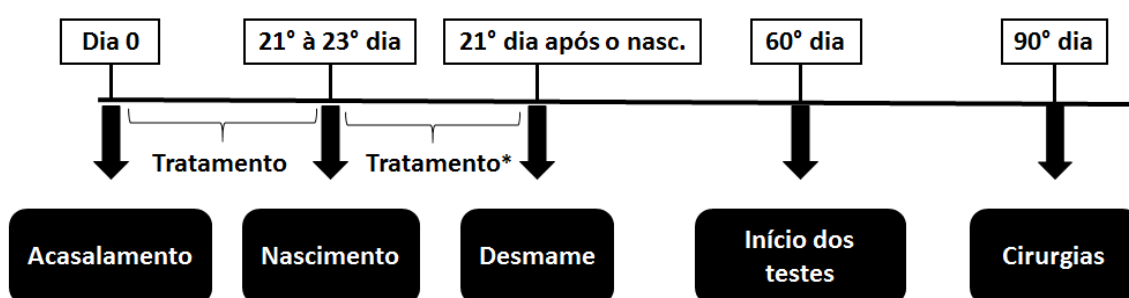


FIGURA 6: Ordem cronológica das etapas realizadas no presente estudo. * Tratamento no grupo ω -3 G+L. FONTE: O AUTOR.

4.1.3 Avaliação do peso

No 2º dia após o nascimento, foi realizada a pesagem dos filhotes com objetivo de avaliar possíveis influências do tratamento com o ω -3 para com o desenvolvimento intrauterino destes filhotes.

A pesagem dos filhotes recém-nascidos foi realizada no 2º dia e não no 1º dia após o nascimento tentando minimizar algum possível estresse as mães. A avaliação do peso prosseguiu durante o período de lactação, entretanto não foi possível realizar uma avaliação específica para filhotes machos e fêmeas durante este período, isto pela dificuldade em identifica-los.

A partir da realização do desmame, a pesagem dos filhotes machos foi efetuada semanalmente, sendo que os animais nos quais foi realizada avaliação do peso foram aleatoriamente selecionados (mesmos animais utilizados durante as semanas, sendo estes inicialmente selecionados de maneira aleatória entre

os grupos), buscando observar possíveis alterações no peso corporal a longo prazo.

4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS

Conforme apresentado na FIGURA 7, os testes de preferência à sacarose, teste de reconhecimento social, teste do campo aberto e teste de reconhecimento de objetos foram realizados após os animais terem completado dois meses de idade. Já o teste do comportamento rotatório foi realizado após a cirurgia estereotáxica unilateral (posteriormente descrita) no 7°, 14° e 21° após a cirurgia (FIGURA 8). Após a cirurgia estereotáxica bilateral (posteriormente descrita) foram realizados os testes de preferência à sacarose, teste de reconhecimento social e o teste do campo aberto (FIGURA 9).

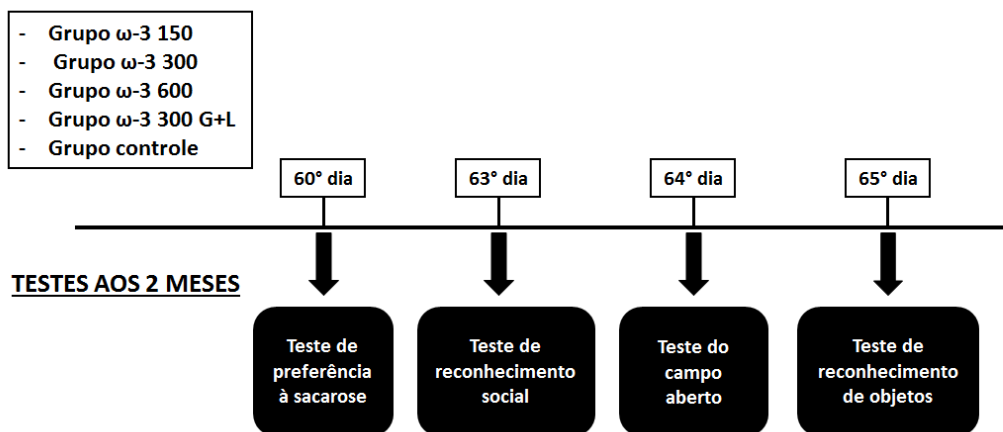


FIGURA 7: Testes realizados aos 2 meses de idade, tendo o início a partir do 60º dia após o nascimento. FONTE: O AUTOR.

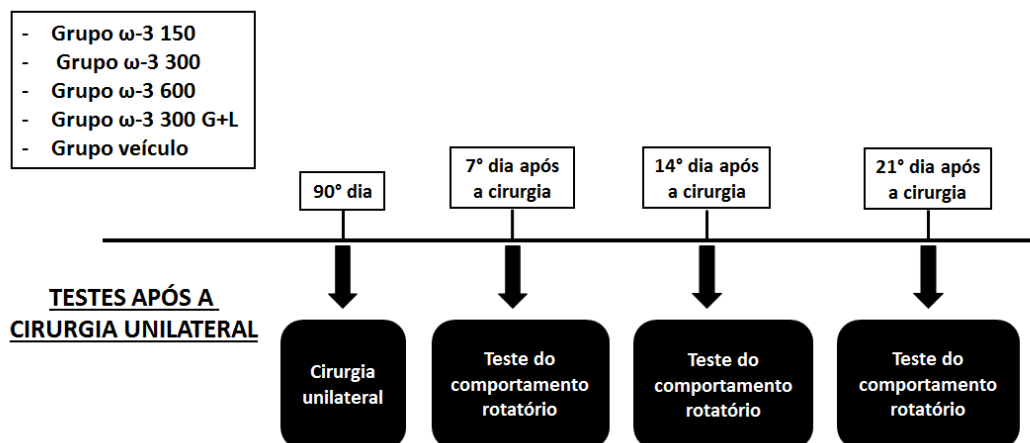


FIGURA 8: Teste do comportamento rotatório após a cirurgia unilateral. Teste realizado no 7°, 14° e 21° dia após a cirurgia estereotáxica para a infusão unilateral da toxina 6-OHDA. FONTE: O AUTOR.

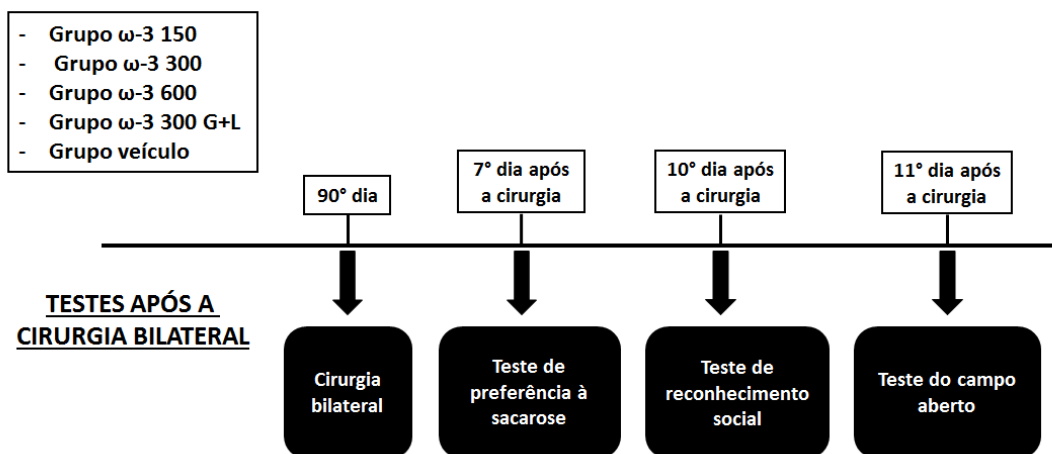


FIGURA 9: Testes realizados após a cirurgia estereotáxica para a infusão bilateral da toxina 6-OHDA. FONTE: O AUTOR.

Os testes comportamentais (exceto o teste de preferência à sacarose) realizados foram gravados para as posteriores análises. O teste de reconhecimento de objetos não foi realizado após a cirurgia bilateral por questões de cunho prático, assim, optamos somente pela utilização do teste de reconhecimento social após a cirurgia bilateral. Após a realização dos testes comportamentais, os animais submetidos a cirurgia estereotáxica (unilateral e bilateral) foram sacrificados (guilhotinagem), tendo os seus cérebros coletados para posteriores análises (não descritas nesta dissertação).

4.2.1 Teste de preferência à sacarose

O consumo de sacarose é frequentemente utilizado como medida de anedonia em roedores (CRAFT; DEVRIES, 2006). Assim sendo, o teste foi realizado em duas etapas do presente estudo, primeiramente após os animais terem completados dois meses de idade, e novamente realizado no 7º dia após a cirurgia estereotáxica bilateral. Para a realização do teste, os animais foram inicialmente separados em caixas de moradia (um animal por caixa), estes tendo livre acesso a ração.

O teste foi realizado conforme descrito previamente por Slattery *et al.* (2007), onde inicialmente em uma fase de adaptação foram ofertados dois bebedouros ambos contendo somente água por um período de vinte e quatro horas, isto para que o animal se habituasse a utilizar os dois bebedouros. Vinte

e quatro horas após a fase de adaptação, um dos bebedouros com água foi substituído por um bebedouro contendo uma solução de sacarose 0,8%. Passadas vinte e quatro horas, os bebedouros foram invertidos de lugar buscando evitar que houvesse um efeito de perseverança de consumo dos líquidos em somente um dos lados da caixa.

A análise do consumo de água e da solução de sacarose nos grupos diferentes grupos experimentais se deu através da pesagem dos bebedouros antes e após o teste. Estes valores serviram de base para o cálculo tanto do consumo total de líquidos quanto o percentual de preferência à sacarose.

4.2.2 Teste de reconhecimento social

O teste de reconhecimento social foi realizado logo após o término da realização do teste de preferência à sacarose, quando os animais completaram dois meses de idade, e novamente no 10º dia após a cirurgia estereotáxica bilateral.

O período de isolamento pelo o qual os animais foram submetidos durante o teste da preferência à sacarose serviu para a adaptação destes animais ao novo ambiente.

O experimento foi realizado utilizando o procedimento descrito por Dantzer *et al.* (1987) e padronizado recentemente por Prediger e colaboradores (PREDIGER *et al.*, 2003; PREDIGER, *et al.*, 2005; PREDIGER, *et al.*, 2006), sendo este um modelo válido para o estudo da memória olfatória de curta-duração.

A realização do teste de reconhecimento social consistiu em duas apresentações sucessivas de um rato jovem (com aproximadamente um mês de idade) a um rato em experimento. Estas apresentações tiveram duração de cinco minutos cada, separadas por um intervalo de trinta minutos entre elas. Durante a primeira apresentação, o rato jovem foi colocado na caixa do rato em experimento, onde foram registrados o tempo de investigação (cheirar, lamber, se aproximar, etc) do rato em experimento sobre o rato jovem. Ao final da primeira apresentação, o rato jovem foi retirado da caixa do rato em experimento, sendo mantido isolado em outra caixa durante o intervalo entre as apresentações. Dado este intervalo de trinta minutos, o mesmo rato jovem foi

reapresentado ao rato em experimento, registrando novamente o tempo de investigação do rato em experimento.

A utilização de um intervalo de tempo de trinta minutos entre as apresentações é justificada pelo fato que o rato em experimento é capaz de reconhecer o rato jovem que lhe fora previamente apresentado, resultando em uma redução no tempo de investigação durante a segunda apresentação. Porém, se o intervalo entre as apresentações for superior a quarenta minutos, o rato em experimento perde a capacidade de reconhecimento, e com isso não é verificada a redução no tempo de investigação durante a segunda apresentação (PREDIGER *et al.*, 2006).

A partir dos resultados obtidos na análise dos tempos de investigação dos ratos em experimento foi calculado o RID (*Ratio of Investigation Duration*) que é expresso como a razão entre a segunda e a primeira apresentação. Desta forma, uma redução no valor de RID representa uma menor ocorrência do comportamento de investigação durante a segunda apresentação, constatando a capacidade de reconhecimento do rato em experimento. Esta transformação foi adotada com finalidade de equalizar as variações entre diferentes grupos (PREDIGER *et al.*, 2003).

4.2.3 Teste do campo aberto

O teste do campo aberto foi realizado no dia posterior a realização do teste do reconhecimento social (conforme apresentado nas FIGURAS 7 e 9) quando estes animais possuíam dois meses de idade, e novamente realizado no 11º dia após a cirurgia estereotóxica bilateral.

O objetivo da realização deste teste foi verificar possíveis benefícios do tratamento com o ω -3 sobre a atividade motora aos dois meses de idade. Já a sua realização após a cirurgia bilateral teve por objetivo verificar a existência de possíveis alterações motoras decorrentes da realização da cirurgia estereotóxica bilateral, as quais poderiam interferir nos resultados obtidos a partir dos outros testes realizados após a cirurgia bilateral.

Para a realização deste teste, foi utilizada uma caixa retangular de madeira e fórmica, com o chão de cor branca, medindo 100 x 100 cm, sendo este dividido em 25 retângulos menores medindo 20 x 20 cm, com paredes de

40 cm de altura. Cada animal foi delicadamente colocado no centro do campo aberto permitindo-lhe explorá-lo por 5 minutos. Durante este período de exploração os seguintes parâmetros foram analisados: o número de quadrados percorridos e quantidade de levantadas (representa a ação na qual o animal se levanta para explorar o ambiente permanecendo apoiado em suas patas traseiras). Antes de cada teste foi realizada a higienização no aparato de teste com uma solução água-etanol 5%, desta forma tentando eliminar possíveis vieses no desempenho durante o teste devido odores deixados pelo animal anterior.

4.2.4 Teste do reconhecimento de objetos

Ao contrário dos testes acima descritos, o teste de reconhecimento de objetos foi realizado somente quando os animais possuíam dois meses de idade.

O teste de reconhecimento de objetos foi adaptado a partir do trabalho realizado por Ennaceur e Delacour (1988) e posteriormente padronizado por Prickaerts *et al.* (2002) tendo como objetivo avaliar a memória de reconhecimento destes animais.

Previamente ao início do teste, foi realizada uma seção inicial de adaptação dos animais para com o aparato de teste (caixa feita de madeira e fórmica medindo 100 x 100 cm). Durante esta fase de adaptação os animais permaneceram no aparato de teste por 5 minutos, isto sem a presença de nenhum objeto. Vinte e quatro horas após a realização da seção de adaptação, foram colocados inicialmente dois objetos idênticos no aparato, cada objeto estando em um dos lados da caixa à uma distância de 10 cm das paredes do aparato de teste.

Assim sendo, o animal foi colocado no centro do aparato tendo ele 3 minutos para investigar estes objetos. O comportamento de investigação foi considerado quando o animal aproximou ao menos dois centímetros a sua narina do respectivo objeto. Após 1 hora do primeiro período de investigação, o animal foi recolocado no aparato, porém um dos objetos utilizados no primeiro período de investigação foi substituído por um novo objeto, tendo assim o animal novamente 3 minutos para investiga-los.

A partir dos valores referentes ao tempo de investigação no segundo período do teste foi possível calcular o escore de discriminação (ED). Este escore foi obtido a partir da mensuração do tempo gasto pelos animais na exploração do novo objeto (b), do tempo de exploração do objeto já conhecido (a), pelo tempo total de exploração destes dois objetos (e2), isto sendo representado pela seguinte fórmula: $ED = \frac{b-a}{e2}$.

4.2.5 Teste do comportamento rotatório induzido pela apomorfina

O teste de comportamento rotatório foi realizado nos animais posteriormente a realização da cirurgia estereotáxica para lesão unilateral da SNpc por infusão da toxina 6-OHDA (posteriormente descrita).

O comportamento rotatório nestes animais lesados foi observado no 7º, 14º e 21º dia após a cirurgia procedendo conforme descrito nos trabalhos de Schamne *et al.* (2014) e Vecchia *et al.* (2015). Primeiramente, foi realizada a administração 1,0 mg/Kg apomorfina (agonista dopaminérgico) por via subcutânea. Logo após esta administração, o animal foi colocado em um cilindro de fundo cônico, onde durante sessenta minutos foram contabilizadas as rotações (360º) no mesmo sentido da lesão, as quais foram chamadas de ipsilaterais e as rotações para o lado contrário a lesão, chamadas de contralaterais (FIGURA 10). Sempre foram confrontados os resultados de um animal experimental com um animal controle.

Lesão do lado esquerdo



Desafio agonista indireto ou direto



Rotações Ipsilaterais (A)



Rotações Contralaterais (B)

FIGURA 10: Representação do comportamento rotatório em animais lesados unilateralmente a partir da infusão da toxina 6-OHDA. Ilustração do comportamento rotatório induzido pela administração de um fármaco agonista dopaminérgico. FONTE: GREGÓRIO (2007).

4.3 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA

Após terem completado três meses de idade, os animais pesando entre 270 à 320g foram submetidos à cirurgia estereotáxica para infusão da neurotoxina 6-OHDA ou salina (SHAM). A utilização da cirurgia estereotáxica para os procedimentos de lesão da via nigroestriatal tem como objetivo garantir a reprodutibilidade da localização das infusões das drogas e procedeu tal como descrito por Schamne *et al.* (2014) e Vecchia *et al.* (2015).

Para a lesão na via nigroestriatal, os animais foram inicialmente anestesiados utilizando tiopental (50 mg/Kg) e posteriormente tricotomizados. Antes do início da realização da cirurgia (15 minutos) foi administrado 10 mg/Kg de nortriptilina por via intraperitoneal (i.p.) com objetivo de evitar possíveis lesões da 6-OHDA à neurônios noradrenérgicos e serotoninérgicos.

Em seguida, os animais foram devidamente posicionados no aparelho estereotáxico. Após isso, foi administrado um anestésico local, lidocaína (0,15 ml) por via subcutânea, logo abaixo da pele que recobria o crânio destes animais. A antissepsia local foi realizada com a utilização de álcool iodado.

Aproximadamente 5 minutos após a administração do anestésico local, foi realizado um corte utilizando um bisturi na pele e na fáscia muscular que recobrem o crânio. Após o afastamento da pele e desta fáscia muscular utilizando o bisturi e pinças hemostáticas foi possível obter a localização do bregma, (intersecção das suturas cranianas), que foi utilizado como ponto de referência para as próximas etapas. Assim, a partir da localização do bregma e juntamente com as coordenadas provenientes do atlas desenvolvido por Paxinos e Watson (2005) foi possível localizar as coordenadas da localização do (FPM), estas sendo: anteroposterior - 1,9 mm a partir do bregma, médio-lateral \pm 1,9 mm a partir do bregma e dorsoventral - 7,9 mm a partir do crânio.

Com o auxílio de uma broca de baixa rotação, foi possível perfurar o crânio e assim permitir o acesso da agulha para a infusão da neurotoxina 6-OHDA (previamente dissolvida em solução salina 0,9 % contendo 0,2% de ácido ascórbico) ou de uma solução salina no FPM. Para as cirurgias unilaterais foram injetados 8 μ g da 6-OHDA, já para as cirurgias bilaterais foram injetados 4 μ g da

6-OHDA em cada hemisfério cerebral, conforme procedimento descrito em trabalhos anteriores (DA CUNHA *et al.*, 2008).

Após o término da cirurgia foi realizada a sutura do corte, tal como a administração de um pentabiótico de uso veterinário na dose de 1 mg/Kg por via intramuscular, visando com isto diminuir a probabilidade de ocorrência de infecção nestes animais recém operados.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos em média \pm o erro padrão da média (e.p.m). Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do teste *post-hoc* de Bonferroni. As diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando $p < 0,05$. Os dados foram analisados utilizando o software estatístico GraphPad Prism ® 5.01.

5 RESULTADOS

Os resultados a serem inicialmente apresentados referem-se a análise do peso após o nascimento e a evolução deste no decorrer do estudo. No decorrer deste, são também apresentados os testes comportamentais realizados em 3 etapas: os testes realizados após os animais terem completado 2 meses de idade, os testes realizados após a cirurgia unilateral e os testes realizados após a cirurgia bilateral.

5.1 EFEITO DO TRATAMENTO COM O ÔMEGA-3 SOB O PESO CORPORAL APÓS O NASCIMENTO

A FIGURA 11 representa os efeitos do tratamento com o ω -3 (150, 300 e 600 mg/Kg/dia) no peso dos filhotes após o nascimento, avaliando a influência do tratamento com o ω -3 sobre o desenvolvimento intrauterino. Para certificarmos a consistência dos dados, foi analisada uma possível relação entre o número de filhotes por fêmea e o peso destes após o nascimento (dados não apresentados), não sendo observada nenhuma relação entre estas variáveis.

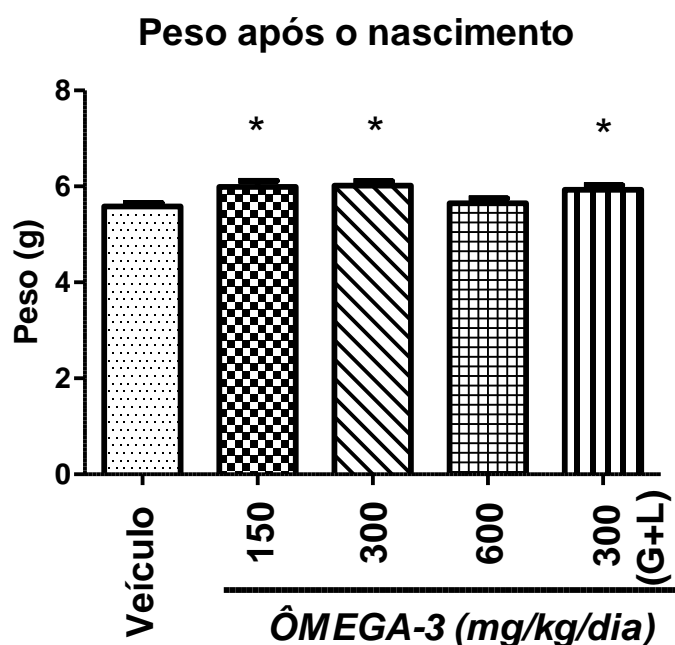


FIGURA 11: Avaliação do peso corporal após o nascimento a partir do tratamento com o ω -3 durante o período gestacional. Grupos tratados com o ω -3 nas doses de 150 (n=48), 300 (n=51), 600 (n=77) e 300 mg/Kg/dia G+L (n=66) em comparação com o grupo controle (n=90). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle.

Os resultados obtidos apontam que o tratamento durante o período gestacional resultou em um maior peso após o nascimento nos grupos ω -3 150 ($p < 0,05$), ω -3 300 ($p < 0,01$) e ω -3 G+L ($p < 0,05$) em comparação ao grupo controle.

Após o nascimento, o peso destes filhotes foi também obtido na 1ª e 2ª semana, sendo representado na FIGURA 12. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos experimentais durante este período.

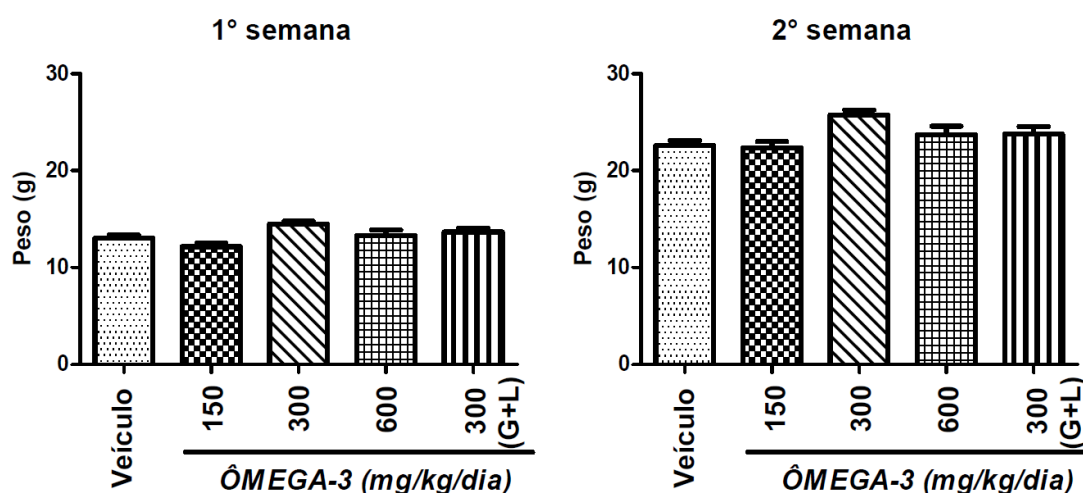


FIGURA 12: Avaliação do ganho de peso dos filhotes após o nascimento na 1ª e 2ª semana. Tratamento com o ω -3 durante a gestação nas doses de 150 ($n=48$), 300 ($n=49$ e 29), 600 mg/Kg/dia ($n=53$) e o tratamento durante a gestação e lactação 300 (mg/Kg/dia) G+L ($n=65$ e 64) em comparação com o grupo controle ($n=86$ e 83). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. Não houve diferença estatística entre os grupos $p > 0,05$.

5.2 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL APÓS O DESMAME

Dentre a 3ª à 9ª semana os valores referentes ao peso dos filhotes machos (aleatoriamente selecionados entre os seus grupos) foram coletados semanalmente. Os resultados apontam que o tratamento com o ω -3 na dose de 300 mg/Kg/dia durante o período gestacional resultou um aumento do peso destas proles em relação ao grupo controle, isto evidenciado nas avaliações realizadas na 3ª, 5ª e 6ª semana após o nascimento ($p < 0,05$). De forma contrária o tratamento com ω -3 nos grupos ω -3 600 e ω -3 300 G+L resultou em menores valores de peso em comparação com o grupo controle, tendo o grupo ω -3 600 menores valores em relação controle na 8ª semana ($p < 0,05$). Já o grupo ω -3 300

G+L apresentou menores em relação controle tanto na 8ª semana ($p < 0,001$) e na 9ª semana ($p < 0,05$).

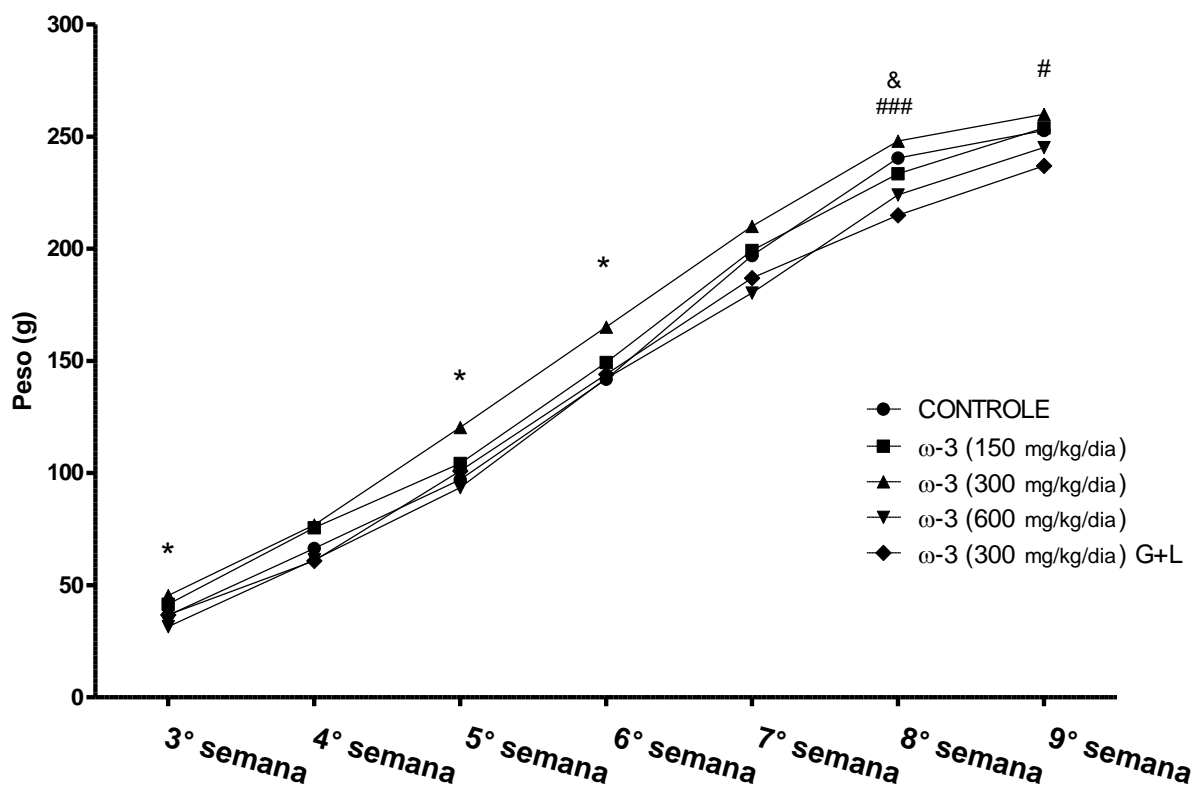


FIGURA 13: Evolução do peso nos animais dos grupos tratados com o ω -3 e do grupo controle no decorrer da 3ª à 9ª semana. Grupos controle ($n=29$), ω -3 150 ($n=22$), ω -3 300 ($n=13$), ω -3 600 ($n=17$), ω -3 300 G+L ($n=21$). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$ comparando o grupo ω -3 300 com o grupo controle. & $p < 0,05$ comparando o grupo ω -3 600 com o grupo controle. # $p > 0,05$, ### $p > 0,001$ comparando o grupo ω -3 300 G+L com o grupo controle.

5.3 TESTE DA PREFERÊNCIA À SACAROSE (AOS 2 MESES)

Após terem completado 2 meses de idade, os animais foram submetidos ao teste da preferência à sacarose. Valores referentes ao consumo total de líquidos durante o teste e o percentual de preferência à sacarose são apresentados na FIGURA 14.

Os resultados demonstram que o tratamento com o ω -3 nas doses de 150, 300, 600 mg/Kg/dia nos períodos gestacionais e/ou durante a lactação (300 G+L) não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

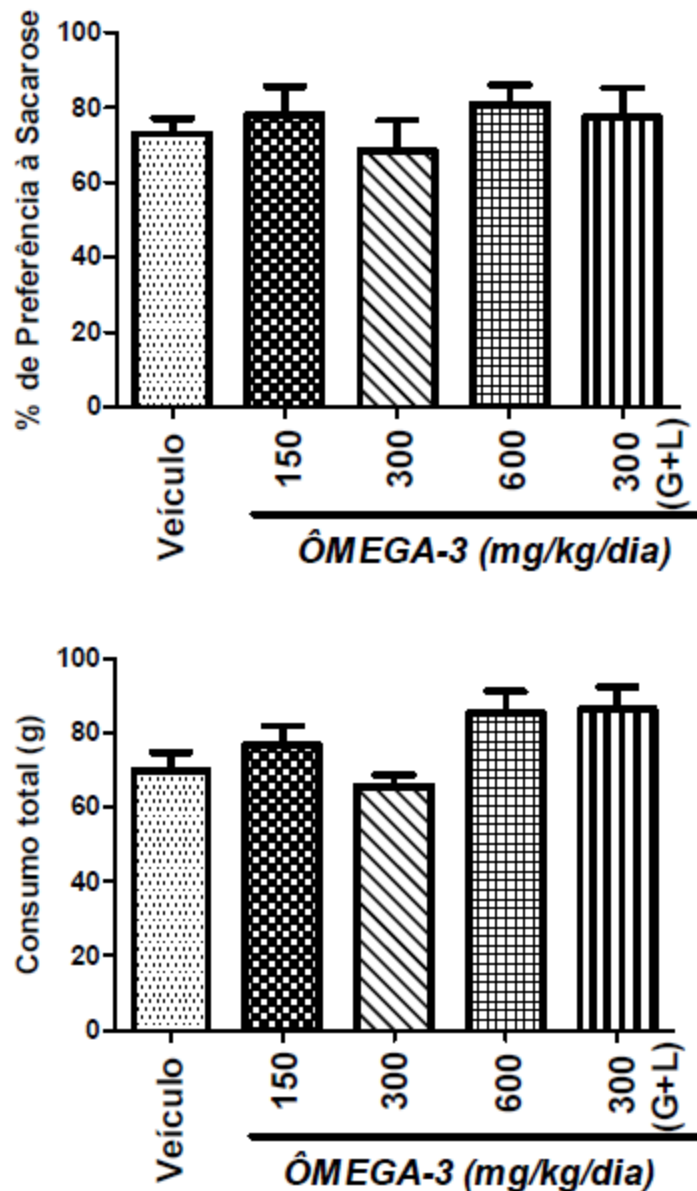


FIGURA 14: Consumo total de líquidos e o percentual de preferência à sacarose obtidos através do teste de preferência a sacarose realizado aos 2 meses. Os dados referentes ao percentual de preferência à sacarose e consumo total de líquidos foram analisados nos grupos controle (n=11), ω -3 150 (n=10), ω -3 300 (n=11), ω -3 600 (n=11), ω -3 300 G+L (n=11). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. Não houve diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$).

5.4 TESTE DE RECONHECIMENTO SOCIAL (AOS 2 MESES)

Buscamos avaliar se o tratamento com o ω -3 nas doses e períodos anteriormente descritos levaria a alterações no desempenho destes animais no teste de reconhecimento social, tal como apresentado na FIGURA 15.

A partir da obtenção dos valores da RID pode-se observar que os animais do grupo ω -3 600 apresentaram melhores resultados em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$), durante as duas sessões em que lhes fora apresentado o rato jovem (FIGURA 15), entretanto os outros grupos tratados com o ω -3 não apresentaram diferença significativa para com o grupo controle ($p > 0,05$).

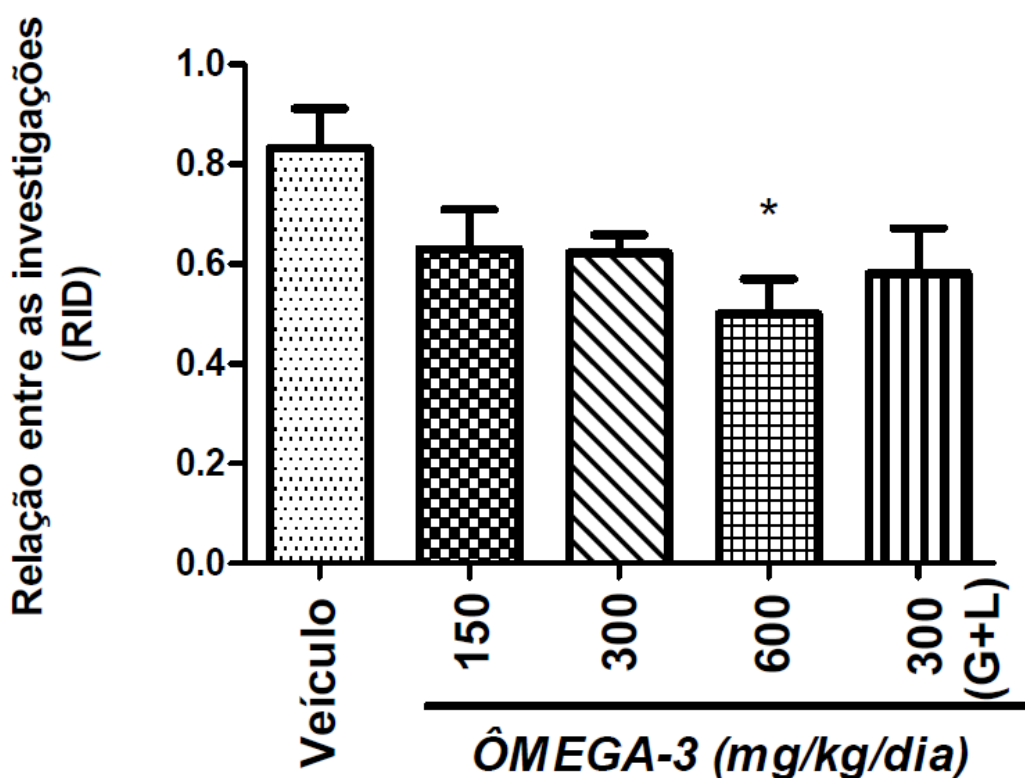


FIGURA 15: Relação entre a primeira e a segunda investigação ao animal jovem no teste de reconhecimento social aos 2 meses. Os valores da RID foram obtidos nos animais dos grupos controle (n=11), ω -3 150 (n=10), ω -3 300 (n=11), ω -3 600 (n=11), ω -3 300 G+L (n=11). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$ comparando o grupo ω -3 600 e o grupo controle.

5.5 TESTE DO CAMPO ABERTO (AOS 2 MESES)

A partir do teste do campo aberto foram avaliados os seguintes parâmetros: quantidade de quadrados percorridos e o número de levantadas.

Os resultados obtidos demonstram que o tratamento com o ω -3 não influenciou a atividade motora em nenhum dos grupos avaliados, haja vista que nenhuma diferença estatística foi encontrada no número de quadrados percorridos durante o teste ($p > 0,05$), tal como no número de levantadas ($p > 0,05$) (FIGURA 16).

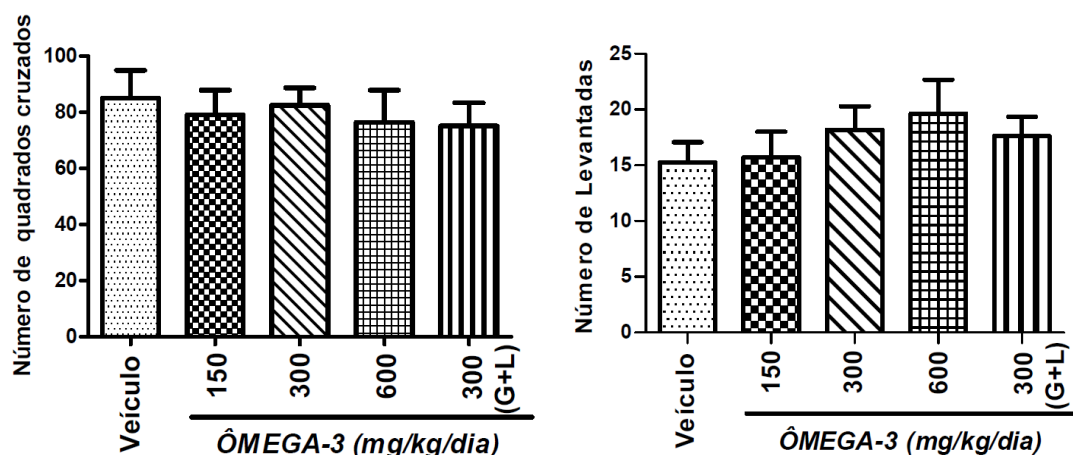


FIGURA 16: Análise da quantidade de quadrados percorridos e do número de levantadas no teste do campo aberto aos 2 meses. Os valores foram obtidos a partir dos animais dos grupos controle (n=11), ω -3 150 (n=10), ω -3 300 (n=11), ω -3 600 (n=11), ω -3 300 G+L (n=11). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos ($p > 0,05$).

5.6 TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS (AOS 2 MESES)

Valores referentes ao escore de discriminação (ED) foram obtidos após os dois períodos de investigação aos quais os animais foram expostos. Dados apresentados na FIGURA 17.

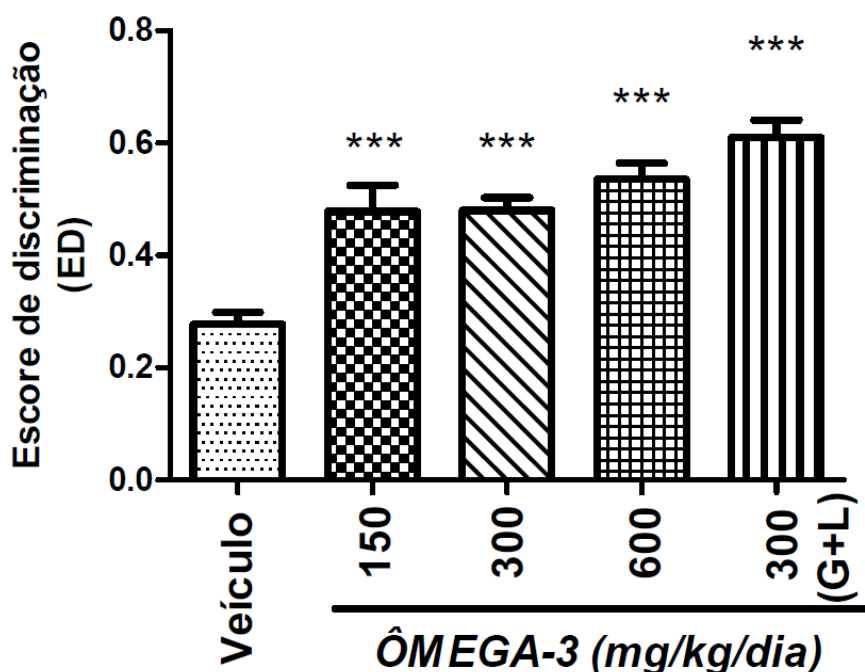


FIGURA 17: Análise do escore de discriminação entre objeto familiar e o objeto novo no teste de reconhecimento de objetos aos 2 meses. Os valores foram obtidos a partir dos animais dos grupos controle (n=11), ω -3 150 (n=10), ω -3 300 (n=11), ω -3 600 (n=11), ω -3 300 G+L (n=11). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. *** $p > 0,001$ em comparação com o grupo controle.

Foi observada uma significativa influência do tratamento com o ω -3 para com o desempenho destes animais na tarefa de reconhecimento do objeto familiar e o objeto novo.

Em relação ao grupo controle, o tratamento com o ω -3 resultou em valores do ED significativamente elevados ($p < 0,001$) nos grupos ω -3 150, ω -3 300, ω -3 600 e ω -3 G+L. Dados apresentados na FIGURA 17.

5.7 TESTE DO COMPORTAMENTO ROTATÓRIO

Após a realização da cirurgia unilateral os animais (SHAM e 6-OHDA) dos grupos veículo, ω -3 150, ω -3 300, ω -3 600 e ω -3 300 G+L foram submetidos ao teste do comportamento rotatório no 7º, 14º e 21º dia após a cirurgia.

A FIGURA 18 apresenta os resultados obtidos no teste do comportamento rotatório realizado no 7º dia após a cirurgia.

Em relação ao número de rotações contralaterais na 1ª semana de teste, a comparação entre os grupos veículo/6-OHDA com grupo veículo/SHAM demonstrou que os animais dos grupos veículo/6-OHDA apresentaram uma maior quantidade de rotações contralaterais quando comparado ao seu respectivo grupo SHAM ($p < 0,01$). Este dado sendo um indicativo da efetividade da infusão da neurotoxina 6-OHDA na promoção da lesão dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal, entretanto pode-se observar que os diferentes tratamentos com o ω -3 não foram capazes de reduzir o número de rotações contralaterais induzidas pela apomorfina, isto podendo ser observado pela ausência de diferenças entre os diferentes grupos ω -3/6-OHDA com o grupo veículo/6-OHDA ($p > 0,05$).

Como esperado, nenhuma diferença foi observada em relação aos grupos ω -3/SHAM para com o grupo veículo/SHAM ($p > 0,05$). Quanto ao número de rotações ipsilaterais, nenhuma diferença estatística foi obtida a partir da comparação dos grupos dos grupos ω -3/SHAM e veículo/SHAM, ω -3/6-OHDA e veículo/6-OHDA ($p > 0,05$).

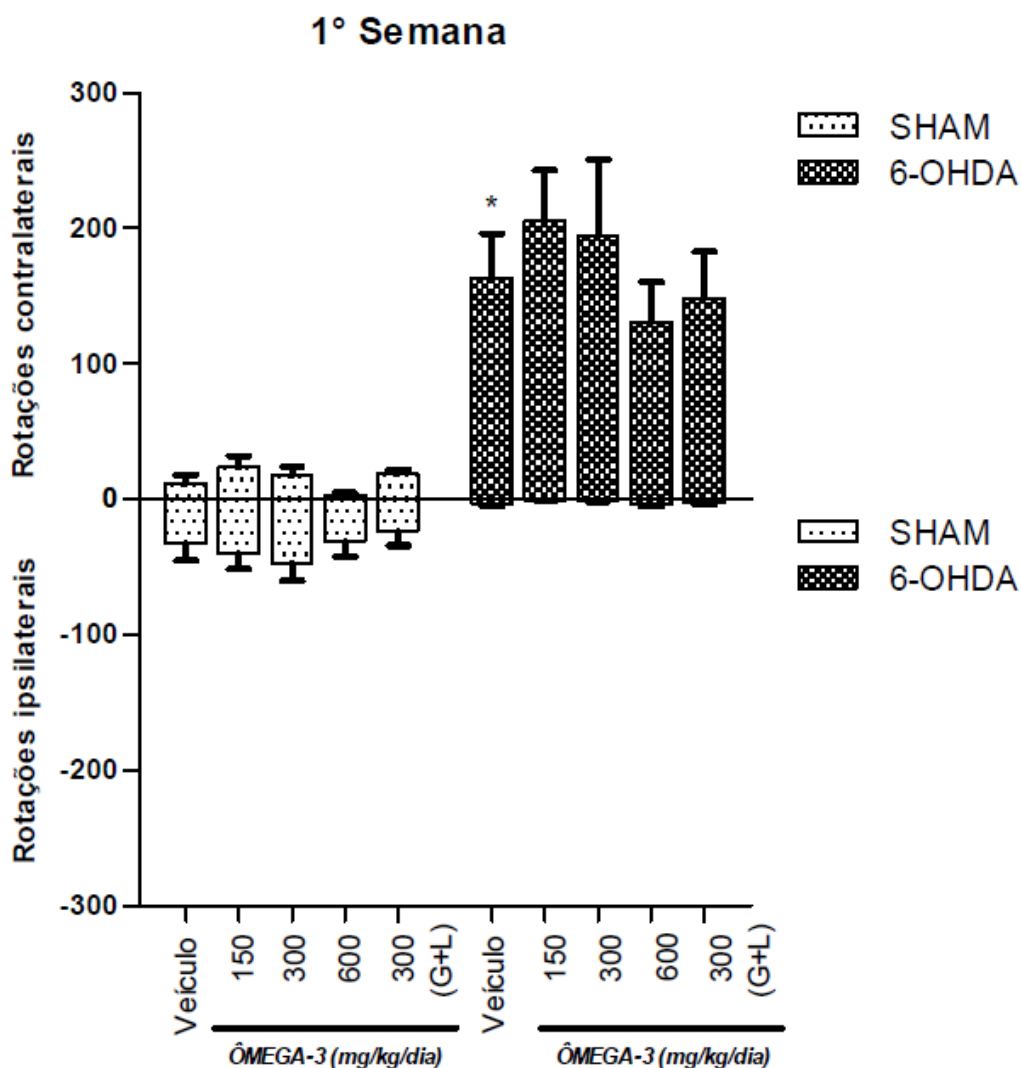


FIGURA 18: Número de rotações contralaterais e ipsilaterais no 7º dia após a cirurgia estereotáxica unilateral. O número de rotações foi obtido dos animais dos grupos SHAM e 6-OHDA veículo ou tratados com ω -3 nas concentrações de 150, 300, 600, 300 mg/Kg/dia G+L (n=10 em todos os grupos). * $p < 0,05$ comparando os grupos veículo/6-OHDA e veículo/SHAM. Dados analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni.

De maneira semelhante, o grupo veículo/6-OHDA apresentou um número de rotações contralaterais significativamente elevado ($p < 0,05$) em relação ao grupo veículo/SHAM no 14º após a realização da cirurgia unilateral (FIGURA 19). Entretanto, o tratamento com o ω -3 não foi capaz de reduzir o número de rotações contralaterais decorrentes da infusão da 6-OHDA (grupos ω -3/6-OHDA X veículo/6-OHDA) ($p > 0,05$). O número de rotações ipsilaterais não apresentou diferença a partir da comparação dos grupos ω -3/SHAM e veículo/SHAM, ω -3/6-OHDA e veículo/6-OHDA ($p > 0,05$).

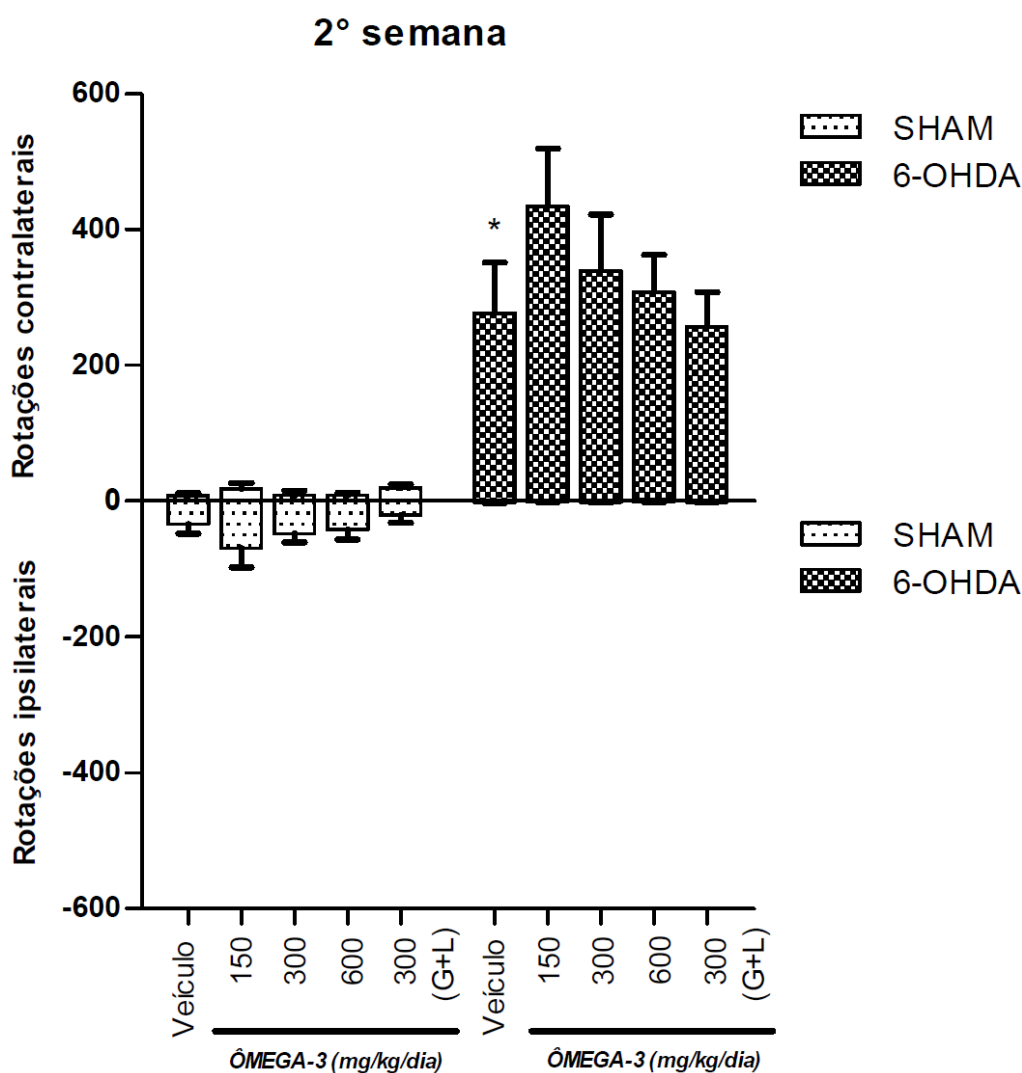


FIGURA 19: Número de rotações contralaterais e ipsilaterais no 14° dia após a cirurgia estereotáxica unilateral. O número de rotações foi obtido dos animais dos grupos SHAM e 6-OHDA veículo ou tratados ω -3 nas concentrações de 150, 300, 600, 300 mg/Kg/dia G+L (n=10 em todos os grupos). * $p < 0,05$ (comparando os grupos veículo/6-OHDA e veículo/SHAM). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni.

Os resultados da 3° semana de testes são representados na FIGURA 20. De maneira semelhante a 1° e a 2° semana de testes, o grupo veículo/6-OHDA apresentou um número de rotações contralaterais significativamente elevado ($p < 0,05$) em relação ao grupo veículo/SHAM no 21° após a realização da cirurgia unilateral. Nenhuma diferença significativa foi encontrada em relação ao tratamento com o ω -3 e o número de rotações contralaterais quando comparados os grupos ω -3/6-OHDA com o grupo veículo/6-OHDA ($p > 0,05$). Não

foram observadas diferenças relacionadas ao número de rotações ipsilaterais ($p > 0,05$).

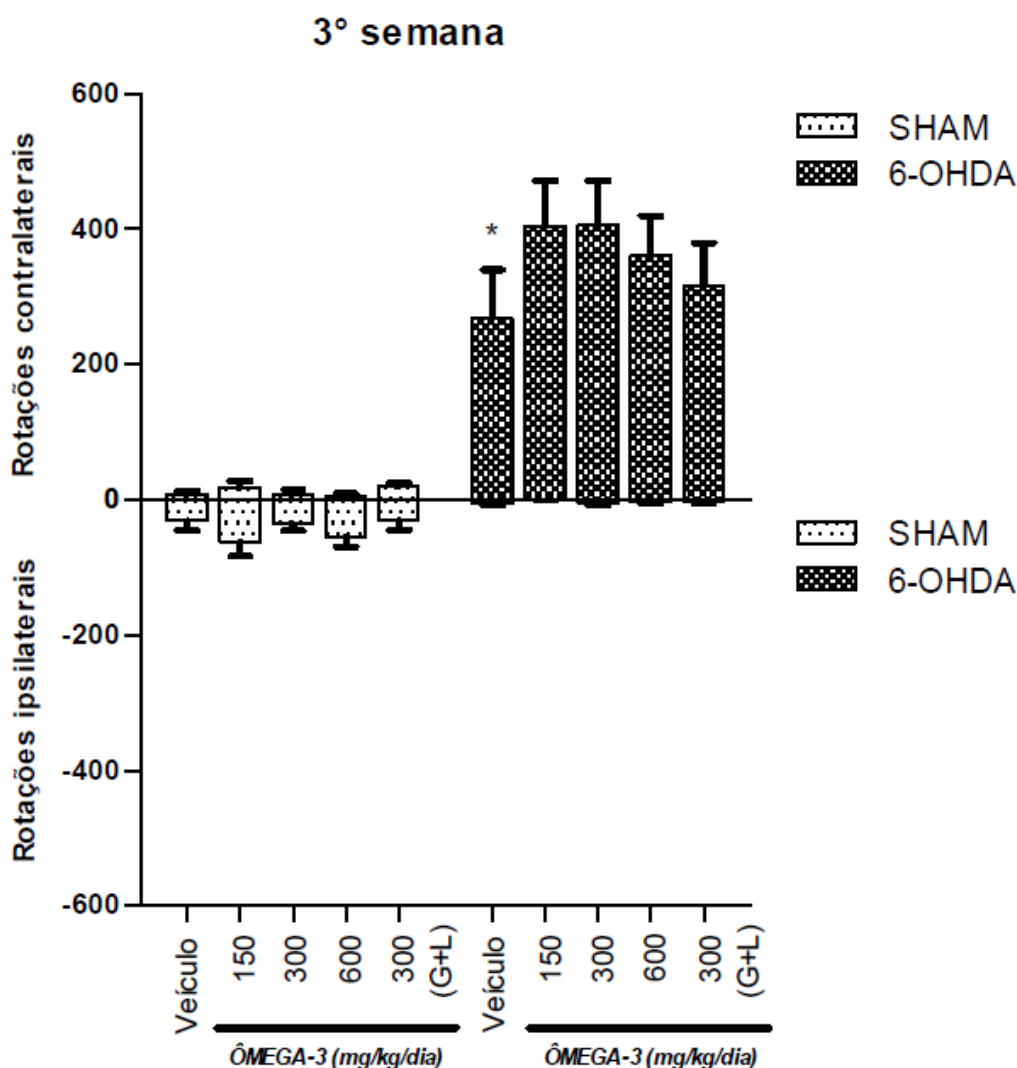


FIGURA 20: Número de rotações contralaterais e ipsilaterais no 21° dia após a cirurgia estereotáxica unilateral. O número de rotações foi obtido dos animais dos grupos SHAM e 6-OHDA veículo ou tratados com o ω -3 nas concentrações de 150, 300, 600, 300 mg/Kg/dia G+L ($n=10$ em todos os grupos). * $p < 0,05$ (comparando os grupos veículo/6-OHDA com o grupo veículo/SHAM). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni.

Enfim, os resultados obtidos a partir do teste do comportamento rotatório demonstram a partir da diferença entre os grupos veículo/SHAM e o grupo veículo 6-OHDA a efetividade da infusão da 6-OHDA na promoção do aumento do número de rotações contralaterais após o desafio com a apomorfina, entretanto pode-se observar que o tratamento com o ω -3 não foi capaz de reduzir o número de rotações contralaterais nos diferentes grupos ω -3/6-OHDA testados quando comparados ao grupo veículo/6-OHDA.

5.8 TESTE DE PREFERÊNCIA À SACAROSE (APÓS A CIRURGIA BILATERAL)

No 7º dia após a cirurgia bilateral iniciou-se o teste da preferência à sacarose. A partir dos resultados obtidos e apresentados na FIGURA 21 foi possível observar uma redução significativa no percentual de preferência à sacarose em decorrência da infusão da 6-OHDA, isto sendo demonstrado pela diferença entre os grupos veículo/6-OHDA comparando-se com o grupo veículo/SHAM ($p < 0,05$). Porém, o tratamento prévio com ω -3 nos grupos ω -3 150, 300, 600 e 300 G+L não demonstrou capacidade de prevenir a redução deste parâmetro após a análise da comparação dos grupos ω -3/SHAM com o grupo veículo/SHAM, tanto quando comparou-se os grupos ω -3/6-OHDA com o grupo veículo/6-OHDA.

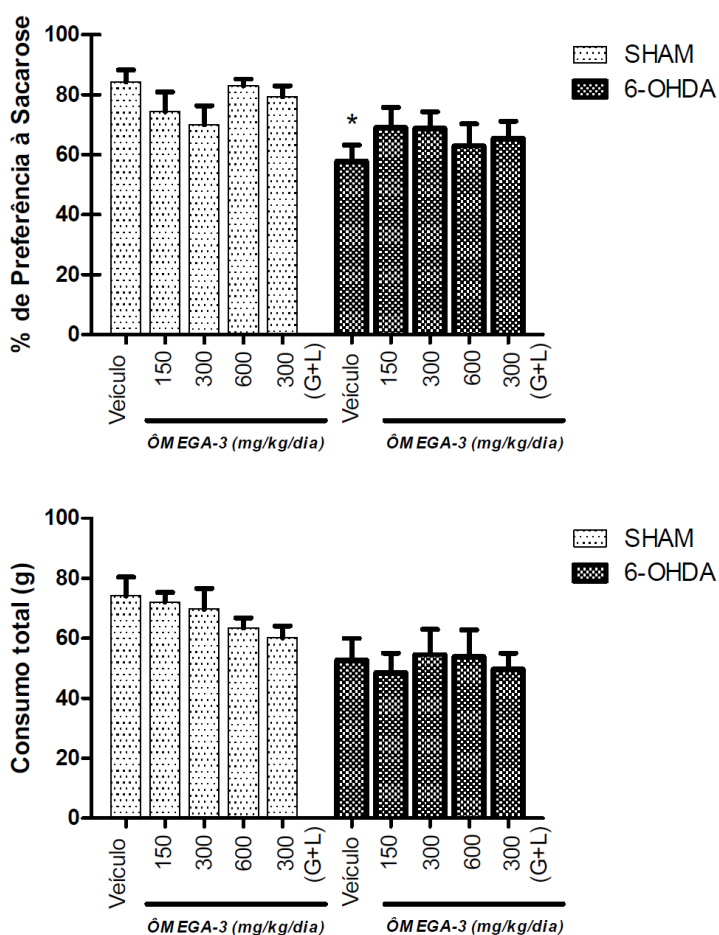


FIGURA 21: Percentual de preferência à sacarose e consumo total de líquidos 7 dias após a cirurgia bilateral. Os valores foram obtidos a partir dos animais dos grupos SHAM e 6-OHDA tratados ω -3 nas concentrações de 150 (n=10 e 10), 300 (n=10 e 10), 600 (n=10 e 10) e 300 G+L mg/Kg/dia (n=9 e 10) ou veículo (n=10 e 10). * $p < 0,05$ (comparando os grupos veículo/6-OHDA com o grupo veículo/SHAM). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni.

Em relação ao consumo total de líquidos durante o teste de preferência à sacarose, nenhuma diferença foi observada entre os grupos analisados.

5.9 TESTE DE RECONHECIMENTO SOCIAL (APÓS A CIRURGIA BILATERAL)

Foram analisados na FIGURA 22 os efeitos do tratamento com ω -3 nas concentrações de 150 e 600 mg/Kg/dia, após a infusão da 6-OHDA ou salina no teste de reconhecimento de objetos no 10º dia após a cirurgia bilateral.

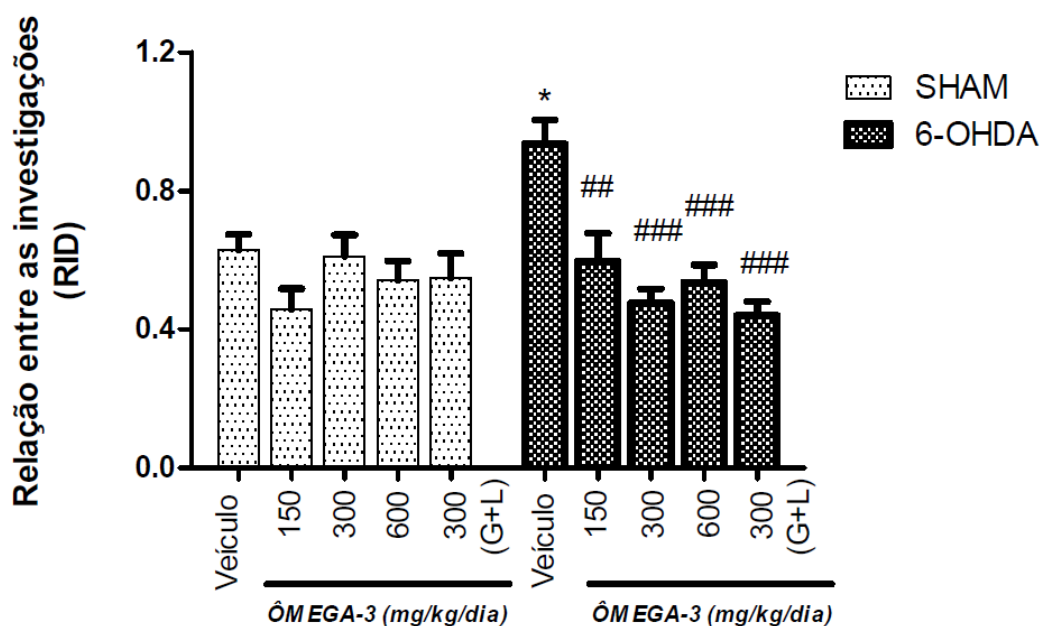


FIGURA 22: Razão entre a segunda e a primeira investigação ao rato jovem no teste de reconhecimento social após a cirurgia bilateral. Os valores foram obtidos a partir dos animais dos grupos SHAM e 6-OHDA tratados ω -3 nas concentrações de 150 (n=10 e 10), 300 (n=10 e 10), 600 (n=10 e 10) e 300 G+L mg/Kg/dia (n=9 e 10) ou veículo (n=10 e 10). * $p < 0,05$, comparando os grupos veículo/6-OHDA com o grupo veículo/SHAM, ## $p < 0,01$ e ### $p < 0,001$ comparado com grupo veículo/6-OHDA. Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na comparação dos grupos veículo/6-OHDA quando comparado com o grupo veículo/SHAM, demonstrando a capacidade da 6-OHDA em promover prejuízos relacionados à memória nestes animais, assim os animais do grupo veículo/6-OHDA apresentando um valor mais elevado da RID a partir das duas apresentações ao animal jovem. Em relação aos grupos ω -3 (150, 300, 600 e 300 G+L) foi evidenciado um efeito benéfico destes tratamentos em evitar a ocorrência de valores mais elevados no RID após a infusão intracerebral (bilateral) da

neurotoxina 6-OHDA, sendo que estes animais necessitaram de menos tempo para reconhecer o rato jovem ($p < 0,01$ e $p < 0,001$). Nenhuma diferença foi observada quando analisada a comparação dos grupos ω -3/SHAM como o grupo veículo/SHAM.

5.10 TESTE DO CAMPO ABERTO (APÓS A CIRURGIA BILATERAL)

Os valores obtidos quanto ao número de quadrados cruzados e o número de levantadas foram obtidos através da realização do teste do campo aberto no 11º dia após a realização da cirurgia bilateral.

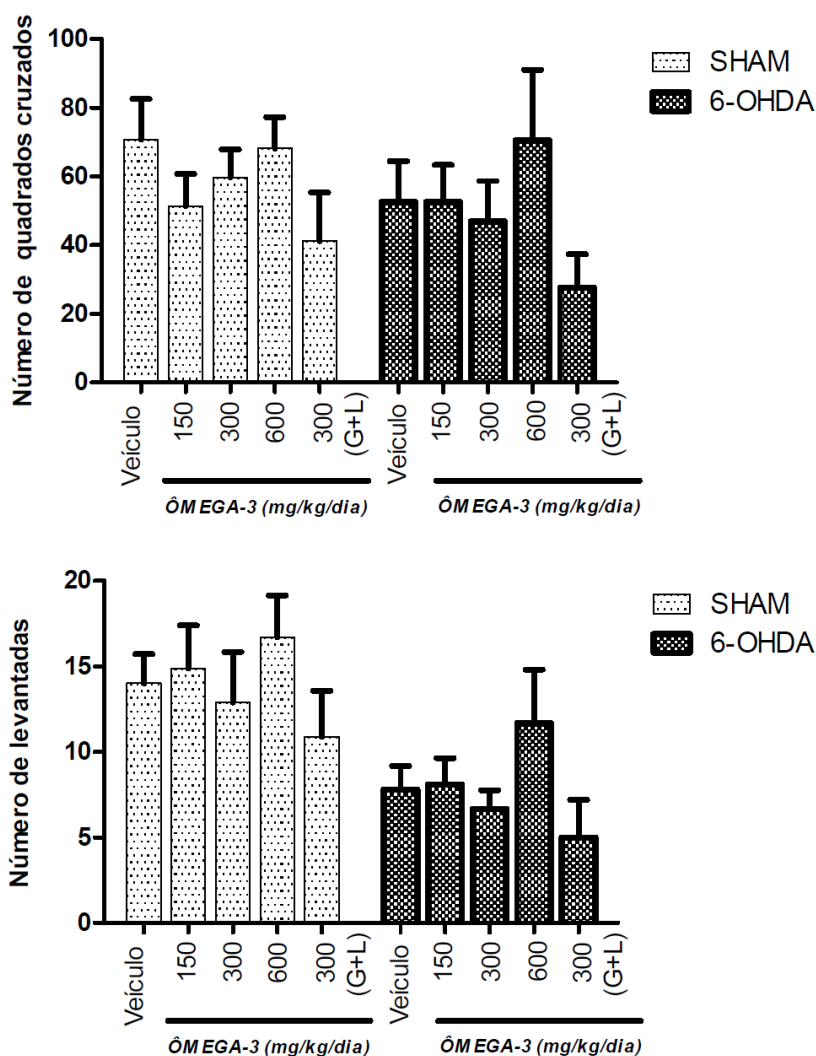


FIGURA 23: Número de quadrados percorridos e o número de levantadas durante a realização do teste do campo aberto. Os valores foram obtidos a partir dos animais dos grupos SHAM e 6-OHDA tratados ω -3 nas concentrações de 150 (n=10 e 10), 300 (n=10 e 10), 600 (n=10 e 10) e 300 G+L mg/Kg/dia (n=9 e 10) ou veículo (n=10 e 10). Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada.

Na FIGURA 23 é demonstrado que tanto o tratamento com o ω -3 quanto a infusão da 6-OHDA não resultaram em nenhuma alteração significativa sob o número de quadrados percorridos ($p>0,05$) tal como no número de levantadas ($p>0,05$).

A QUADRO 1 demonstra de maneira resumida os resultados obtidos a partir dos testes comportamentais no presente estudo.

Peso após o nascimento	O tratamento com o ω -3 nas concentrações de 150 e 300 mg/Kg/dia durante a gestação resultou em um maior peso dos filhotes após o nascimento.
Ganho de peso (no decorrer das 9 semanas avaliadas)	Os animais do grupo ω -3 300 apresentaram maior peso em relação ao grupo controle na 3 ^o , 5 ^o e 6 ^o semana. Já os grupos ω -3 600 (8 ^o semana) e 300 G+L (8 ^o e 9 ^o semana) apresentaram menor peso em relação ao grupo controle.
Preferência à sacarose	O tratamento com o ω -3 não apresentou alterações no percentual de preferência a sacarose e o consumo total de líquidos.
Reconhecimento social (2 meses)	O tratamento com ω -3 (600 mg/Kg/dia) resultou em melhores resultados quanto a memória e aprendizado, por apresentar menores valores da RID em comparação com o grupo controle.
Campo aberto (2 meses)	O tratamento com o ω -3 não apresentou alterações na atividade motora.
Reconhecimento de objetos (2 meses)	Os grupos tratados com o ω -3 (150, 300, 600 e 300 G+L mg/Kg/dia) apresentaram melhores valores do escore de discriminação, demonstrando um efeito positivo do ω -3 para com a memória e aprendizado.
Comportamento rotatório	O tratamento com o ω -3 não reduziu o número de rotações contralaterais após a infusão unilateral da 6-OHDA.
Preferência à sacarose	O tratamento com o ω -3 não foi capaz de reduzir o comportamento de anedonia após a infusão bilateral da 6-OHDA.
Reconhecimento social	O tratamento com o ω -3 (150, 300, 600 e 300 G+L mg/Kg/dia) foi capaz de reduzir o prejuízo cognitivo ocasionado pela infusão bilateral da 6-OHDA.
Campo aberto	Nenhuma diferença foi encontrada quanto ao número de quadrantes percorridos, nem quanto ao número de levantada.

QUADRO 1: Resumo dos resultados obtidos a partir dos testes comportamentais. FONTE: O AUTOR.

6 DISCUSSÃO

Dentre os resultados obtidos no presente estudo, foi demonstrada uma significativa relação entre o tratamento com o ω -3 durante o período gestacional e o peso dos animais após o nascimento. Esta relação entre o consumo de ω -3 durante o período gestacional e alterações no peso das respectivas proles é abordado em vários estudos clínicos e *in vivo*, entretanto não há um consenso na literatura sobre os reais efeitos do ω -3 para com o peso após o nascimento.

Em relação a isto, alguns estudos apontam a inexistência de qualquer relação entre o tratamento com o ω -3 durante o período gestacional e o peso após o nascimento (SZAJEWSKA *et al.*, 2006; CHURCH *et al.*, 2008; JEN *et al.*, 2009). Entretanto, os resultados obtidos no presente trabalho se contrapõem a esta concepção, demonstrando que o tratamento com o ω -3 (doses de 150 e 300 mg/Kg/dia) resultou em valores referentes ao peso significativamente elevados em comparação com grupo controle, em concordância com dados previamente apresentados (CARLSON, *et al.*, 2013). Estudos clínicos relacionam esta capacidade do ω -3 em proporcionar um maior ganho de peso durante o período de desenvolvimento intrauterino com outros possíveis efeitos positivos do ω -3, como a capacidade de promover uma maior duração (dias) da gestação, a possível prevenção do nascimento prematuro e do surgimento de complicações durante a gestação (KNUDSEN *et al.*, 2006; FERREDOONI; JENABI, 2014).

Como demonstrado previamente, o tratamento com o ω -3 pode influenciar o ganho de peso em diferentes etapas do desenvolvimento e da idade adulta (JEN *et al.*, 2009). Em nosso trabalho, observamos efeitos opostos do ω -3 para com o ganho de peso dos animais nas várias semanas analisadas. Ao final das 9 semanas de avaliação, os animais cujas mães foram tratadas com doses mais elevadas de ω -3 (grupo ω -3 600) ou que foram tratadas com o ω -3 por um maior período de tempo (grupo ω -3 300 G+L) apresentaram menores valores de peso ao final da 9ª semana de vida.

O fato que somente estes grupos apresentaram menores valores de peso pode se relacionar com uma possível necessidade de elevadas doses de ω -3 e um maior período de tratamento para que estes efeitos sejam evidenciados, tal

como demonstrado por Jen e colaboradores (2009), que descrevem que o tratamento com o ω -3 durante o período gestacional + lactação pode resultar em efeitos a longo prazo, influenciando o peso corporal desde a infância até a idade adulta. Esta redução no ganho de peso foi evidenciada em comparação ao grupo controle no decorrer de 23-25 semanas. A partir disto, podemos propor que estes resultados são devido a capacidade do tratamento com o ω -3 em promover alterações na programação fetal e regulações epigenéticas nestes filhotes (MENNITTI *et al.*, 2015), fato que poderia explicar os efeitos a longo prazo quanto as alterações de peso.

Porém, outras hipóteses podem explicar o efeito do tratamento com o ω -3 no ganho de peso, como: promoção de alterações na composição corporal, capacidade de diminuir a quantidade e o tamanho de adipócitos e modulação da expressão gênica e dos níveis circulantes de leptina, adiponectina e adipocina (PÉREZ-MATUTE *et al.*, 2007; PÉREZ-ECHARRI *et al.*, 2009; CALDER, 2012; WHITE *et al.*, 2015).

Os PUFAs da família ω -3 estão entre os AGs mais abundantes no cérebro, sendo extensa a quantidade de estudos que demonstram a sua importância para com a função neural (HASHIMOTO *et al.*, 2013). A relação entre o tratamento com ω -3 e distúrbios afetivos está bem estabelecida, havendo crescentes considerações do papel destes AGs em desordens psiquiátricas (FERRAZ *et al.*, 2008). Buscamos verificar no presente estudo se o tratamento pré-natal com o ω -3 *per se* teria algum efeito sob o teste de preferência à sacarose nestas proles, porém este não apresentou efeito antidepressivo *per se* quando realizado o teste aos 2 meses.

Entretanto, o efeito antidepressivo a partir do tratamento com o ω -3 durante as fases iniciais do desenvolvimento foi anteriormente demonstrado por Ferraz *et al.* (2008), onde o tratamento durante os períodos iniciais do desenvolvimento resultou em uma redução do tempo de imobilidade no teste de natação forçada, este efeito antidepressivo sendo observado de maneira semelhante em animais que foram tratados este com ω -3 a partir do 21º dia de nascimento até a realização do teste (90º dia), mostrando assim a longa duração dos efeitos positivos deste tratamento nas fases iniciais. A ausência de um efeito antidepressivo do ω -3 no presente estudo pode estar relacionada a metodologia adotada para esta análise, onde a utilização do teste de preferência à sacarose

pode não ter sido o mais sensível para a análise deste efeito antidepressivo do ω -3. Devido aos efeitos a longo prazo do tratamento com o ω -3, benefícios durante os períodos de maturação cortical, sinaptogênese e mielinização poderiam prevenir o surgimento de psicopatologias durante a idade adulta (FERRAZ *et al.*, 2008; GUESNET; ALESSANDRI, 2011).

Sendo o teste do campo aberto uma ferramenta válida para análise da atividade motora (COLUCCIA *et al.*, 2009), os resultados do presente estudo demonstraram a ausência de alterações na atividade motora a partir do tratamento com ω -3 no teste do campo aberto aos 2 meses de idade, estando em concordância com estudos prévios (FERRAZ *et al.*, 2008; COLUCCIA *et al.*, 2009). Entretanto, Colluccia *et al.*, (2009) descreve que o tratamento com o ω -3 não influenciou nos resultados da atividade motora no teste do campo aberto, porém estes autores observaram benefícios relacionados a coordenação motora, propondo que o tratamento com o ω -3 poderia apresentar efeitos benéficos no desenvolvimento do cerebelo, influenciando a organização dos circuitos cerebelares relacionados com a percepção motora, isto sem alterar a atividade motora. Com estes efeitos perdurando até a idade adulta destes animais.

Quanto aos testes realizados com o objetivo de avaliar o possível efeito nootrópico do ω -3, foi observado no presente estudo que o tratamento com o ω -3 levou a um melhor desenvolvimento cognitivo quanto a memória e aprendizado, isto sendo demonstrado aos 2 meses nos testes de reconhecimento social (grupo ω -3 600) e no teste de reconhecimento de objetos (todos os grupos ω -3 analisados) em comparação com o grupo controle.

À vista disso, diversos estudos tem demonstrado o efeito benéfico do ω -3 em relação a memória e aprendizado (PAN *et al.*, 2011; VISHALDEEP K. SIDHU, BILL X. HUANG, 2011; FERRAZ *et al.*, 2011; STAZIAKI *et al.*, 2013).

Ferraz *et al.*, (2011) descreveram que a suplementação com óleo de peixe a partir das fases iniciais do desenvolvimento preveniu a ocorrência de déficits de memória e aprendizado (no teste do labirinto aquático de Morris) em animais submetidos a um modelo animal de estresse.

É também descrito que o tratamento PUFA ω -3 durante os períodos iniciais do desenvolvimento pode levar a significativo aumento nas concentrações de DHA no hipocampo, córtex cerebral e no estriado (CAO *et al.*,

2009), este aumento das concentrações DHA sendo acompanhado por um aumento nos níveis do BDNF (VINES *et al.*, 2012). Assim, o fato destas regiões serem diretamente relacionadas com os processos cognitivos de memória e aprendizado (CAO *et al.*, 2009; YETIMLER *et al.*, 2012), o aumento das concentrações de DHA nas membranas neuronais, acompanhado de um aumento nos níveis do BDNF poderia ser um dos mecanismos pelos quais o tratamento com o ω -3 promoveu estes benefícios à memória e aprendizado no presente estudo, porém análises complementares fazem-se necessárias.

Além disso Cao *et al.*, (2009) avaliando os efeitos de um protocolo de tratamento com o DHA e de um tratamento deficiente em DHA durante a gestação observou que a depleção nos níveis de DHA levou a uma redução na expressão dos receptores glutamatérgicos NMDA (N-Metil D-Aspartato) e AMPA (ácido alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazol propiônico) no hipocampo e redução da expressão da sinapsina nas regiões hipocampais CA1, CA2, CA3 e no giro denteado resultando em prejuízos significativos a LTP nestes animais no 18º dia após o nascimento. Entretanto, o tratamento com o DHA neste estudo resultou na promoção da sinaptogênese, crescimento neuronal, aumento na expressão de proteínas sinápticas, receptores glutamatérgicos e da sinapsina. Assim sendo o PUFA mais abundante no hipocampo, o DHA pode estimular o aumento do número de sinapses e/ou aumento da liberação de neurotransmissores otimizando a transmissão glutamatérgica e a plasticidade sináptica na região CA1, influenciando assim na modulação de processos de memória e aprendizado (CAO *et al.*, 2009).

O tratamento com o ω -3 pode levar a benefícios a memória e ao aprendizado por influência a outros mecanismos além da neurogênese, sinaptogênese e maturação cortical, tal como descreve Georgieff, *et al.* (2007) onde fatores nutricionais podem levar a alterações a longo prazo não somente das características neuroanatômicas moduladas durante os períodos de desenvolvimento, mas podendo influenciar diretamente em características neuroquímicas e neurofisiológicas.

Desta forma, é demonstrado que o tratamento com o ω -3 durante os períodos iniciais do desenvolvimento pode influenciar nos níveis corticais de dopamina e da expressão do seu receptor D2, podendo influenciar também os níveis de noradrenalina, glutamato e serotonina, além de promover um aumento

na expressão gênica de genes com funções chave no controle da plasticidade sináptica, metabolismo energético, e na formação de canais iônicos (CHALON *et al.*, 1998; HORROCKS; FAROOQUI, 2004; CAO *et al.*, 2009; SIDHU *et al.*, 2011; VINES *et al.*, 2012).

A capacidade modulatória do DHA na expressão gênica é relatada por Sidhu *et al.*, (2011) que sugere que o ω -3 exerce seu efeito modulador em grande parte através do fator de transcrição CREB1, este sendo importante para a integridade e transmissão sináptica. Além disso, a expressão gênica mediada pelo CREB1 desempenha uma importante função na modulação dos processos de memória e aprendizado, estando envolvida na regulação da potencialização de longa duração (LTP), a qual é o processo neurofisiológico fundamental para a memória e aprendizado. Por fim o autor descreve ainda o papel modulador da expressão gênica do DHA via CREB1 sob a expressão de sinaptotagmina, do receptor NMDA e AMPA, da syntaxina 1A, sinapsina I, entre outros. Assim, como proposto pelo autor, o papel modulatório do DHA na expressão de proteínas envolvidas nos processos de tráfego e reciclagem de vesículas, bem como na transmissão e plasticidade sináptica, metabolismo energético, e na formação de canais iônicos, provém a base para a representação do impacto da nutrição com o ω -3 sob as funções cognitivas de memória e aprendizado.

Além disso, é proposto que o DHA seja um dos maiores constituintes das membranas da retina (TANITO *et al.*, 2009; ZHU *et al.*, 2010), sendo também descritos benefícios do tratamento com o ω -3 para com o desenvolvimento visual (AGOSTONI, 2010; CAMPOY *et al.*, 2012), assim podemos propor que os efeitos positivos obtidos no teste do reconhecimento de objetos podem ser em decorrência de uma associação dos benefícios promovidos às regiões cerebrais moduladoras dos processos de memória e aprendizado juntamente com possíveis benefícios para com o desenvolvimento visual destes animais.

A partir destes relatos podemos hipotetizar que os efeitos benéficos do tratamento pré-natal com o ω -3 sobre a memória e aprendizado observados neste estudo podem ser decorrentes de alterações neuroanatômicas, neuroquímicas e neurofuncionais.

Com relação aos efeitos do ω -3 em modelos animais da DP, Delattre *et al.*, (2010) demonstraram em seu trabalho que o tratamento com ω -3 resultou em efeitos positivos frente a lesão unilateral promovida pela neurotoxina 6-OHDA,

isto sendo representado pela redução no número de rotações contralaterais no teste do comportamento rotatório. Efeito este que não foi obtido no presente estudo. De maneira contrária ao que apresentou Delattre *et al.*, (2010), o tratamento com o ω -3 nos diferentes grupos analisados no presente estudo não foi capaz de reduzir o número de rotações contralaterais após o desafio com a apomorfina nas três semanas analisadas em nosso estudo. Há entretanto a possibilidade de um tratamento mais prolongado, tal como o utilizado por estes autores (a partir do 21° de nascimento até o 90° dia) possa apresentar efeitos positivos em relação a lesão unilateral com a 6-OHDA.

O teste do comportamento rotatório induzido pela apomorfina é descrito como um modelo de reprodução de certas características da DP *in vivo*, onde a lesão unilateral provocada pela infusão da 6-OHDA na via nigroestriatal levaria estes animais a apresentarem um comportamento rotatório quando expostos a drogas dopaminérgicas (CUNHA, DA *et al.*, 2008). Neste teste, a observação de um grande número de rotações contralaterais pode representar um indicativo da alta efetividade da lesão com a 6-OHDA. Assim, quanto maior o número de rotações, maior seria a intensidade da lesão, caracterizando um modelo animal representativo a estágios avançados da DP (BETARBET *et al.*, 2002). Foi observado o aumento significativo do número de rotações contralaterais nos grupos 6-OHDA em comparação com os grupos SHAM, assim este aumento sendo um indicativo da efetividade da lesão dos neurônios dopaminérgicos na via nigroestriatal após a infusão da 6-OHDA, porém quando realizada a comparação entre o grupo veículo/6-OHDA com os grupos ω -3/6-OHDA (ω 150, 300, 600, 300 G+L) não foi observada a existência de alguma diferença estatisticamente significativa, indicando assim que o tratamento com o ω -3 não foi capaz de reduzir estes efeitos deletérios ocasionados pela infusão da 6-OHDA.

Apesar de estudos prévios demonstrarem potentes efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do ω -3 (BOUSQUET, *et al.* 2011), estes não foram capazes de influenciar o número de rotações contralaterais causados pela lesão unilateral com a 6-OHDA. Porém, em um modelo da DP utilizando MPTP, a administração de EPA apresentou efeitos anti-inflamatórios significativos por atenuar os níveis de TNF- α , IFN- γ (Interferon gamma) e mRNA da COX-2. Porém o tratamento não foi efetivo na manutenção dos níveis de DA (LUCHTMAN *et*

al., 2012). Além disso, Lee *et al.* (2015) demonstraram a capacidade do DHA em proteger os neurônios dopaminérgicos contra a toxicidade induzida com o paraquat, principalmente devido ao seu efeito antioxidante.

Desta forma, Delattre *et al.* (2010) descrevem que o tratamento com o ω -3 no modelo animal da DP utilizando 6-OHDA parece estar principalmente relacionado com o reestabelecimento da função dos neurônios dopaminérgicos sobreviventes, orientando adaptação da atividade destes, resultando em aumento do *turnover* da DA no estriado (HVA/DA aumentou 275%, DOPAC/DA, aumentou 337%), mas sem apresentar um efeito protetor para com a morte destes neurônios nem sob a redução nos níveis de DA, do ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) e do ácido homovanílico (HVA). Assim, apesar dos resultados do presente estudo não demonstrarem uma neuroproteção quanto ao aumento do número de rotações contralaterais, existe a possibilidade deste tratamento ter influenciado parâmetros neuroquímicos nos neurônios remanescentes, os quais necessitam ser confirmados com posteriores análises.

Em relação aos resultados obtidos no teste da preferência à sacarose após a cirurgia bilateral, estes não apresentaram diferença significativa em relação ao pré-tratamento com o ω -3 (grupos ω -3/SHAM X veículo/SHAM) reforçando a ausência de um efeito antidepressivo per se do ω -3. Porém, foi encontrada diferença significativa entre o grupo veículo/6-OHDA quando comparado com o grupo veículo/SHAM. Esta diferença representa a capacidade da infusão bilateral da 6-OHDA em induzir um comportamento tipo depressivo, estando este resultado em concordância com resultados previamente descrito por Santiago *et al.*, (2014), os quais descrevem que a indução de um comportamento tipo depressivo pela 6-OHDA, este comportamento estando associado com déficits nos níveis de DA e 5-HT no hipocampo, estando assim estes níveis de 5-HT e DA correlacionados com o percentual de preferência à sacarose, representando concordância com a hipótese que a deficiência de neurotransmissores leva a depressão na DP.

Os valores referentes ao consumo total de líquidos não apresentaram diferenças significativas, isto segundo Skalisz *et al.* (2002) indica que a alteração (redução) no percentual de preferência à sacarose encontrado no grupo veículo/6-OHDA foi devido ao quadro de anedonia e não por alguma alteração

motora, a qual poderia ter dificultado o acesso destes animais a solução de sacarose.

A realização do teste do campo aberto não apresentou diferenças no número de quadrados percorridos e no número de levantadas tanto nos grupos SHAM quanto nos grupos 6-OHDA. Com isso descartou-se a possibilidade de que algum prejuízo motor possa ter interferido nos resultados obtidos nos demais testes.

É descrito que as vias dopaminérgicas inervam áreas cerebrais que são reguladoras dos processos de memória e aprendizado como o hipocampo, córtex e estriado (SEAMANS *et al.*, 1998). Estudos prévios já apontavam ocorrência de déficits cognitivos em modelos animais da DP (MIYOSHI *et al.*, 2002; FERRO, *et al.* 2005). Em relação aos valores da RID foi observado diferença entre o grupo veículo/6-OHDA em comparação com o grupo veículo/SHAM, evidenciando que a lesão com a 6-OHDA nos neurônios da via nigroestriatal foi capaz de promover prejuízos a memória olfatória de curta duração semelhante a estudos anteriores (BONITO-OLIVA *et al.*, 2014). Estes demonstram que a lesão com a 6-OHDA é acompanhada por um déficit olfatório, assim influenciado diretamente os resultados obtidos em testes de reconhecimento social (BONITO-OLIVA *et al.*, 2014). Porém os grupos cujas mães foram tratadas com o ω -3 (150, 300, 600, 300 G+L) demonstraram a capacidade de reduzir este prejuízo de memória provocado pela 6-OHDA.

Bousquet *et al.*, (2011) descrevem a existência de uma prevalência elevada dos transtornos cognitivos em pacientes com DP, os quais poderiam ter a função cognitiva melhorada através do tratamento com o ω -3, principalmente nos estágios iniciais da DP.

Foi também observado que o tratamento com EPA em um modelo da DP utilizando o MPTP demonstrou efeitos positivos sob os prejuízos na memória procedural e sob a hipocinesia, prevenindo o aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IFN- γ) no estriado, entretanto, não foi observada prevenção na perda dos neurônios da via nigroestriatal (LUCHTMAN *et al.*, 2012).

Bousquet *et al.*, (2008) descreveram que o tratamento com o ω -3 em um modelo animal utilizando o MPTP resultou em proteção nos níveis do mRNA do transportador de DA (DAT), tal como dos neurônios TH-positivos, assim havendo

proteção contra a redução da produção, estoque e/ou liberação da DA promovida pelo MPTP. Propõe-se que a ação do ω -3 pode ser diferente dependendo da fase da DP, onde o ω -3 auxiliaria na manutenção da quantidade dos neurônios dopaminérgicos na SN e os níveis de DA no estriado em fases iniciais da DP (BOUSQUET *et al.*, 2008; DELLATRE *et al.*, 2010). Delattre *et al.*, (2010) descrevem que os mecanismos de ação do ω -3 ainda não estão totalmente conhecidos, mas o fato deste ter reduzido a peroxidação lipídica causada pela 6-OHDA poderia ser um fator contribuinte para a redução e/ou desaceleração do processo neurodegenerativo nos neurônios dopaminérgicos em estágios iniciais da DP.

A partir dos resultados obtidos com o tratamento com o ω -3 (acima descritos) podemos propor que o tratamento durante o período gestacional com o ω -3 (150, 300, 600 e 300 G+L mg/Kg/dia) não foi capaz de proteger os neurônios dopaminérgicos em um modelo animal representativo à estágios avançados da DP, representado por este modelo de uso da 6-OHDA (FERRO *et al.*, 2005). Assim, a infusão de uma maior quantidade de 6-OHDA na cirurgia unilateral (em comparação a cirurgia bilateral) e sequente lesão neuronal, pode ter possivelmente se sobreposto aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios do ω -3, assim não havendo uma redução do número de rotações contralaterais no teste do comportamento rotatório. Entretanto, os resultados obtidos no teste de reconhecimento social demonstram efeitos positivos do tratamento materno com o ω -3 na redução de alterações na memória de curta duração a partir da infusão bilateral da 6-OHDA, estas alterações representativas de estágios iniciais da DP (HANAGASI *et al.*, 2011). Desta forma, hipotetizamos que o tratamento com o ω -3 durante os períodos iniciais do desenvolvimento pode ter um efeito benéfico em modelos animais da DP representativos a fases iniciais da DP, entretanto, este tratamento não influenciando em modelos representativos de fases mais avançadas da DP. Além disso, a administração pré-natal de ω -3 poderia resultar em uma elevação nos níveis de DHA nos fosfolipídios de membrana de regiões cerebrais como o estriado, córtex pré-frontal e o hipocampo. Subsequentemente, haveria a modulação dos níveis de BDNF e dos processos de neurogênese e sinaptogênese durante as fases iniciais do neurodesenvolvimento. Isto, somado a capacidade destes efeitos positivos se manterem até à idade adulta, poderiam resultar neste possível efeito neuroprotetor observado.

Esperamos obter uma melhor compreensão destes efeitos a partir das análises neuroquímicas e histológicas a serem realizadas.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo pudemos, observar que o tratamento com o com o ω -3 nos períodos iniciais do neurodesenvolvimento promoveu um efeito nootrópico nestas respectivas proles, tal como um possível efeito neuroprotetor quanto a alterações de aprendizado e memória em um modelo animal DP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTONI, C. Docosahexaenoic acid (DHA): From the maternal – foetal dyad to the complementary feeding period. **Early Human Development**, v. 86, n. 1, p. 3–6, 2010.

AL-GUBORY, K. H. Mitochondria: Omega-3 in the route of mitochondrial reactive oxygen species. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 44, n. 9, p. 1569–1573, 2012.

ANDERSEN, S. L. Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1-2, p. 3–18, 2003.

ARBABI, L.; BAHARULDIN, M. T. H.; MOKLAS, M. A. M.; FAKURAZI, S.; MUHAMMAD, S. I. Antidepressant-like effects of omega-3 fatty acids in postpartum model of depression in rats. **Behavioural Brain Research**, p. 1–7, 2014. Elsevier B.V.

AARSLAND, D.; PAHLHAGEN, S.; BALLARD, C. G.; et al. Depression in Parkinson disease--epidemiology, mechanisms and management. **Nat. Rev. Neurol.** v. 8, pag. 35-47, 2012.

BARLOW, B.; CORYSLECHTA, D.; RICHFIELD, E.; THIRUCHELVAM, M. The gestational environment and Parkinson's disease: Evidence for neurodevelopmental origins of a neurodegenerative disorder. **Reproductive Toxicology**, v. 23, n. 3, p. 457–470, 2007.

BERNARDI, J. R.; ESCOBAR, R. D. S.; FERREIRA, C. F.; SILVEIRA, P. P. Fetal and Neonatal Levels of Omega-3: Effects on Neurodevelopment, Nutrition, and Growth. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–8, 2012.

BETARBET, R.; SHERER, T. B.; GREENAMYRE, J. T. Animal models of Parkinson's disease. **BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology**, v. 24, n. 4, p. 308–18, 2002.

BHATIA, H. S.; AGRAWAL, R.; SHARMA, S.; et al. Omega-3 fatty acid deficiency during brain maturation reduces neuronal and behavioral plasticity in adulthood. **PloS one**, v. 6, n. 12, p. e28451, 2011.

BLANDINI, F.; ARMENTERO, M. -T. Animal models of Parkinson's disease. **FEBS Journal**, v. 279, n. 7, p. 1156–1166, 2012.

BONITO-OLIVA, A.; MASINI, D.; FISONE, G. A mouse model of non-motor symptoms in Parkinson's disease: focus on pharmacological interventions targeting affective dysfunctions. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 8, p. 1–12, 2014.

BORSONELO, E. C.; GALDURÓZ, J. C. F. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: Review and propositions. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 78, n. 4-5, p. 237–245, 2008.

BOUSQUET, M.; CALON, F.; CICHETTI, F. Impact of omega-3 fatty acids in Parkinson's disease. **Ageing Research Reviews**, v. 10, n. 4, p. 453–463, 2011

BOUSQUET, M.; JULIEN, C.; SALEM, N.; et al. Beneficial effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid on toxin-induced neuronal degeneration in an animal model of Parkinson's disease. **The FASEB journal**, v. 22, n. 4, p. 1213–1225, 2008.

BROOKS, D. J. Technology Insight: imaging neurodegeneration in Parkinson's disease. **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 4, n. 5, p. 267–277, 2008.

BURDGE, G. C. Metabolism of alpha-linolenic acid in humans. **Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids**, v. 75, n. 3, p. 161–8, 2006.

CALABRESI, P.; PICCONI, B.; TOZZI, A.; GHIGLIERI, V.; FILIPPO, M. DI. Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal. **Nature Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 1022–1030, 2014. N

CALDER, P. C. Fatty acids and immune function: relevance to inflammatory bowel diseases. **International reviews of immunology**, v. 28, n. 6, p. 506–534, 2009.

CALDER, P. C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. **Nutrients**, v. 2, n. 3, p. 355–374, 2010.

CALDER, P. C. Fatty acids and inflammation: The cutting edge between food and pharma. **European Journal of Pharmacology**, v. 668, p. S50–S58, 2011.

CALDER, P. C.; ALBERS, R.; ANTOINE, J.-M.; et al. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. **The British journal of nutrition**, v. 101 Suppl , p. S1–S45, 2009.

CALDER, P. C. P. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. **The Journal of nutrition**, v. 142, n. 3, p. 592S–599S, 2012.

CAMPBELL, F. M.; GORDON, M. J.; DUTTA-ROY, A K. Preferential uptake of long chain polyunsaturated fatty acids by isolated human placental membranes. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 155, n. 1, p. 77–83, 1996.

CAMPOY, C.; ESCOLANO-MARGARIT, M. V.; ANJOS, T.; et al. Omega 3 fatty acids on child growth, visual acuity and neurodevelopment. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. S2, p. S85–S106, 2012.

CAO, D.; KEVALA, K.; KIM, J.; JUN, S. B. LOVINGER, D.; KIM, H. Y. Docosahexaenoic acid promotes hippocampal neuronal development and synaptic function. **J Neurochem**, v. 111, n. 2, p. 510–521, 2009.

CARLSON, S. J.; FALLON, E. M.; KALISH, B. T.; GURA, K. M.; PUDER, M. The Role of the ω -3 Fatty Acid DHA in the Human Life Cycle. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 15–22, 2013.

CARLSON, S. E.; COLOMBO, J.; GAJEWSKI, B. J.; et al. DHA supplementation and pregnancy outcomes. **Am J Clin Nutr**, v. 97, pag. 808-15, 2013.

CHALON, S.; DELION-VANCASSEL, S.; BELZUNG, C.; et al. Dietary fish oil affects monoaminergic neurotransmission and behavior in rats. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2512–2519, 1998.

CHEN, S.; LE, W. Neuroprotective therapy in Parkinson disease. **American journal of therapeutics**, v. 13, n. 5, p. 445–57, 2006.

CHURCH, M. W.; JEN, K. L. C.; DOWHAN, L. M.; ADAMS, B. R.; HOTRA, J. W. Excess and deficient omega-3 fatty acid during pregnancy and lactation cause impaired neural transmission in rat pups. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 30, n. 2, p. 107–117, 2008.

CICCHETTI, F.; DROUIN-OUELLET, J.; GROSS, R. E. Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 30, n. 9, p. 475–483, 2009.

COLLINS, L. M.; TOULOUSE, A.; CONNOR, T. J.; NOLAN, Y. M. Contributions of central and systemic inflammation to the pathophysiology of Parkinson's disease. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 7, p. 2153–2167, 2012.

COLUCCIA, A.; BORRACCI, P.; RENNA, G.; et al. Developmental omega-3 supplementation improves motor skills in juvenile-adult rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 27, n. 6, p. 599–605, 2009.

BERTRAND, P. C.; O'KUSKY, J. R.; INNIS, S. M. Maternal dietary (n-3) fatty acid deficiency alters neurogenesis in the embryonic rat brain. **The Journal of nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1570–1575, 2006.

CRAFT, T. K. S.; DEVRIES, A. C. Role of IL-1 in poststroke depressive-like behavior in mice. **Biological Psychiatry**, v. 60, n. 8, p. 812–8, 2006.

CUNHA, C.; BRAMBILLA, R.; THOMAS, K. L. A simple role for BDNF in learning and memory? **Frontiers in molecular neuroscience**, v. 3, p. 1, 2010.

CUNHA, C. DA; WIETZIKOSKI, E. C.; FERRO, M. M.; et al. Hemiparkinsonian rats rotate toward the side with the weaker dopaminergic neurotransmission. **Behavioural brain research**, v. 189, n. 2, p. 364–72, 2008.

CUNNINGHAM, P.; MCDERMOTT, L. Long chain PUFA transport in human term placenta. **The Journal of nutrition**, v. 139, n. 4, p. 636–639, 2009.

DANTZER, R.; BLUTHE, R.; KOOB, G. F.; MOAL, M. LE. Psychopharmacology Modulation of social memory in male rats by neurohypophyseal peptides. **Psychopharmacology**, p. 363–368, 1987.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's Disease. **Neuron**, v. 39, n. 6, p. 889–909, 2003.

DEBEIR, T.; GINESTET, L.; FRANÇOIS, C.; et al. Effect of intrastriatal 6-OHDA lesion on dopaminergic innervation of the rat cortex and globus pallidus. **Experimental Neurology**, v. 193, n. 2, p. 444–454, 2005.

DELATTRE, A. M.; CARABELLI, B.; MORI, M. A.; et al. Multiple Intranigral Unilateral LPS Infusion Protocol Generates a Persistent Cognitive Impairment without Cumulative Dopaminergic Impairment. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 12, n. 7, p. 1002–1010, 2013.

DELATTRE, A. M.; SZAWKA, R. E.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; et al. Evaluation of chronic omega-3 fatty acids supplementation on behavioral and neurochemical alterations in 6-hydroxydopamine-lesion model of Parkinson's disease. **Neuroscience research**, v. 66, n. 3, p. 256–64, 2010.

DENIS, I.; POTIER, B.; HEBERDEN, C.; VANCASSEL, S. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and brain aging. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 18, n. 2, p. 139–146, 2015.

DINICOLANTONIO, J. J.; NIAZI, A. K.; MCCARTY, M. F.; et al. Omega-3s and Cardiovascular Health. **The Ochner Journal**, v. 14, n. 3, p. 399–412, 2014.

DISSANAYAKA, N. N. W.; SELLBACH, A.; MATHESON, S.; et al. Anxiety disorders in Parkinson's disease: prevalence and risk factors. **Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society**, v. 25, n. 7, p. 838–45, 2010.

BLUM, D., et al. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, vol. 65, p. 135-172, 2001.

DOORN, K. J.; LUCASSEN, P. J.; BODDEKE, H. W.; et al. Emerging roles of microglial activation and non-motor symptoms in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 98, n. 2, p. 222–238, 2012.

DUTTARROY, A. K. Transport of fatty acids across the human placenta: A review. **Progress in Lipid Research**, v. 48, n. 1, p. 52–61, 2009.

ECKERT, G. P.; LIPKA, U.; MULLER, W. E. Omega-3 fatty acids in neurodegenerative diseases: Focus on mitochondria. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 88, n. 1, p. 105–114, 2013.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. **Behavioural Brain Research**, v. 51, n. 1, p. 83–92, 1988.

FENG, Z.; ZOU, X.; JIA, H.; et al. Maternal Docosahexaenoic Acid Feeding Protects Against Impairment of Learning and Memory and Oxidative Stress in Prenatally Stressed Rats: Possible Role of Neuronal Mitochondria Metabolism. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 16, n. 3, p. 275–289, 2012.

FEREIDOONI, B.; JENABI, E. The use of Omega 3 on pregnancy outcomes : A single-center study. **J Pak Med Assoc**, p. 1363–1366, 2014.

FERRARI, C. C.; TARELLI, R. Parkinson's disease and systemic inflammation. **Parkinson's disease**, v. 2011, p. 436813, 2011.

FERRAZ, A. C.; DELATTRE, A. M.; ALMENDRA, R. G.; et al. Chronic ??-3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol. **Behavioural Brain Research**, v. 219, n. 1, p. 116–122, 2011.

FERRAZ, A. C.; KISS, A.; ARAÚJO, R. L. F.; et al. The antidepressant role of dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in two phases in the developing

brain. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 78, n. 3, p. 183–188, 2008.

FERRER, I.; MARTINEZ, A.; BLANCO, R.; DALFÓ, E.; CARMONA, M. Neuropathology of sporadic Parkinson disease before the appearance of parkinsonism: Preclinical Parkinson disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 118, n. 5, p. 821–839, 2011.

FERRO, M. M.; INES, M.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; et al. Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's disease: Histological, neurochemical, motor and memory alterations. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 148, n. 1, p. 78–87, 2005.

FRISINA, P. G.; HAROUTUNIAN, V.; LIBOW, L. S. The neuropathological basis for depression in Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 15, n. 2, p. 144–148, 2009.

GALATI, S.; SALVADÈ, A.; PACE, M.; et al. Evidence of an association between sleep and levodopa-induced dyskinesia in an animal model of Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 36, n. 3, p. 1577–1589, 2015.

GEORGIEFF, M. K. Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement. **Am J Clin Nutr**, v. 1, n. 7800, p. 425–426, 2007.

GOMEZ-PINILLA, F. Collaborative Effects of Diet and Exercise on Cognitive Enhancement. **Nutrition and Health**, v. 20, n. 3-4, p. 165–169, 2011.

GOMEZ-PINILLA, F.; TYAGI, E. Diet and cognition: interplay between cell metabolism and neuronal plasticity. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 16, n. 6, p. 726–33, 2013.

GREEN, P.; GLOZMAN, S.; KAMENSKY, B.; YAVIN, E. Developmental changes in rat brain membrane lipids and fatty acids. The preferential prenatal accumulation of docosahexaenoic acid. **Journal of lipid research**, v. 40, n. 5, p. 960–966, 1999.

GREGÓRIO, M. L. **Estudo do comportamento rotatório induzido por diferentes substâncias em ratos com lesão induzida por 6-ohda no feixe prosencefálico medial (fpm)**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

GRENIER, K.; KONTOGIANNEA, M.; FON, E. A. Short Mitochondrial ARF Triggers Parkin/PINK1-dependent Mitophagy. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 43, p. 29519–29530, 2014.

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J. M. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) - Implications for dietary recommendations. **Biochimie**, v. 93, n. 1, p. 7–12, 2011.

HAAST, R. A M.; KILIAAN, A. J. Impact of fatty acids on brain circulation, structure and function. **Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids**, p. 1–12, 2014.

HACIOGLU, G.; SEVAL-CELIK, Y.; TANRIOVER, G.; et al. Docosahexaenoic acid provides protective mechanism in bilaterally MPTP-lesioned rat model of Parkinson ' s disease. **Folia Histochemica et cytobiologica**, v. 50, n. 2, p. 228–238, 2012.

HALD, A.; LOTHARIUS, J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: Is there a causal link? **Experimental Neurology**, v. 193, n. 2, p. 279–290, 2005.

HANAGASI, H. A; GURVIT, H.; UNSALAN, P.; et al. The effects of rasagiline on cognitive deficits in Parkinson's disease patients without dementia: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study. **Movement Disorders**, v. 26, n. 10, p. 1851–8, 2011.

HANCOCK, D. B.; MARTIN, E. R.; MAYHEW, G. M.; et al. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: A family-based case-control study. **BMC Neurology**, v. 8, n. 1, p. 6, 2008.

HARDMAN, W. E. Nutrition , and Cancer (n-3) Fatty Acids and Cancer Therapy. **The journal of nutrition**, p. 3427–3430, 2004.

HASHIMOTO, M.; INOUE, T.; KATAKURA, M.; et al. Prescription n-3 fatty acids, but not eicosapentaenoic acid alone, improve reference memory-related learning ability by increasing brain-derived neurotrophic factor levels in SHR.Cg-Lepr(cp)/NDmcr rats, a metabolic syndrome model. **Neurochemical research**, v. 38, n. 10, p. 2124–35, 2013.

HE, X. J.; NAKAYAMA, H. Neurogenesis in Neurotoxin-induced Animal Models for Parkinson's Disease-A Review of the Current Status. **Journal of toxicologic pathology**, v. 22, n. 2, p. 101–8, 2009.

HEMMERLE, A. M.; HERMAN, J. P.; SEROOGY, K. B. Stress, depression and Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, v. 233, n. 1, p. 79–86, 2012.

HERMANSON, E.; JOSEPH, B.; CASTRO, D.; et al. Nurr1 regulates dopamine synthesis and storage in MN9D dopamine cells. **Experimental Cell Research**, v. 288, n. 2, p. 324–334, 2003.

HIBBELN, J. R.; DAVIS, J. M. Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood ALSPA. **The Lancet**, v. 369, p. 578–585, 2007.

HORROCKS, L. A.; FAROOQUI, A. A. Docosahexaenoic acid in the diet: Its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 70, n. 4, p. 361–372, 2004.

HULL, M. A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 25, n. 4-5, p. 547–554, 2011.

HUNTER, R. L.; DRAGICEVIC, N.; SEIFERT, K.; et al. Inflammation induces mitochondrial dysfunction and dopaminergic neurodegeneration in the nigrostriatal system. **Journal of Neurochemistry**, v. 100, n. 5, p. 1375–1386, 2007.

IAGHER, F.; BRITO BELO, S. R. DE; SOUZA, W. M.; et al. Antitumor and anti-cachectic effects of shark liver oil and fish oil: comparison between independent or associative chronic supplementation in Walker 256 tumor-bearing rats. **Lipids in health and disease**, v. 12, p. 146, 2013.

IMAMURA, K.; HISHIKAWA, N.; SAWADA, M.; et al. Distribution of major histocompatibility complex class II-positive microglia and cytokine profile of Parkinson's disease brains. **Acta Neuropathologica**, v. 106, n. 6, p. 518–526, 2003.

INNIS, S. M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. **Brain Research**, v. 1237, p. 35–43, 2008.

INNIS, S. M. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants 1 – 3. **Am J Clin Nutr**, v. 99, n. C, p. 734–741, 2014.

JANSSEN, C. I. F.; KILIAAN, A. J. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. **Progress in lipid research**, v. 53, n. 1, p. 1–17, 2014.

JANSSEN, C. I. F.; ZERBI, V.; MUTSAERS, M. P. C.; et al. Impact of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on cognition, motor skills and hippocampal neurogenesis in developing C57BL/6J mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 1, p. 24–35, 2015.

JEN, K.-L. C.; CHURCH, M. W.; WANG, C.; et al. Perinatal n-3 fatty acid imbalance affects fatty acid composition in rat offspring. **Physiology & behavior**, v. 98, n. 1-2, p. 17–24, 2009.

JENNER, P; OLANOW, CW. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. **Neurology**, v. 47, n. 3, p. S161-S170, 1996.

JI, A.; DIAO, H.; WANG, X.; et al. N-3 polyunsaturated fatty acids inhibit lipopolysaccharide-induced microglial activation and dopaminergic injury in rats. **NeuroToxicology**, v. 33, n. 4, p. 780–788, 2012.

JING, K.; SHIN, S.; JEONG, S.; Docosahexaenoic acid induces the degradation of HPV E6/E7 oncoproteins by activating the ubiquitin–proteasome system. **Cell Death and Disease**, v. 5, 2014.

JOARDAR, A.; SEN, A. K.; DAS, S. Docosahexaenoic acid facilitates cell maturation and beta-adrenergic transmission in astrocytes. **Journal of lipid research**, v. 47, n. 3, p. 571–581, 2006.

JONES, M. L.; MARK, P. J.; MORI, T. A; KEELAN, J. A; WADDELL, B. J. Maternal Dietary Omega-3 Fatty Acid Supplementation Reduces Placental Oxidative Stress and Increases Fetal and Placental Growth in the Rat. **Biology of Reproduction**, v. 88, n. 2, p. 1– 8, 2012.

JONES, M. L.; MARK, P. J.; WADDELL, B. J. Maternal dietary omega-3 fatty acids and placental function. **Reproduction**, p. 1–26, 2014.

KAMEL, F.; GOLDMAN, S. M.; UMBACH, D. M.; et al. Dietary fat intake, pesticide use, and Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 20, n. 1, p. 82–87, 2014.

KAMEL, F.; TANNER, C.; UMBACH, D.; et al. Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study. **American journal of epidemiology**, v. 165, n. 4, p. 364–74, 2007.

KAWAJIRI, S.; SAIKI, S.; SATO, S.; HATTORI, N. Genetic mutations and functions of PINK1. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 32, n. 10, p. 573–580, 2011.

KEHAGIA, A. A.; BARKER, R. A.; ROBBINS, T. W. Neuropsychological and clinical heterogeneity of cognitive impairment and dementia in patients with Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, v. 9, n. 12, p. 1200–1213, 2010.

KHAIRE, A. A.; KALE, A. A.; JOSHI, S. R. Maternal omega-3 fatty acids and micronutrients modulate fetal lipid metabolism: A review. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 98, p. 49–55, 2015.

KNUDSEN, V. K.; HANSEN, H. S.; ØSTERDAL, M. L.; et al. Fish oil in various doses or flax oil in pregnancy and timing of spontaneous delivery: A randomised controlled trial. **BJOG**, v. 113, n. 5, p. 536–543, 2006.

KNUESEL, I.; CHICHA, L.; BRITSCHGI, M.; et al. Maternal immune activation and abnormal brain development across CNS disorders. **Nature Reviews Neurology**, v. 10, n. 11, p. 643–660, 2014.

KODAS, E.; PAGE, G.; ZIMMER, L.; et al. Neither the density nor function of striatal dopamine transporters were influenced by chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in rodents. **Neuroscience letters**, v. 321, n. 1-2, p. 95–9, 2002.

KOLETZKO, B.; LARQUÉ, E.; DEMMELMAIR, H. Placental transfer of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). **Journal of Perinatal Medicine**, v. 35, n. SUPPL. 1, p. 5–12, 2007.

KONES, R. Parkinson's disease: mitochondrial molecular pathology, inflammation, statins, and therapeutic neuroprotective nutrition. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 25, n. 4, p. 371–389, 2010.

KRIS-ETHERTON, P. M.; FLEMING, J. A. Emerging Nutrition Science on Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Nutritionists'. **American Society for Nutrition**, v. 6, 2015.

KUPERSTEIN, F.; EILAM, R.; YAVIN, E. Altered expression of key dopaminergic regulatory proteins in the postnatal brain following perinatal n-3 fatty acid dietary deficiency. **Journal of Neurochemistry**, v. 106, n. 2, p. 662–671, 2008.

KUPERSTEIN, F.; YAKUBOV, E.; DINERMAN, P.; et al. Overexpression of dopamine receptor genes and their products in the postnatal rat brain following maternal n-3 fatty acid dietary deficiency. **Journal of Neurochemistry**, v. 95, n. 6, p. 1550–1562, 2005.

LAPILLONNE, A.; GROH-WARGO, S.; LOZANO GONZALEZ, C. H.; UAUY, R. Lipid needs of preterm infants: Updated recommendations. **Journal of Pediatrics**, v. 162, n. 3 SUPPL., p. S37–S47, 2013. Mosby, Inc. Disponível em:

LARQUÉ, E.; DEMMELMAIR, H.; GIL-SÁNCHEZ, A.; et al. Placental transfer of fatty acids and fetal implications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 6, p. 1908–1913, 2011.

LATOURE, A.; GRINTAL, B.; CHAMPEIL-POTOKAR, G.; et al. Omega-3 fatty acids deficiency aggravates glutamatergic synapse and astroglial aging in the rat hippocampal CA1. **Aging Cell**, v. 12, n. 1, p. 76–84, 2013.

LEE, H. J.; HAN, J.; JANG, Y.; et al. Docosahexaenoic acid prevents paraquat-induced reactive oxygen species production in dopaminergic neurons via enhancement of glutathione homeostasis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 457, n. 1, p. 95–100, 2015.

LEES, A. J.; HARDY, J.; REVESZ, T. Parkinson's disease. **The Lancet**, v. 373, n. 9680, p. 2055–2066, 2009.

LÉTONDOR, A.; BUAUD, B.; VAYSSE, C.; et al. Erythrocyte DHA level as a biomarker of DHA status in specific brain regions of n-3 long-chain PUFA-supplemented aged rats. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 11, p. 1805–1818, 2014.

LIN, P.-Y.; HUANG, S.-Y.; SU, K.-P. A meta-analytic review of polyunsaturated fatty acid compositions in patients with depression. **Biological psychiatry**, v. 68, n. 2, p. 140–147, 2010.

LIU, Y.; ZHU, M.; LIN, L.; et al. Deficiency of Trim27 protects dopaminergic neurons from apoptosis in the neurotoxin model of Parkinson's disease. **Brain Research**, v. 1588, p. 17–24, 2014.

LOTHARIUS, J.; BRUNDIN, P. Pathogenesis of Parkinson's disease: dopamine, vesicles and α -synuclein. **Nat Rev Neurosci**. vol 3, 2002.

LUCHTMAN, D. W.; MENG, Q.; SONG, C. Ethyl-eicosapentaenoate (E-EPA) attenuates motor impairments and inflammation in the MPTP-probenecid mouse model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 226, n. 2, p. 386–396, 2012.

LUCHTMAN, D. W.; SONG, C. Cognitive enhancement by omega-3 fatty acids from child-hood to old age: Findings from animal and clinical studies. **Neuropharmacology**, v. 64, p. 550–565, 2013.

LUKIW, W. J.; BAZAN, N. G. Docosahexaenoic acid and the aging brain. **The Journal of Nutrition**, v. 138, p. 2510-2514, 2008.

MARAI, I.; MASSALHA, S. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin D on cardiovascular diseases. **IMAJ**, v. 16, n. 2, p. 117–21, 2014.

MATSUDA, N.; SATO, S.; SHIBA, K.; et al. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. **Journal of Cell Biology**, v. 189, n. 2, p. 211–221, 2010.

MCNAMARA, R. K.; CARLSON, S. E. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: Potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, n. 4-5, p. 329–349, 2006.

MENNITTI, L. V.; OLIVEIRA, J. L.; MORAIS, C. A.; et al. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 2, p. 99–111, 2015.

MIYAZAWA, D.; YASUI, Y.; YAMADA, K. et al. Regional differences of the mouse brain in response to an α -linolenic acid-restricted diet: Neurotrophin content and protein kinase activity. **Life Sciences**, v. 87, n. 15-16, p. 490–494, 2010.

MIYOSHI, E.; WIETZIKOSKI, S.; CAMPLESSEI, M. et al. Impaired learning in a spatial working memory version and in a cued version of the water maze in rats

with MPTP- induced mesencephalic dopaminergic lesions. *Brain Res. Bull.*, v. 58, p. 41- 47, 2002.

MORANIS, A.; DELPECH, J. C.; SMEDT-PEYRUSSE, V. D. et al. Long term adequate n-3 polyunsaturated fatty acid diet protects from depressive-like behavior but not from working memory disruption and brain cytokine expression in aged mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 26, n. 5, p. 721–731, 2012.

NESTEL, P.; CLIFTON, P.; COLQUHOUN, D.; et al. Indications for Omega-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acid in the Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease. **Heart, Lung and Circulation**, p. 1–11, 2015.

NOVAK, E. M.; DYER, R. A.; INNIS, S. M. High dietary n-6 fatty acids contribute to reduced docosahexaenoic acid in the developing brain and inhibit secondary neurite growth. **Brain Research**, v. 1237, p. 136–145, 2008.

OBESO, J. A.; RODRÍGUEZ-OROZ, M. C.; RODRÍGUEZ, M.; et al. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. **Trends in neurosciences**, v. 23, n. 10 Suppl, p. S8–S19, 2000.

ORR, S. K.; TRÉPANIÉ, M.-O.; BAZINET, R. P.; et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids in animal models with neuroinflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 88, n. 1, p. 97–103, 2013.

PAN, J. P.; ZHANG, H. Q.; WEI-WANG; et al. Some subtypes of endocannabinoid/endovanilloid receptors mediate docosahexaenoic acid-induced enhanced spatial memory in rats. **Brain Research**, v. 1412, p. 18–27, 2011.

PARNETTI, L.; CASTRIOTO, A.; CHIASSERINI, D.; et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in Parkinson disease. **Nature reviews. Neurology**, v. 9, n. 3, p. 131–40, 2013. Nature Publishing Group.

PASSOS, P. P.; BORBA, J. M. C.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; et al. Dopaminergic cell populations of the rat substantia nigra are differentially affected by essential

fatty acid dietary restriction over two generations. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 44, n. 2, p. 66–75, 2012.

PATAPOUTIAN, A.; REICHARDT, L. F. Trk receptors: Mediators of neurotrophin action. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 11, n. 3, p. 272–280, 2001.

PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. **Journal of nutrition and metabolism**, v. 2012, p. 539426, 2012.

PAXINOS, G; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th ed. San Diego: Academic Press; 2005.

PÉREZ-ECHARRI, N.; PÉREZ-MATUTE, P.; MARCOS-GÓMEZ, B.; MARTÍNEZ, J. A.; MORENO-ALIAGA, M. J. Effects of eicosapentaenoic acid ethyl ester on visfatin and apelin in lean and overweight (cafeteria diet-fed) rats. **The British journal of nutrition**, v. 101, n. 7, p. 1059–1067, 2009.

PÉREZ-MATUTE, P.; PÉREZ-ECHARRI, N.; MARTÍNEZ, J. A.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M. J. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. **The British journal of nutrition**, v. 97, n. 2, p. 389–398, 2007.

PREDIGER, R. D., et al. The risk is in the air: Intranasal administration of MPTP to rats reproducing clinical features of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, v. 202, n. 2, p. 391-403, 2006.

PREDIGER, R. D., et al. Antagonistic interaction between adenosine A2A and dopamine D2 receptors modulates the social recognition memory in reserpinetreated rats. **Behavioural Pharmacology**, v. 16, n. 4, p. 209-218, 2005.

PREDIGER, R. D., et al. Ethanol improves short-term social memory in rats. Involvement of opioid and muscarinic receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 462, p. 115-123, 2003.

PREDIGER, R. D. S.; MATHEUS, F. C.; SCHWARZBOLD, M. L.; LIMA, M. M. S.; VITAL, M. A. B. F. Anxiety in Parkinson's disease: a critical review of experimental and clinical studies. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 115–24, 2012.

PRICKAERTS, J.; VENDE, J. DE; HONIG, W.; STEINBUSCH, H. W. M.; BLOKLAND, A. cGMP, but not cAMP, in rat hippocampus is involved in early stages of object memory consolidation. **European Journal of Pharmacology**, v. 436, n. 1-2, p. 83–87, 2002.

PUDELL, C.; VICENTE, B. A.; DELATTRE, A. M.; et al. Fish oil improves anxiety-like, depressive-like and cognitive behaviors in olfactory bulbectomised rats. **The European journal of neuroscience**, v. 39, n. 2, p. 266–274, 2014.

QUINN, J. F.; RAMAN, R.; THOMAS, R. G.; YURKO-MAURO, K.; NELSON, E. B. Docosahexaenoic Acid Supplementation and Cognitive Decline in Alzheimer Disease: A Randomized Trial. **JAMA**, v. 127, p. 358–366, 2012.

REDDY, R.; FLEET-MICHALISZYN, S.; CONDRAY, R.; et al. Reduction in perseverative errors with adjunctive ethyl-eicosapentaenoic acid in patients with schizophrenia: Preliminary study. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 84, n. 3-4, p. 79–83, 2011.

REES, A.; SIROIS, S.; WEARDEN, A. Maternal Docosahexaenoic Acid Intake Levels During Pregnancy and Infant Performance on a Novel Object Search Task at 22 Months. **Child Development**, v. 85, n. 6, p. n/a–n/a, 2014.

REVILLA, F. J.; LARSH, T. R.; MANI, A.; et al. Effect of dopaminergic medication on postural sway in advanced Parkinson's disease. **Frontiers in Neurology**, v. 4 DEC, n. December, p. 1–5, 2013.

RHODES, S. L.; FITZMAURICE, A. G.; COCKBURN, M.; et al. Pesticides that inhibit the ubiquitin-proteasome system: Effect measure modification by genetic variation in SKP1 in Parkinson's disease. **Environmental Research**, v. 126, p. 1–8, 2013.

RODRIGUEZ, M., et al. Dopamine cell degeneration induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in rat: similarities with cell loss in Parkinson's Disease. **Experimental Neurology**, v. 169, p. 163-181, 2001.

ROGERS, L. K.; VALENTINE, C. J.; KEIM, S. A. DHA supplementation: Current implications in pregnancy and childhood. **Pharmacological Research**, v. 70, n. 1, p. 13–19, 2013.

ROY, S.; KALE, A.; DANGAT, K.; et al. Maternal micronutrients (folic acid and vitamin B 12) and omega 3 fatty acids: Implications for neurodevelopmental risk in the rat offspring. **Brain and Development**, v. 34, n. 1, p. 64–71, 2012.

SABLE, P. S.; DANGAT, K. D.; JOSHI, A. A.; et al. Maternal omega 3 fatty acid supplementation during pregnancy to a micronutrient-imbalanced diet protects postnatal reduction of brain neurotrophins in the rat offspring. **Neuroscience**, v. 217, p. 46–55, 2012.

SABLE, P. S.; KALE, A. A.; JOSHI, S. R. Prenatal omega 3 fatty acid supplementation to a micronutrient imbalanced diet protects brain neurotrophins in both the cortex and hippocampus in the adult rat offspring. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 62, n. 11, p. 1607–1622, 2013.

SANT'ANA, L.S. Biochemical mechanisms involved in the Omega fatty acids digestion, absorption and metabolism. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*, v.17, n. 4, p. 211-216, 2004.

SANTIAGO, R. M.; BARBIERO, J.; GRADOWSKI, R. W.; et al. Induction of depressive-like behavior by intranigral 6-OHDA is directly correlated with deficits in striatal dopamine and hippocampal serotonin. **Behavioural Brain Research**, v. 259, p. 70–77, 2014.

SAVICA, R.; ROCCA, W. A; AHLKOG, J. E. When does Parkinson disease start? **Archives of neurology**, v. 67, n. 7, p. 798–801, 2010.

SCHAMNE, M. S.; MINARDI, M. V. K.; FERRO, M. M.; et al. Efeito da sinvastatina no teste do comportamento rotatório após o desafio com apomorfina em um

modelo animal da doença de Parkinson. **Rev. Saúde e Biol.** v. 9, n.3, p. 62-68, 2014

SCHRAG, A.; SCHOTT, J. M. Epidemiological, clinical, and genetic characteristics of early-onset parkinsonism. **Lancet Neurology**, v. 5, n. 4, p. 355–363, 2006.

SCHWARTING, R. K., HUSTON, J. P. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the meso-striatal dopaminergic neurons and their physiological sequelae. **Progress in Neurobiology**, v. 49, p. 215-66, 1996.

SEAMANS, J. K.; FLORESCO, S. B.; PHILLIPS, A G. D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 18, n. 4, p. 1613–1621, 1998.

SEKI, H.; TANI, Y.; ARITA, M. Omega-3 PUFA derived anti-inflammatory lipid mediator resolvin E1. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**, v. 89, n. 3-4, p. 126–130, 2009.

SHERRY, C. L.; OLIVER, J. S.; MARRIAGE, B. J. Docosahexaenoic acid supplementation in lactating women increases breast milk and plasma docosahexaenoic acid concentrations and alters infant omega 6:3 fatty acid ratio. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)**, v. 95, p. 63–69, 2015.

SIMOLA, N.; MORELLI, M.; CARTA, A. R. The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. **Neurotox Res**, v. 11, p. 151–167, 2007.

SIMOPOULOS, A P. Essential fatty acids in health and chronic disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 70, n. 3 Suppl, p. 560S–569S, 1999.

SIMOPOULOS, A. P. The omega-6 / omega-3 fatty acid ratio , genetic variation , and cardiovascular disease. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 17, n. December 2007, p. 131–134, 2008.

SINGH, S.; AHMAD, R.; MATHUR, D.; et al. Neuroprotective effect of BDNF in young and aged 6-OHDA treated rat model of Parkinson disease. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 44, n. 9, p. 699–704, 2006.

SKALISZ, L. L.; BEIJAMINI, V.; JOCA, S. L.; et al. Evaluation of the face validity of reserpine administration as an animal model of depression--Parkinson's disease association. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 26, n. 5, p. 879–883, 2002.

SLATTERY, D. A.; MARKOU, A.; CRYAN, J. F. Evaluation of reward processes in an animal model of depression. **Psychopharmacology**, v. 190, n. 4, p. 555–68, 2007.

SLAUGHTER, J. R.; SLAUGHTER K. A.; NICHOLS, D.; et al. Prevalence, clinical manifestations, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, v. 13, 2001.

SMUTS, C. M.; HUANG, M.; MUNDY, D.; et al. A randomized trial of docosahexaenoic acid supplementation during the third trimester of pregnancy. **Obstetrics and gynecology**, v. 101, n. 3, p. 469–479, 2003.

SOFI, F.; GIORGI, G.; CESARI, F.; et al. The atherosclerotic risk profile is affected differently by fish flesh with a similar EPA and DHA content but different n-6/n-3 ratio. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 32–40, 2013.

SONSALLA, P. K.; WONG, L. Y.; HARRIS, S. L.; et al. Delayed caffeine treatment prevents nigral dopamine neuron loss in a progressive rat model of Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, v. 234, n. 2, p. 482–487, 2012.

STAZIAKI, P. V; MARQUES, C. M.; DELATTRE, A. M.; et al. Fish oil has beneficial effects on behavior impairment and oxidative stress in rats subjected to a hepatic encephalopathy model. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 12, n. 1, p. 84–93, 2013.

SU, H. M. Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 21, n. 5, p. 364–373, 2010.

SZAJEWSKA, H.; HORVATH, A.; KOLETZKO, B. Effect of supplementation of women in high-risk pregnancies with long-chain polyunsaturated fatty acids on pregnancy outcomes and growth measures at birth: a meta-analysis of randomized controlled trials. **The British journal of nutrition**, v. 98, 2006.

TANITO, M.; BRUSH, R. S.; ELLIOTT, M. H.; et al. High levels of retinal membrane docosahexaenoic acid increase susceptibility to stress-induced degeneration. **Journal of lipid research**, v. 50, n. 5, p. 807–819, 2009.

TANSEY, M. G.; GOLDBERG, M. S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: Its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. **Neurobiology of Disease**, v. 37, n. 3, p. 510–518, 2010.

THOMAS, B.; BEAL, M. F. Molecular insights into Parkinson's disease. **Medicine reports**, v. 3, n. April, p. 7, 2011.

TRISTÃO, F. S. M.; AMAR, M.; LATROUS, I.; et al. Evaluation of nigrostriatal neurodegeneration and neuroinflammation following repeated intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) administration in mice, an experimental model of Parkinson's disease. **Neurotoxicity research**, v. 25, n. 1, p. 24–32, 2014.

TROEUNG, L.; EGAN, S. J.; GASSON, N. A meta-analysis of randomised placebo-controlled treatment trials for depression and anxiety in Parkinson's disease. **PloS one**, v. 8, n. 11, 2013.

TSAI, P.-I.; COURSE, M. M.; LOVAS, J. R.; et al. PINK1-mediated Phosphorylation of Miro Inhibits Synaptic Growth and Protects Dopaminergic Neurons in Drosophila. **Scientific Reports**, v. 4, p. 6962, 2014.

VECCHIA, D. D. SHAMNE, M. G.; FERRO, M. M.; et al. Effects of hypericum perforatum on turning behavior in an animal model of Parkinson's disease. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.51, n.1, 2015.

VINES, A.; DELATTRE, A. M.; LIMA, M. M. S.; et al. The role of 5-HT 1A receptors in fish oil-mediated increased BDNF expression in the rat hippocampus and cortex: A possible antidepressant mechanism. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 184–191, 2012.

SIDHU, V. K.; HUANG, B. X.; KIM, H. Effects of docosahexaenoic acid on mouse brain synaptic plasma membrane proteome analyzed by mass spectrometry and ¹⁶O/¹⁸O labeling. **J Proteome Res**, v. 29, n. 6, p. 997–1003, 2011.

WALL, R.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; STANTON, C. Fatty acids from fish: The anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. **Nutrition Reviews**, v. 68, n. 5, p. 280–289, 2010.

WHITE, P. J.; MITCHELL, P. L.; SCHWAB, M.; et al. Transgenic ω -3 PUFA enrichment alters morphology and gene expression profile in adipose tissue of obese mice: Potential role for protectins. **Metabolism**, v. 64, n. 6, p. 666–676, 2015.

WITTE, A V.; KERTI, L.; HERMANNSTÄDTER, H. M.; et al. Long-Chain Omega-3 Fatty Acids Improve Brain Function and Structure in Older Adults. **Cerebral cortex**, , n. 1, p. 1–10, 2013.

WILLATTS, P.; FORSYTH, S.; AGOSTONI, C.; et al. Effects of long-chain PUFA supplementation in infant formula on cognitive function in later childhood. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 98, n. 2, p. 536–542, 2013.

YANG, T.; FANG, S.; ZHANG, H. et al. N-3 PUFAs have antiproliferative and apoptotic effects on human colorectal cancer stem-like cells in vitro. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, 2013.

YAVIN, E.; HIMOVICHI, E.; EILAM, R. Delayed cell migration in the developing rat brain following maternal omega 3 alpha linolenic acid dietary deficiency. **Neuroscience**, v. 162, n. 4, p. 1011–1022, 2009.

YETIMLER, B.; ULUSOY, G.; ÇELIK, T.; JAKUBOWSKA-DOĞRU, E.; JAKUBOWSKA-DO, E. Differential effect of age on the brain fatty acid levels and their correlation with animal cognitive status in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 103, n. 1, p. 53–59, 2012.

YONG, Y., et al. Lithium fails to protect dopaminergic neurons in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. **Neurochemistry**, v. 36, p. 367-374, 2011.

YU, H.; CHEN, Z. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 32, n. 1, p. 3–11, 2011.

ZARROUK, A; NURY, T.; RIEDINGER, J. M.; HAMMAMI, M.; LIZARD, G. Dual Effect of Docosahexaenoic Acid (Attenuation or Amplification) on C22 : 0- , C24 : 0- , and C26 : 0-Induced Mitochondrial Dysfunctions and Oxidative Stress on Human Neuronal Sk-N-Be Cells. **J Nutr Health Aging**, v. 19, p. 1–11, 2015.

ZERBI, V.; JANSEN, D.; WIESMANN, M.; et al. Multinutrient diets improve cerebral perfusion and neuroprotection in a murine model of Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 35, n. 3, p. 600–613, 2014.

ZHU, H.; FAN, C.; XU, F.; et al. Dietary fish oil n-3 polyunsaturated fatty acids and alpha-linolenic acid differently affect brain accretion of docosahexaenoic acid and expression of desaturases and sterol regulatory element-binding protein 1 in mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 21, n. 10, p. 954–960, 2010.