

EFEITO DA SINVASTATINA NO TESTE DO COMPORTAMENTO ROTATÓRIO APÓS DESAFIO COM APOMORFINA EM UM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE PARKINSON

Marissa Giovanna Schamne¹, Marcela Vaz Kuhn Minardi², Marcelo Machado Ferro³, Edmar Miyoshi⁴

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum na atualidade, e ainda não há nenhuma terapia eficaz para controlar a sua progressão, os tratamentos atuais apenas aliviam os sintomas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da sinvastatina no comportamento rotatório de ratos com lesão unilateral pela 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA). Ratos Wistar machos adultos receberam infusão unilateral de 6-OHDA no feixe prosencefálico medial (FPM) através de cirurgia estereotáxica. Em seguida, diferentes grupos de animais receberam diferentes doses de sinvastatina (1, 5 ou 25 mg/Kg) ou veículo, por via oral, diariamente por 28 dias. No 28º dia após a cirurgia, todos os animais foram submetidos ao teste do comportamento rotatório, induzido pela administração subcutânea (s.c.) de apomorfina (1 mg/Kg), no qual foram avaliados o número de rotações ipsi e contralaterais ao lado lesionado. Os animais do grupo 6-OHDA+veículo apresentaram um número maior de rotações contralaterais que os animais do grupo SHAM+veículo. Os animais dos grupos 6-OHDA+sinvastatina 1 mg/Kg e 6-OHDA+sinvastatina 5 mg/Kg apresentaram um menor número de rotações contralaterais, quando comparados com os animais do grupo 6-OHDA+veículo. Estes resultados sugerem que a sinvastatina pode diminuir ou impedir a morte de neurônios dopaminérgicos, portanto, possuir um efeito benéfico na doença de Parkinson. Este efeito pode estar ligado à conhecida ação anti-inflamatória da sinvastatina.

Palavras-chave: *doença de Parkinson; sinvastatina; neuroinflamação.*

EFFECT OF SIMVASTATIN ON ROTATIONAL BEHAVIOUR AFTER APOMORPHINE CHALLENGE IN AN ANIMAL MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is currently the second most common neurodegenerative disease, and yet there is no effective therapy to control its progression, as current treatments only relieve symptoms. The aim of this study was to evaluate the simvastatin's pharmacological effect on the rotational behavior in rats unilaterally lesioned by 6-hydroxydopamine (6-OHDA). Male adult Wistar rats received unilateral administration of 6-OHDA into the medial forebrain bundle, performed by stereotaxic surgery. Then, different groups received different doses of simvastatin (1, 5 and 25 mg/Kg) or vehicle, orally administered on a daily basis for 28 days. On the 28th day after surgery, all animals were submitted to the turning behavior test, induced by subcutaneous administration of apomorphine (1 mg/Kg), in which the number of ipsilateral and contralateral rotations to the lesioned side rotations were analyzed. The 6-OHDA+vehicle animals showed an increased number of contralateral rotations when compared with SHAM+vehicle animals. The 6-OHDA+simvastatin 1 mg/Kg and 6-OHDA+simvastatin 5 mg/Kg animals showed a lower number of contralateral rotations compared to 6-OHDA+vehicle animals. These results suggest that simvastatin can reduce or prevent the death of dopaminergic neurons, and thus, have a beneficial effect on Parkinson's disease. This effect may be related to the well-known simvastatin anti-inflammatory action.

Keywords: *Parkinson's disease; simvastatin; neuroinflammation.*

¹ Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

² Curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

³ Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa; ⁴ Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa, caracterizada pela perda progressiva dos neurônios dopaminérgicos na substância negra *pars compacta* (SNpc), que se projetam para o estriado, acarretando uma diminuição dos níveis de dopamina (DA), alterando todo o processamento das informações pelos núcleos da base (1-4).

Essa degeneração neuronal leva ao surgimento dos sintomas motores da doença, como a rigidez muscular, bradicinesia, tremor de repouso e instabilidade postural (5,6,7). Os sintomas motores da DP começam a se manifestar quando aproximadamente 70% dos neurônios dopaminérgicos da região nigroestriatal já foram perdidos (8,9).

A neurodegeneração na DP é acompanhada por uma reação inflamatória, caracterizada pela ativação da micróglia levando a produção de uma série de mediadores inflamatórios (ex: NF- κ B, IL-1, IL-6, COX-2) (10,11). Sabe-se que esse mecanismo neuroinflamatório associado ao estresse oxidativo representa um dos principais mecanismos responsáveis pela morte neuronal (12,13).

Apesar da relevância da doença no cenário atual, ainda não há nenhuma terapia eficaz em impedir a progressão da doença, os tratamentos farmacológicos atuais são essencialmente sintomáticos (14).

As drogas da classe das estatinas são normalmente usadas no tratamento de deslipidemias, possuindo poucos efeitos colaterais (15,16).

A sinvastatina, que é um dos principais membros dessa classe, além deste efeito, tem comprovado efeito anti-inflamatório e antioxidante (15,16,17). Já foram demonstradas as capacidades da sinvastatina em reduzir os danos oxidativos, por meio da diminuição da peroxidação lipídica e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (15,17,18), e ainda de suprimir a ativação de moléculas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α), óxido nítrico (NO), superóxido, interleucina (IL)-1 β e IL-6 (13,16,17,18). Isto levanta a hipótese de que este fármaco possa ser benéfico para indivíduos com demência e doenças neurodegenerativas (17-20).

Para estudar a evolução e o tratamento de patologias neurodegenerativas, o uso de modelos animais torna-se uma ferramenta muito útil e de extrema relevância. A DP é uma doença humana, e não se manifesta espontaneamente em animais. Nestes, só é observada pela administração de neurotoxinas que interrompam ou destruam seletivamente o sistema catecolaminérgico (21). O modelo animal de administração unilateral de 6-OHDA, análogo estrutural do neurotransmissor DA, uma das neurotoxinas mais comumente utilizada para desenvolver degenerações *in vitro* e *in vivo* em modelos de neurodegeneração associados à DP (22), foi o escolhido para esta pesquisa.

As lesões produzidas pela 6-OHDA ocorrem após a administração intracerebral direta (diretamente nos ventrículos ou tecidos cerebrais), devido a sua incapacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) (23,24,25).

Na intenção de reproduzir modelos experimentais da DP, a 6-OHDA preferencialmente é injetada no corpo estriado, na SNpc ou no FPM, destruindo os neurônios dopaminérgicos da SNpc e esgotando o corpo estriado de DA, reproduzindo assim as características fisiopatológicas responsáveis pelas deficiências motoras da DP. A degeneração induzida por injeções unilaterais de 6-OHDA produz um comportamento motor assimétrico e quantificável após indução pela administração sistêmica de agonistas dos receptores dopaminérgicos. Devido a isso, se permite um controle fácil e confiável da extensão da lesão realizada e os potenciais benefícios de novos tratamentos (24,26,27,28).

Nesse estudo, foi avaliado o efeito da administração crônica de sinvastatina no comportamento rotatório após o desafio com apomorfina (agonista dopaminérgico), em ratos lesados unilateralmente pela 6-OHDA no FPM.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos procedentes do biotério da UEPG, com três meses de idade, pesando entre 280-310 g no início dos experimentos. Os animais foram mantidos em biotério climatizado ($22 \pm 2^\circ$ C), com ciclo claro/escuro de 12 horas (ciclo claro inicia às 7h), com comida e água *ad libitum*.

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG 3593/2013).

2.2 Drogas e Tratamentos

Os animais foram distribuídos nos seguintes grupos: SHAM+veículo (n=8); SHAM+sinvastatina 1mg/Kg (n=8); SHAM+sinvastatina 5 mg/Kg (n=8); SHAM+sinvastatina 25 mg/Kg (n=8); 6-OHDA+veículo (n=8); 6-OHDA+sinvastatina 1 mg/Kg (n=8); 6-OHDA+sinvastatina 5 mg/Kg (n=8) e 6-OHDA+sinvastatina 25 mg/Kg (n=8). Os animais do grupo SHAM passaram pelos mesmos procedimentos experimentais que os animais do grupo 6-OHDA, exceto a administração de 6-OHDA no FPM. Os animais foram tratados com as diferentes doses de sinvastatina durante 28 dias após a cirurgia, sendo o dia 1 aquele em que foi realizada a cirurgia.

As drogas e demais compostos desse estudo foram adquiridas das seguintes fontes: 6-OHDA e apomorfina (Sigma Chemicals CO, USA), nortriptilina e tiopental (Cristália), sinvastatina (Sandoz), bicarbonato de sódio 8,4% (Santec) e pentabiótico (Fort Dodge).

A sinvastatina foi triturada e, no momento do tratamento, foi pesada e solubilizada em salina.

A 6-OHDA foi dissolvida na concentração de 8 µg/ml em salina com 0,2% de ácido ascórbico.

2.3 Cirurgia

Vinte minutos antes da cirurgia estereotáxica, os animais receberam administração de nortriptilina (10 mg/Kg, i.p.) para evitar a morte de neurônios noradrenérgicos, devido à similaridade estrutural entre as catecolaminas e a neurotoxina 6-OHDA, esta última pode ser internalizada pelos transportadores de noradrenalina causando sua morte. Os animais foram anestesiados com tiopental (50 mg/Kg, i.p.) e então afixados no aparelho estereotáxico (Insight). Para a localização das coordenadas do FPM foi utilizada o atlas de Paxinos e Watson (29). As coordenadas utilizadas foram: anteroposterior (AP): - 0,19 cm a partir do bregma; meso-lateral (ML): ± 0,19 cm a partir do bregma (lesões podiam variar para diferentes lados) e dorso ventral (DV): - 0,79 cm a partir do crânio do animal. Com a agulha posicionada na FPM dos

animais, um microlitro da solução de 6-OHDA (8 microgramas de 6-OHDA, grupo 6-OHDA) ou veículo (grupo SHAM) foi infundido em 4 minutos. Após a infusão, aguardou-se 2 minutos para remover a agulha, evitando o refluxo. A infusão unilateral das substâncias foi realizada por uma bomba de infusão automática com o fluxo de 0,25 microlitros/minutos (Harvard Apparatus).

Ao final da cirurgia, foi administrado bicarbonato de sódio 8,4% (i.p.) (fármaco básico), para acelerar a excreção do tiopental (fármaco ácido) e evitar possíveis problemas cardiorrespiratórios no animal após a cirurgia. Em seguida, foi administrado Pentabiótico de uso veterinário, na dose de 1 mg/Kg por via intramuscular (i.m). Após a cirurgia, os animais retornaram para caixa-moradia para recuperação da anestesia.

2.4 Teste de Rotação

O teste de rotação, que ocorreu 28 dias após a cirurgia, foi realizado imediatamente após a administração de 1 mg/Kg de apomorfina via sub-cutânea (s.c.), dissolvida em salina. Os animais foram confinados em recipientes cilíndricos de fundo cônico (25 cm de diâmetro e 40 cm de altura) e o número de rotações ipsilaterais (para o mesmo lado da lesão) e contralaterais (para o lado contrário da lesão) foram registradas durante 60 minutos.

2.5 Análise Estatística

Os dados estão apresentados como média ± erro padrão da média. Os resultados foram analisados por teste de ANOVA de uma via seguido do teste post hoc de Duncan.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Modelo de Hemiparkinsonismo

Na figura 1 estão representados os resultados do comportamento rotatório no 28º dia após a cirurgia. Conforme observado, houve diferença estatística significativa entre o número de rotações contralaterais dos grupos (F(7,56)=2,82, p= 0,01, ANOVA de uma via). Foram observadas diferenças significativas no número de rotações contralaterais entre os grupos 6-OHDA+veículo e o grupo SHAM+veículo (p= 0,03; ANOVA de uma via, seguida de *post hoc* de Tukey) (Figura 1).

Foi observada também uma diferença nas rotações contralaterais entre os grupos 6-OHDA+sinvastatina 5 mg/Kg e 6-

OHDA+veículo ($p \leq 0,03$; ANOVA de uma via, seguida de *post hoc* de Tukey) (Figura 1).

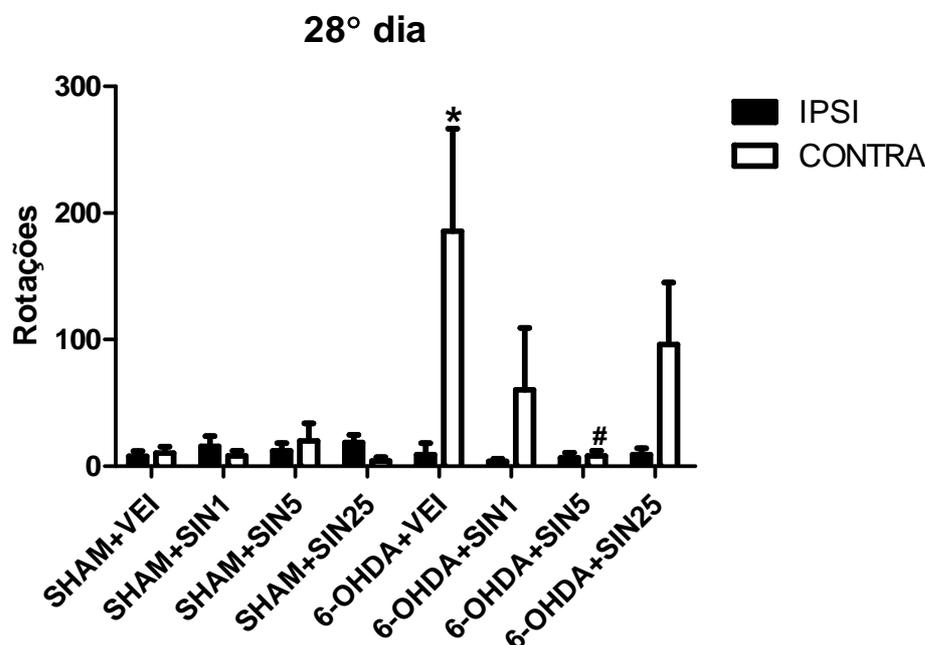


Figura 1. Número de rotações contralaterais no 28º dia após cirurgia unilateral, induzidas pela apomorfina (1 mg/Kg, s.c.) nos grupos SHAM e 6-OHDA tratados com veículo e sinvastatina 1, 5 e 25 mg/Kg. * $p \leq 0,05$ comparado com o grupo SHAM+veículo, # $p \leq 0,05$ comparado com o grupo 6-OHDA+veículo. ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey. (s.c.: sub-cutânea).

Não houve diferença estatística no número de rotações contralaterais entre o grupo SHAM+veículo e os grupos SHAM tratados com as três doses de sinvastatina. Também, não houve diferença estatística entre o número de rotações ipsilaterais em nenhum dos grupos analisados.

DISCUSSÃO

Conforme descrito em estudos anteriores, a lesão unilateral com 8 μ g de 6-OHDA provocou uma lateralização motora nos animais, que foi evidenciada com o desafio com apomorfina, um agonista de receptores dopaminérgicos (28). A 6-OHDA injetada unilateralmente constitui um modelo de hemiparkinsonismo, devido a um desequilíbrio entre o lado lesado e o não lesado (30,31). Em lesões intensas, ocorre hiperexpressão de receptores de dopamina, que potencializa a ação das drogas agonistas como a apomorfina, o que resulta nas rotações predominantemente contralaterais, como apresentado no nosso trabalho (27,30).

No presente estudo, a administração de sinvastatina não alterou o comportamento

rotatório dos animais do grupo SHAM em nenhuma das doses analisadas, indicando que ela por si só não tem ação em receptores dopaminérgicos e não altera o comportamento rotatório dos animais. Nos animais lesados com 6-OHDA, observou-se que a sinvastatina reduziu de forma dose dependente, nas doses de 1 mg/Kg e de 5 mg/Kg, o número de rotações contralaterais de maneira significativa, quando comparadas ao grupo 6-OHDA+veículo. Isto sugere que os animais que receberam sinvastatina tiveram seus neurônios dopaminérgicos lesados com menor intensidade.

Entretanto, a sinvastatina na dose de 25 mg/Kg não reduziu o número de rotações provocadas pela lesão com 6-OHDA como visto nas doses de 1 mg/Kg e 5 mg/Kg. Uma possível justificativa pode ser pelo fato de que várias drogas que atuam sobre o sistema nervoso central (SNC) apresentam um efeito em curva em U, ou seja, há uma dose que produz um efeito, mas em doses menores e maiores, o efeito é menor ou inexistente.

Resultados apresentados por Wang e colaboradores (32) demonstram que o tratamento crônico com sinvastatina é capaz de reverter o *downregulation* da expressão de

receptores D1/D2 no córtex pré-frontal de ratos após a administração de 6-OHDA no FPM. Este efeito reforça que a sinvastatina interfere no efeito neurotóxico da 6-OHDA sobre o sistema dopaminérgico. E, isto pode ser um dos principais responsáveis pela reversão do comportamento rotatório visto nesse estudo.

O provável mecanismo neuroprotetor da sinvastatina sobre o comportamento motor dos animais se dá pela redução do dano oxidativo (pela diminuição da peroxidação lipídica, diminuição da concentração de nitrito e da diminuição da atividade da glutatona peroxidase), e a preservação da atividade das enzimas do complexo mitocondrial (evitando redução das atividades do complexo I e III). Ainda, a sinvastatina por meio da sua atividade anti-inflamatória impede a elevação dos níveis de IL-6 e de TNF- α (33).

A administração oral de sinvastatina reduz de maneira dose-dependente a depleção de DA e de seus metabólitos (ácido 3,4-dihidroxifenil acético e do ácido homovalínico (HVA)), e ainda previne a formação de 3-nitrotirosina no estriado de ratos (34).

As estatinas possuem efeitos protetores sobre a cadeia respiratória da mitocôndria (33,35). Em estudos do grupo de Kumar (33), o tratamento crônico com as estatinas reduziu significativamente as disfunções mitocondriais induzidas pela 6-OHDA.

Porém, a ação das estatinas sobre a cadeia respiratória da mitocôndria pode ser ainda devido ao seu potencial antioxidante, agindo de maneira citoprotetora e atenuando a disfunção mitocondrial (16,33).

De acordo com estudos de Van der Most et al. (15), são poucos os estudos que

explicam minuciosamente os mecanismos de neuroproteção da sinvastatina associados à DP. Wolozin et al. (20) afirmam que a sinvastatina está associada a uma redução na demência e na incidência da DP. Porém, os mesmos autores reforçam que mais estudos são necessários para determinar se este efeito encontrado representa realmente uma ação biológica da sinvastatina ou um viés estatístico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível sugerir que o tratamento com a 6-OHDA é capaz de reproduzir os prejuízos motores associados à DP descritos em estudos anteriores. E também, que o tratamento com a sinvastatina é responsável por reverter/impedir boa parte do déficit motor (rotações contralaterais) dos animais. Esse resultado pode estar relacionado com a capacidade neuroprotetora desse fármaco, mas outras análises são necessárias para se afirmar que existe realmente um mecanismo neuroprotetor, e ainda, tentar responder como acontece essa suposta neuroproteção.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e SETI/Fundação Araucária.

Edmar Miyoshi

Endereço para correspondência: Avenida General Carlos
Cavalcanti, 4748 - Uvaranas, Ponta Grossa - PR, 84030-900
Email: edmar@uepg.br

Recebido em 25/06/2014

Revisado em 21/08/2014

Aceito em 11/09/2014

REFERÊNCIAS

- (1) OBESO, J. A., et al. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. **Trends in Neurosciences** v. 23, p. s8-s19, 2000.
- (2) SULZER, D. Multiple hit hypotheses for dopamine neuron loss in Parkinson's disease. **Trends in Neurosciences** v.30, n.5, p.244-50, 2007.
- (3) DA CUNHA, C., et al. Pre-training to find a hidden platform in the Morris water maze can compensate for a deficit to find a cued platform in a rat model of Parkinson's disease. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 87, n. 4, p. 451-63, 2007.
- (4) DA CUNHA, C., et al. Learning processing in the basal ganglia: a mosaic of broken mirrors. **Behavioural Brain Research**, v. 199, n. 1, p. 157-70, 2009.
- (5) PADOVANI, A. C., et al. Parkinson's disease and dementia. **Neurological Sciences**, v. 27, p. 40-43, 2006.
- (6) MELLO, L. M., BARBOSA, E. R., CARAMELLI, P. Declínio cognitivo e demência associados à doença de Parkinson: características clínicas e tratamento. **Revista de Psiquiatria Clínica.**, vol. 34, n. 4, p. 176-183, 2007.
- (7) FRANCARDO, V., et al. Impact of the lesion procedure on the profiles of motor impairment and molecular responsiveness to L-DOPA in the 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. **Neurobiology of Disease**, v. 42, p. 327-340, 2011.
- (8) BEZARD, E, et al. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease. **Journal of Neuroscience** v. 21, p. 6853-6861, 2001.
- (9) DEUMENS, R, et al. Modeling Parkinson's disease in rats: An evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway experimental. **Neurology**, v.175, p. 303-317, 2002.
- (10) BOKA, G., et al. Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, v. 172, n. 1-2, p.151-154, 1994.
- (11) HUNOT, S., et al. FcepsilonRII/CD23 is expressed in Parkinson's disease and induces, in vitro, production of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha in glial cells. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 9, p. 3440-3447, 1999.
- (12) DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's Disease: Mechanisms and models. **Neuron**, v. 39, p. 889-909, 2003.
- (13) HERNÁNDEZ-ROMERO, M.C., et al. Simvastatin prevents the inflammatory process and the dopaminergic degeneration induced by the intranigral injection of lipopolysaccharide. **Journal of Neurochemical**, v. 105, p. 445-459, 2008.
- (14) SANTOS, C.M.M. New agents promote neuroprotection in Parkinson's disease models. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 11, p. 410-418, 2012.
- (15) VAN DER MOST, P. J.; et al. Statins: Mechanisms of neuroprotection. **Progress in Neurobiology**, v. 88, p. 64-75, 2009.
- (16) WANG, Q., et al. Statins: Multiple neuroprotective mechanisms in

neurodegenerative diseases. **Experimental Neurology**, v. 230, p. 27-34, 2011.

(17) ROY, A., PAHAN, K. Prospects of statins in Parkinson disease. **The Neuroscientist**, v. 17, no 3, p. 244-255, 2011.

(18) GOSH, A., et al. Simvastatin inhibits the activation of p21^{ras} and prevents the loss of dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease. **Journal of Neuroscience**, v. 29, p. 13543-13556, 2009.

(19) ZACCO, A., et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors protect cortical neurons from excitotoxicity. **Journal of Neuroscience**, v. 23, p. 11104-11111, 2003.

(20) WOLOZIN, B., et al. Simvastatin is associated with a reduced incidence of dementia and Parkinson's disease. **BMC Medicine**, v. 5, 2007.

(21) KAHLE, P.J., et al. Structure/function of alpha-synuclein in health and disease: rational development of animal models for Parkinson's and related disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 82, p. 449-457, 2002.

(22) 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.

(23) THOENEN, H., TRANZER, J. P. The pharmacology of 6-hydroxydopamine. **Revist of Pharmacology**, v. 13, p. 169-180, 1973.

(24) 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**, v. 65, p. 135-172, 2001.

(25) BERNSTEIN, A. I., et al. 6-OHDA generated ROS induces DNA damage and p53-and PUMA-dependent cell death. **BMC Medicine**, 2011.

(26) PRZEDBORSKI, S., et al. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine. **Neuroscience**, v. 67, n. 3, p. 631-47, 1995.

(27) 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.

(28) DA CUNHA, C., et al. Hemiparkinsonian rats rotate toward the side with the weaker dopaminergic neurotransmission. **Behavioural Brain Research**, v. 189, p. 364-372, 2008.

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

(30) GERLACH, M.; RIEDERER, P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. **Journal of Neural Transmission**, v. 103, p. 987-1041, 1996.

(31) BETARBET, R.; SHERER, T.B.; GREENAMYRE, J.T. Animal models of Parkinson's disease. **Bioessays**, v. 24, p. 308-318, 2002.

(32) WANG, Q., et al. Simvastatin reverses the downregulation of dopamine D1 and D2 receptor expression in the prefrontal cortex of 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonian rats. **Brain Research**, vol. 1045, p. 229-233, 2005.

(33) KUMAR, A., et al. Neuroprotective potential of atorvastatin and simvastatin (HMG-CoA reductase inhibitors) against 6-hydroxydopamine (6-OHDA) induced Parkinson-like symptoms. **Brain Research**, v. 1471, p. 13-22, 2012.

(34) SELLEY, M.L. Simvastatin prevents 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced striatal dopamine depletion and protein tyrosine nitration in mice. **Brain Research**, v. 1037, p. 1-6, 2005.

(35) KALONIA, H., et al. Comparative neuroprotective profile of statins in quinolinic acid induced neurotoxicity in rats. **Behavioral Brain Research**, v. 216, p. 220-228, 2011.