



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto De Biociências



***ZEBRAFISH (Danio rerio)* COMO MODELO ANIMAL PARA DOENÇAS
NEUROLÓGICAS: INTERSECÇÕES COM O SISTEMA PURINÉRGICO,
COLINÉRGICO E Na^+ , K^+ -ATPASE**

EDUARDA DE FREITAS LÚCIO

Campo Grande – MS

2024



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto De Biociências



EDUARDA DE FREITAS LÚCIO

***ZEBRAFISH (Danio rerio)* COMO MODELO ANIMAL PARA DOENÇAS
NEUROLÓGICAS: INTERSECÇÕES COM O SISTEMA PURINÉRGICO,
COLINÉRGICO E Na^+ , K^+ -ATPASE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à banca examinadora do curso de Ciências Biológicas do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como exigência para a obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas, sob a orientação do Prof. Dr. Jeandre Augusto Otsubo Jaques.

Campo Grande - MS

2024

Dedico este trabalho à menina que fui, que carregava sonhos grandes demais para suas mãos pequenas, mas que, mesmo assim, jamais deixou de caminhar, mesmo quando tudo ao redor parecia convidá-la a desistir. Ela não acreditaria se eu dissesse até onde chegamos, mas espero que, de algum lugar no tempo, ela sinta orgulho de quem nos tornamos. Dedico também à mulher que serei, que nos observa sorrindo de um futuro distante, sabendo que todas as escolhas difíceis valeram a pena. Ainda não cheguei até você, mas prometo que estou a caminho. Nosso reencontro será um abraço entre o que fui, o que sou e o que ainda serei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Catusia Rezende de Freitas e Antonio Lúcio Neto, que, ao longo de toda a minha vida, estiveram sob o sol para que eu pudesse sempre seguir o caminho dos estudos, sob a sombra. Agradeço também por terem me dado minha irmã, Clara de Freitas Lúcio, por quem me inspiro a seguir a vida cuidando da natureza. É ela quem mais me incentiva a ser uma bióloga melhor para o mundo. Agradeço ao meu namorado, Breno Igor, meu companheiro de vida, que chegou em meio ao caos, se acomodou e, ao meu lado, me ajudou a consertá-lo. Te amo imensamente, você sempre será a minha ilha. Agradeço à sua e nossa família por todo o apoio: a Socorro, a Bianca e a Bárbara, por sempre me incentivarem a ser a melhor profissional, oferecendo todo o apoio sempre que eu precisei. Vocês também fizeram parte de todo esse processo. E por fim, a minha grande amiga Yasmin Barboza, por 15 anos você foi e é a minha melhor companhia.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha educação ao longo desses incansáveis 16 anos de estudo. Em especial, agradeço a professora Lurdinha, que me ensinou a ler e escrever mais rápido do que qualquer pessoa poderia imaginar que uma criança seria capaz. Agradeço ao meu professor de biologia do ensino médio, Wagner, cujo amor pela biologia fez eu me apaixonar pela área. Obrigada por me apresentar esse caminho tão lindo. Agradeço a professora Danielle Serra de Lima, por ser a primeira professora dentro da universidade a me acolher em seu laboratório e acreditar em mim. Foi você quem me ajudou a construir a confiança profissional que eu tenho hoje. Agradeço também à professora Alda Maria Teixeira, que me acolheu em seu laboratório durante a graduação. Participar do seu grupo de pesquisa foi essencial para o meu crescimento profissional, desenvolvendo minhas habilidades laboratoriais.

Agradeço imensamente ao professor Jeandre Augusto Otsubo Jaques, meu orientador e chefe do nosso grupo de pesquisa dentro do LBq, que carinhosamente apelidamos de "pai". Brincadeiras à parte, você teve esse papel em minha vida como um pai acadêmico. Obrigada por todas as instruções, por mais duras que tenham sido. Você sempre deseja o melhor para seus alunos e se empenha ao máximo para nos ajudar, e isso é único. Mil obrigadas por isso. Agradeço aos melhores companheiros de laboratório que eu poderia ter: Igor Leal e Andreza Negreli. Vocês tornaram esse processo possível com toda a paciência (contém ironia), amor e carinho que têm. Sou tão grata por nossos caminhos terem se cruzado e levo comigo tantas boas memórias de nossa convivência. Vocês são ótimos pesquisadores, orientadores, colegas de trabalho e pessoas.

Agradeço também aos meus amigos da graduação, João Gabriel Rocci, Matheus Sthanley, Janaína Dias, Julia das Mercês e Maria Eduarda Depetriz. Sem vocês, o caminho teria sido muito mais difícil. Amo vocês, nunca vou me esquecer dos nossos últimos dias no Pantanal. Foi uma experiência muito especial. Carrego cada um de vocês em portarretratos e dentro do meu coração.

RESUMO

O *zebrafish* (*Danio rerio*) emergiu como um modelo biológico para o estudo de doenças desde a década de 80, devido a diversas vantagens em relação ao uso de outros animais. Esse modelo tem sido amplamente utilizado para investigar doenças neurológicas, uma vez que compartilha características do sistema nervoso com mamíferos, incluindo o sistema purinérgico, colinérgico e a enzima Na⁺,K⁺-ATPase. Por esse motivo, este animal é utilizado como modelo na compreensão de doenças neurológicas, tais como a doença de Alzheimer (DA), a doença de Huntington (DH) e a doença de Parkinson (DP). O objetivo deste trabalho foi revisar de forma sistemática o uso do *zebrafish* como modelo para o estudo de doenças neurológicas com seus mecanismos envolvidos nos sistemas purinérgico, colinérgico e Na⁺,K⁺-ATPase afim de evidenciar as contribuições para o entendimento dos mecanismos moleculares associados a neuropatologias e como esses sistemas influenciam o desenvolvimento, a progressão e as possíveis abordagens terapêuticas em humanos. A revisão foi conduzida seguindo as diretrizes do guia PRISMA 2020 sendo adaptada as necessidades do projeto. Ao todo, foram selecionados 27 artigos que abordam doenças neurológicas associadas a esses sistemas e investigadas no *zebrafish*. Os resultados indicaram que o peixe tem sido amplamente utilizado para estudar a progressão de doenças, identificar os mecanismos patogênicos e testar possíveis tratamentos e medicamentos para doenças neurológicas humanas, tais como a DA, a DP e a DH. Esses achados reforçam o potencial do animal como modelo no desenvolvimento de terapias e no estudo de doenças neurológicas complexas que afetam a sociedade.

Palavras-chave: sistemas neuroquímicos; peixe-zebra; neurodegeneração;

ABSTRACT

The zebrafish (*Danio rerio*) has emerged as a biological model for studying diseases since the 80s, offering several advantages over the use of other animals. This model has been widely used to investigate neurological disorders, as it shares features of the nervous system with mammals, including the purinergic system, the cholinergic system, and the enzyme Na⁺,K⁺-ATPase. For this reason, zebrafish are employed as a model to understand neurological disorders such as Alzheimer's disease (AD), Huntington's disease (HD), and Parkinson's disease (PD). The aim of this study was to systematically review the use of zebrafish as a model for studying neurological diseases and the mechanisms involved in the purinergic and cholinergic systems, as well as Na⁺,K⁺-ATPase, to highlight their contributions to understanding the molecular mechanisms associated with neuropathology's. Additionally, the study explored how these systems influence the development, progression, and potential therapeutic approaches for human diseases. The review was conducted following the PRISMA 2020 guidelines, with adaptations to meet the project's requirements. A total of 27 articles focusing on neurological diseases linked to these systems and investigated in zebrafish were selected. The results indicated that zebrafish have been widely used to study disease progression, identify pathogenic mechanisms, and test potential treatments and drugs for human neurological diseases, such as AD, PD, and HD. These findings emphasize the animal's potential as a model in developing therapies and studying complex neurological diseases that impact society.

Keywords: Neurochemical systems; zebrafish; neurodegeneration.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	acetilcolina
AChE	acetilcolinesterase
ADO	adenosina
ADP	adenosina difosfato
AMP	adenosina monofosfato
AP	fosfatase alcalina
APP	proteína precursora da β -amiloide
ATP	adenosina trifosfato
BuChE	butirilcolinesterase
cAMP	AMP cíclico
ChAT	colina acetiltransferase
DA	doença de Alzheimer
DH	doença de Huntington
DNA	ácido desoxirribonucleico (do Inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DP	doença de Parkinson
E-5'-NT	ecto-5'-nucleotidase
E-ADA	ecto-adenosina desaminase
ENPPs	ectonucleotídeo pirofosfatases/ fosfodiesterases
E-NTPDases	ectonucleosídeo trifosfato difosfohidrolases
GABA	ácido gama-aminobutírico
GFP	proteína verde fluorescente (do Inglês, <i>Green Fluorescent Protein</i>)
GSK3 β	glicogênio sintase quinase-3 β
HsAPP	gene humano da proteína precursora da β -amiloide
HTT	gene <i>huntingtin</i>
INO	inosina
LCR	líquido cefalorraquidiano
mAChR	receptores muscarínicos de acetilcolina
mHTT	proteína huntingtina mutante
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
nAChR	receptores nicotínicos de acetilcolina
NCX	trocador sódio-cálcio
NKA	Na ⁺ , K ⁺ -ATPase
NMDA	N-metil D-Aspartato
NMP	nucleotídeos monofosfatados
NTP	nucleotídeos trifosfatados
PTZ	pentilenotetrazol
RPD	distonia-parkinsoniana de início rápido
SCN1A	canal de sódio voltagem dependente Nav1.1
SNA	sistema nervoso autônomo
SNC	sistema nervoso central
SNP	sistema nervoso periférico
SNS	sistema nervoso somático
TNF- α	fator de necrose tumoral- <i>alfa</i>
UDP	uracila difosfato
UTP	uracila trifosfato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.1. SELEÇÃO DE BASES DE DADOS E TERMOS DE BUSCA.....	19
2.2. TRIAGEM – CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	19
2.3. COLETA DE DADOS.....	20
2.4. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS COLETADOS	20
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
3.1. ZEBRAFISH E DOENÇAS NEUROLÓGICAS	23
3.1.1. Doença de Alzheimer	23
3.1.2. Doença de Parkinson.....	24
3.1.3. Epilepsia	26
3.1.4. Doença de Huntington	27
3.1.5. Outras doenças neurológicas	28
3.2. DOENÇAS NEUROLÓGICAS RELACIONADAS AO SISTEMA PURINÉRGICO EM ZEBRAFISH.....	29
3.3. DOENÇAS NEUROLÓGICAS RELACIONADAS AO SISTEMA COLINÉRGICO EM ZEBRAFISH.....	32
3.4. DOENÇAS NEUROLÓGICAS RELACIONADAS A Na^+,K^+ -ATPASE (NKA) EM ZEBRAFISH.....	33
4. CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS	37
ANEXO I.....	48

1. INTRODUÇÃO

O *Danio rerio* (Hamilton, 1822) (Fig. 1), conhecido como *zebrafish* (em português, peixe-zebra), um teleósteo tropical de água doce da família Cyprinidae, foi introduzido na pesquisa biológica por George Streisinger na década de 1980 (STREISINGER et al., 1981), consolidando-se como um modelo biológico desde então. Este modelo apresenta vantagens em relação aos modelos tradicionais, como os murinos, pois inclui a produção de muitos embriões, transparência óptica durante o desenvolvimento e genoma diplóide (DRAPER et al., 2004; HAFFTER et al., 1996; MULLINS et al., 1994). Atualmente, o peixe destaca-se na investigação de doenças humanas devido ao seu alto grau de conservação na sequência de DNA, em que pesquisas de sequenciamento demonstraram que para mais de 70% dos genes humanos, existem genes correspondentes (ou ortólogos) no genoma do peixe, incluindo muitos associados a doenças neurodegenerativas (HOWE et al., 2013; WASEL; FREEMAN, 2020; ZHU; GOODHILL, 2023).



Figura 1. *Zebrafish*. Fonte: Noren, M. *Fishbase*

A aplicação do *zebrafish* na neurociência tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas, devido à sua semelhança com os humanos na morfologia do sistema nervoso (HOWE et al., 2013; KOZOL et al., 2016a; POSTLETHWAIT et al., 2000; SCHMIDT; STRÄHLE; SCHOLPP, 2013). Com desenvolvimento rápido e vida relativamente longa, o peixe é muito utilizado como modelo biológico para mimetizar diversos distúrbios cerebrais humanos (KUIL et al., 2021; SHAHNAWAZ AHMED et al., 2023). O animal atinge a maturidade sexual em 12 semanas e produz centenas de embriões semanalmente, permitindo experimentos desde o estágio unicelular. Neste estágio, o encéfalo do animal apresenta semelhanças estruturais e funcionais

com o encéfalo de mamíferos, incluindo circuitos neurais e sistemas de neurotransmissores conservados, tais como dopaminérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, glutamatérgicos e GABAérgicos (KASLIN; PANULA, 2001; PANULA et al., 2006; WASEL; FREEMAN, 2020).

O sistema nervoso de mamíferos e peixes teleósteos é dividido em duas principais partes: o sistema nervoso central (SNC) e o sistema nervoso periférico (SNP) (CHIA et al., 2022). O SNC é responsável por processar e integrar informações, enquanto o SNP conecta o SNC aos órgãos e tecidos periféricos (SOUSA et al., 2017; STEWART et al., 2014). Em vertebrados, incluindo os mamíferos e os peixes teleósteos, grupo do qual o *zebrafish* faz parte, o SNC é subdividido em quatro principais regiões: telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo (Fig. 2). Essas divisões desempenham funções cognitivas, endócrinas, homeostáticas e motoras essenciais para o organismo (BLADER, 2000b; MUELLER; VERNIER; WULLIMANN, 2004; NELSON; GRANATO, 2022; PEARSON, 1991).

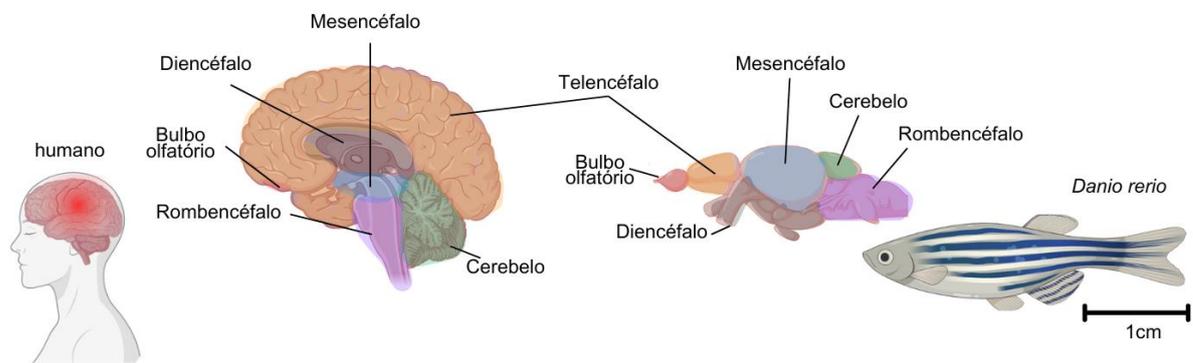


Figura 2. Comparação anatômica entre as principais estruturas do encéfalo humano e do *zebrafish*, destacando semelhanças entre as regiões encefálicas: telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, rombencéfalo, bulbo olfatório e cerebelo. Imagem de autoria própria produzida no *software* BioRender.

No *zebrafish*, algumas regiões do encéfalo são organizadas de maneira semelhante às dos mamíferos, mas outras apresentam diferenças anatômicas significativas devido à sua estrutura neural única (KALUEFF; STEWART; GERLAI, 2014a; ULLMANN et al., 2010). Por exemplo, o telencéfalo do peixe passa por um processo de inversão, em vez da evaginação observada em mamíferos e outros vertebrados não teleósteos. Essa inversão resulta em um telencéfalo invertido, com regiões homólogas à amígdala e ao hipocampo localizadas na superfície do encéfalo, sob um único ventrículo do telencéfalo, contrastando com os dois ventrículos laterais

dos mamíferos (GANZ et al., 2012). O *zebrafish* possui tipos variados de células da glia, tais como os astrócitos, micróglia e oligodendrócitos, desempenhando funções semelhantes às observadas em mamíferos (CASANO; PERI, 2015; COSACAK et al., 2019; LYONS; TALBOT, 2015; THAN-TRONG; BALLY-CUIF, 2015).

Essas semelhanças e diferenças tornam o *zebrafish* um modelo para estudar doenças neurológicas. As técnicas de imagem e manipulação genética aplicadas ao peixe permitem a visualização e análise detalhada do SNC em desenvolvimento e em adultos, facilitando a identificação de anomalias associadas a diversas doenças (GHADDAR; DIOTEL, 2022; KALUEFF; STEWART; GERLAI, 2014b; KOZOL et al., 2016b). Embora o peixe-zebra não seja transparente em sua fase adulta, a alta transparência dos embriões e larvas possibilita a observação direta de estruturas encefálicas e o estudo das interações celulares e processos patológicos em tempo real (JACOBS; RYU, 2023; QUINLIVAN; FARBER, 2017). Assim, o *zebrafish* serve como modelo para compreender as bases genéticas e funcionais das doenças neurológicas, contribuindo para o avanço da neurociência e a descoberta de novas terapias.

As doenças neurológicas representam um desafio para a sociedade, não apenas devido ao sofrimento individual que causam, mas também pelo impacto social e econômico (KLEINMAN et al., 2016; LIMA et al., 2022). Distúrbios tais como a epilepsia, a doença de Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (DP) e a doença de Huntington (DH) são algumas das condições neurológicas e psiquiátricas mais comuns e debilitantes (DEUSCHL et al., 2020; SZOT, 2012). Neste sentido, existem estudos com diferentes modelos experimentais que buscam entender a patogênese de doenças neurodegenerativas. Para compreender os mecanismos associados às doenças, é essencial explorar como diferentes sistemas neuroquímicos, tais como o sistema purinérgico, o sistema colinérgico e a enzima Na^+ , K^+ -ATPase (NKA) contribuem para a homeostase neural e para o desenvolvimento de distúrbios neurológicos utilizando o *zebrafish* como modelo experimental. Esses sistemas desempenham papéis na neurotransmissão, na regulação da excitabilidade neuronal e na manutenção do equilíbrio iônico, todos fundamentais para o funcionamento do sistema nervoso (BURNSTOCK, 2020; FEDOSOVA; HABECK; NISSEN, 2021; MARTÍNEZ-MEZA et al., 2023).

O sistema purinérgico (Fig. 3) é um sistema de biossinalização composto por nucleotídeos e nucleosídeos extracelulares, tanto purínicos quanto pirimídicos que são resultantes da hidrólise por ectoenzimas e/ou pela liberação por canais transportadores de membrana e que ativam os receptores purinérgicos (BURNSTOCK, 2020; HUANG *et al.*, 2021). Sistemas celulares, no geral, englobam os componentes do complexo de sinalização purinérgica e a investigação intensiva concentra-se nos mecanismos subjacentes à liberação extracelular desses nucleotídeos e nucleosídeos. Estudos recentes também abordam a fisiologia, farmacologia e bioquímica associadas à sinalização com a atenção voltada para a compreensão de patofisiologias e o potencial terapêutico dos que tem como alvo o sistema purinérgico (CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021, PATRITTI-CRAM *et al.*, 2021; ZARRINMAYEH; TERRITO, 2020).

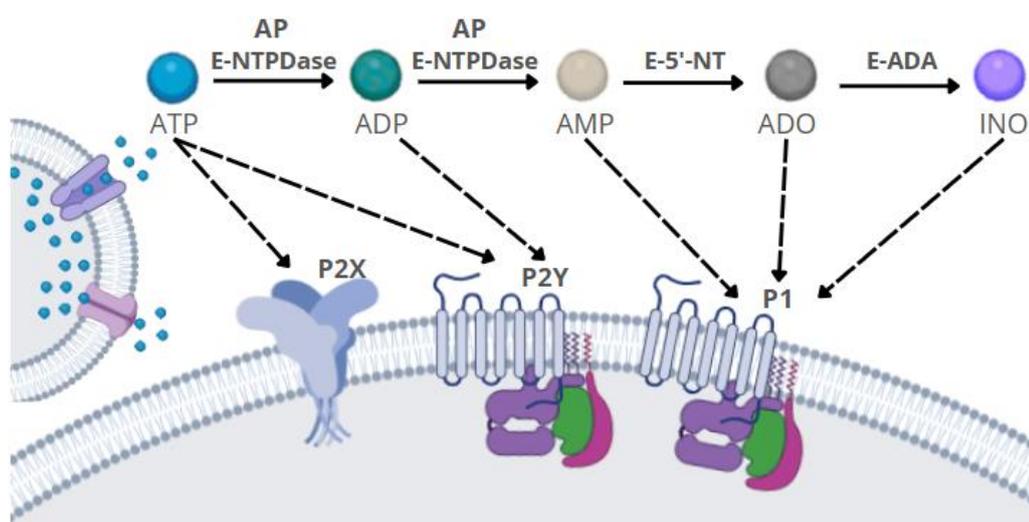


Figura 3. Representação do sistema purinérgico, destacando o metabolismo de nucleotídeos de adenina mediado pelas ectonucleotidases: E-NTPDase, AP (fosfatase alcalina), E-5'-nucleotidase e ectoadenosina desaminase (E-ADA), além da interação dos metabólitos com os receptores purinérgicos das famílias P2 (P2X e P2Y) e P1. Imagem de autoria própria produzida no *software* BioRender.

Os nucleotídeos e nucleosídeos são as moléculas moduladoras do sistema purinérgico. Em 1972, Geoffrey Burnstock revelou não apenas a ação da adenosina trifosfato (ATP) como uma molécula sinalizadora, mas também a influência de seus produtos adenilados, como: a adenosina difosfato (ADP), a adenosina monofosfato (AMP), a adenosina (ADO) e a inosina (INO) (BURNSTOCK, 1972; 2020; BURNSTOCK *et al.*, 1970). A regulação desse sistema não se limita aos derivados de

nucleotídeos purínicos, mas também ocorre pelos nucleotídeos pirimidínicos, alguns ligados à açúcares, tais como a uracila trifosfato (UTP), a uracila difosfato (UDP), a UDP-glicose, entre outros. Essas moléculas participam de uma variedade de processos fisiológicos e patofisiológicos, como a sinalização neuronal, crescimento neurítico, regulação da sobrevivência celular, DA, depressão e distúrbios do sono (RALEVIC; BURNSTOCK, 1998; RATHBONE *et al.*, 1999; RIBEIRO *et al.*, 2023). A atividade de ectoenzimas, modula a concentração extracelular dos nucleotídeos e nucleosídeos, que emergem como agonistas dos receptores purinérgicos (BURNSTOCK, 1972; DI LIDDO; GOTTARDI, 2024; ZIMMERMANN, 2021).

A descoberta do papel sinalizador dos nucleotídeos e nucleosídeos levou à identificação de receptores de membrana associados a essa sinalização, conhecidos como purinoreceptores. Burnstock, em 1976, foi pioneiro em descrevê-los e posteriormente distingui-los em duas famílias: a dos receptores P1, ativados principalmente por ADO; e a família dos receptores P2, ativados principalmente por ATP e ADP (Al *et al.*, 2023; BURNSTOCK, 1976, 2007). Os receptores P1 (A₁, A_{2A}, A_{2B} e A₃) são metabotrópicos (acoplados à diferentes proteínas G) e respondem principalmente à ADO, ativando vias específicas, tais como a inibição ou ativação da adenilato ciclase e a ativação da fosfolipase C (RALEVIC; BURNSTOCK, 1998). O receptor A₁ também é ativado pelo AMP, que se liga com afinidade semelhante à ADO (RITTINER *et al.*, 2012). Os receptores P2 incluem subtipos metabotrópicos (P2Y) e ionotrópicos (P2X, canais iônicos) que desencadeiam respostas variadas, como a inativação da adenilato ciclase e a modulação de canais iônicos na membrana plasmática. O desenvolvimento de novas pesquisas revelou subtipos de receptores e suas implicações fisiológicas e patológicas (Al *et al.*, 2023; DI LIDDO; GOTTARDI, 2024; ILLES *et al.*, 2023). E toda essa complexidade reflete a diversidade funcional e regulatória do sistema purinérgico (BURNSTOCK, 2018; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998; DI VIRGILIO; SARTI; COUTINHO-SILVA, 2020).

Ainda no âmbito da sinalização purinérgica, as ectoenzimas hidrolizam de nucleotídeos e nucleosídeos e controlam a sinalização gerada pelos mesmos. Essas enzimas tem o seu sítio catalítico voltado para o meio extracelular e se distribuem em formas distintas, dentre eles destacam-se: as fosfatases alcalinas (AP, do inglês *alkaline phosphatase*, EC 3.1.3.1) com isoformas tecido específicas que hidrolisam sequencialmente NTPs até os seus respectivos nucleosídeos; as ectonucleosídeo

trifosfato difosfohidrolases (E-NTPDases; EC 3.6.1.5) que catalisam a hidrólise sequencial de NTPs até os respectivos NMPs; as ecto-5'-nucleotidase (E-5'-NT, EC 3.1.3.5) que realizam a hidrólise de NMPs aos seus respectivos nucleosídeos; e as ecto-adenosina desaminases (E-ADA, EC 3.5.4.4) que participam da desaminação por hidrólise da ADO em INO (ATKINSON et al., 2006; CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021; ZIMMERMANN, 2020, 2021). Essa rede enzimática desempenha papéis cruciais na manutenção da homeostase celular e na resposta a estímulos diversos tais como infecção e processos inflamatórios que podem ser desencadeados por doenças neurológicas (CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021).

O SNC é composto pelo encéfalo, cerebelo e pela medula espinhal, enquanto o SNP abrange todos os outros tecidos nervosos. O SNP é subdividido em sistema nervoso autônomo (SNA), responsável por processos involuntários, e sistema nervoso somático (SNS), encarregado da interpretação sensorial e coordenação de movimentos voluntários. O SNA pode ainda ser dividido com base no seu sistema de sinalização: o sistema adrenérgico em que as respostas são baseadas a partir da liberação de catecolaminas; e o colinérgico (Fig. 4) em que o neurotransmissor acetilcolina (ACh) regula diversas funções cerebrais, incluindo processamento sensorial, atenção, sono, aprendizagem, memória e excitação ao ativar os receptores muscarínicos (mAChR) e os nicotínicos (nAChR) (WAXENBAUM; REDDY; VARACALLO, 2024; MARTÍNEZ-MEZA et al., 2023, ABREU-VILLAÇA; FILGUEIRAS; MANHÃES, 2011).

As enzimas colinesterases, tais como a acetilcolinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) e a butirilcolinesterase (BuChE, EC 3.1.1.8), desempenham um papel crucial na regulação da sinalização colinérgica por meio da hidrólise da ACh em colina e acetato (ABREU-VILLAÇA; FILGUEIRAS; MANHÃES, 2011; ORHAN et al., 2018). A AChE é uma enzima do tipo serina hidrolase, com sua expressão em diferentes órgãos, tecidos e tipos celulares. Sua atividade está relacionada ao funcionamento neural, para a regulação de funções das células gliais, desempenhando um papel central na propagação do potencial de ação neuronal ao catalisar a hidrólise da ACh, inativando-a e regulando a sua concentração (MEDINA-ORTIZ et al., 2023; ORHAN et al., 2018; COLOVIC et al., 2013; LUQUE; MUÑOZ-TORRERO, 2024; PEZZEMENTI; NACHON; CHATONNET, 2011). Seu bloqueio abrupto é letal, e sua perda gradual leva a atrofia de múltiplos sistemas e outras condições, estando associada à deterioração

progressiva das funções cognitivas, autonômicas, neuromusculares e a doenças neurológicas (SOREQ; SEIDMAN, 2001). A ACh modula respostas neuroquímicas no sistema nervoso (QUINN, 1987) e a sua hidrólise também pode ser catalisada pela BuChE, uma enzima com menor especificidade pelo neurotransmissor, presente predominantemente no plasma sanguíneo (LUQUE; MUÑOZ-TORRERO, 2024; SOREQ; SEIDMAN, 2001).

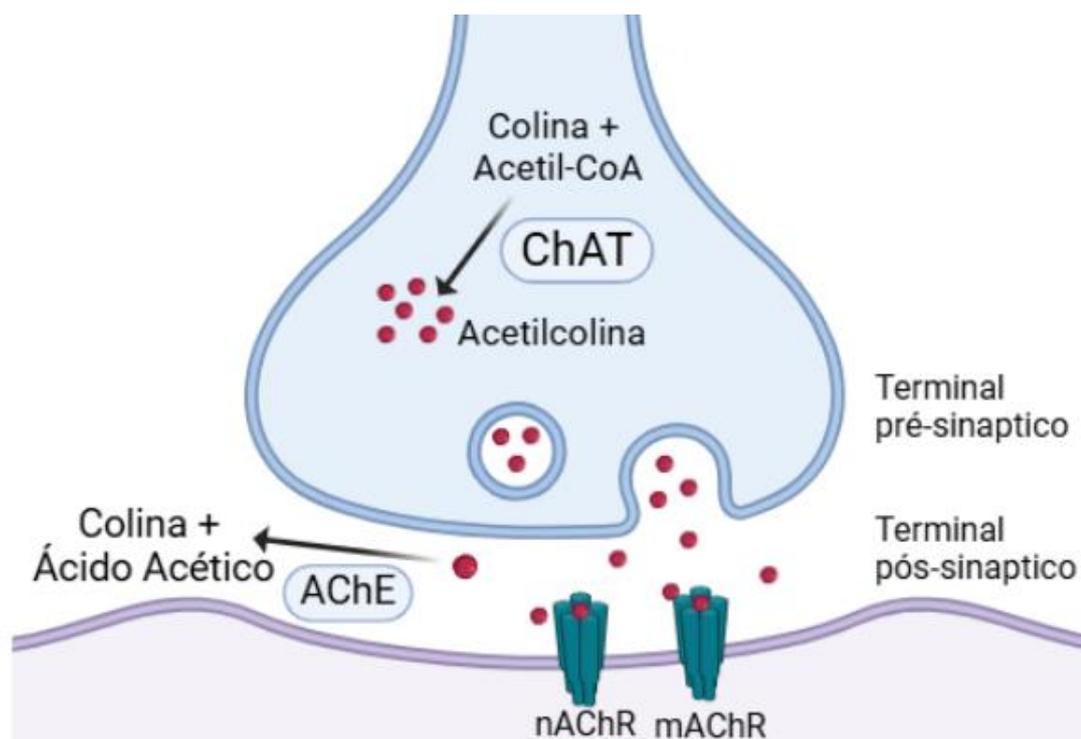


Figura 4. Representação do sistema colinérgico, evidenciando a síntese, liberação e degradação de acetilcolina (ACh), assim como a interação com receptores colinérgicos nicotínicos (nAChR) e muscarínicos (mAChR). Imagem de autoria própria produzida no *software* BioRender.

A Na^+ , K^+ -ATPase, ou NKA (EC 7.2.2.13), é uma enzima pertencente à superfamília das ATPases do tipo P, responsável pelo transporte assimétrico de 3 íons Na^+ e dois K^+ através da membrana plasmática na maioria dos eucariotos (Fig. 5). Ela desempenha um papel fundamental na manutenção do equilíbrio iônico celular e participa diretamente do potencial de ação e de repouso nos neurônios, o que é essencial para a excitabilidade elétrica de células nervosas e musculares, bem como para o transporte ativo secundário. Além disso, a enzima cria um gradiente de Na^+ que é utilizado por outros transportadores acoplados ao Na^+ , influenciando processos como a extrusão de Ca^{2+} (HORISBERGER, 2004; KAPLAN, 2002; GALVA; ARTIGAS; GATTO, 2012).

A NKA é composta por três subunidades: a subunidade α , que possui quatro isoformas (α 1-4) (LINGREL et al., 2007) e é responsável pela atividade catalítica e pelo transporte de íons, a subunidade β com três isoformas (β 1-3) que tem função na estabilização e funcionalidade da enzima, e a subunidade reguladora γ , ou FXYD (CLAUSEN; HILBERS; POULSEN, 2017). No encéfalo humano, diferentes isoformas da NKA interagem com proteínas da membrana, células adjacentes e participam de cascatas de sinalização para transmitir sinais intracelulares (SHRIVASTAVA; TRILLER; MELKI, 2020). As membranas celulares de células do sistema nervoso apresentam isoformas específicas como a α 3 expressa exclusivamente em neurônios, a α 2 em células da glia e a α 1 expressa em ambos os tipos celulares (LARSEN; STOICA; MACAULAY, 2016; MURATA et al., 2020) e essas características conferem à enzima a capacidade de gerar sinais específicos em diferentes tecidos e organismos, o que a torna um alvo para o estudo de doenças neurológicas (LARSEN; STOICA; MACAULAY, 2016).

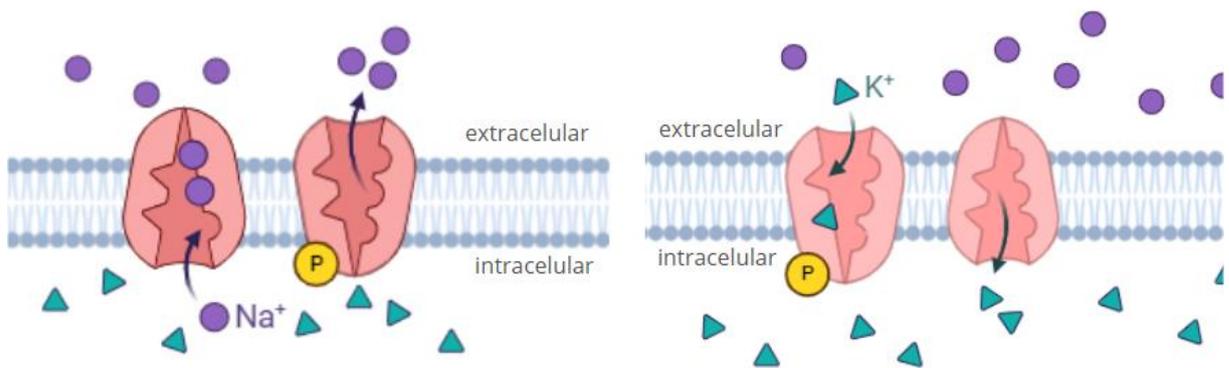


Figura 5. Representação da bomba de sódio e potássio (Na^+, K^+ -ATPase), demonstrando o transporte ativo de íons: três íons sódio (Na^+) são transportados do meio intracelular para o extracelular enquanto dois íons potássio (K^+) são transportados do meio extracelular para o intracelular, utilizando energia proveniente da hidrólise de ATP. Imagem de autoria própria produzida no *software* BioRender.

2. OBJETIVOS

Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática sobre o papel do zebrafish como modelo animal no estudo de doenças neurológicas, com foco nos sistemas purinérgico, colinérgico e na enzima $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ (NKA) (Fig. 6). A escolha desses temas baseou-se na relevância de cada sistema para o entendimento dos mecanismos moleculares associados a doenças neurológicas. Embora já existam revisões recentes que exploram o sistema purinérgico e sua relação com doenças neurológicas em zebrafish, e algumas revisões abordem o sistema colinérgico no contexto desse modelo, não foram encontrados trabalhos na literatura que revisem especificamente o papel da $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$ em doenças neurológicas utilizando zebrafish.

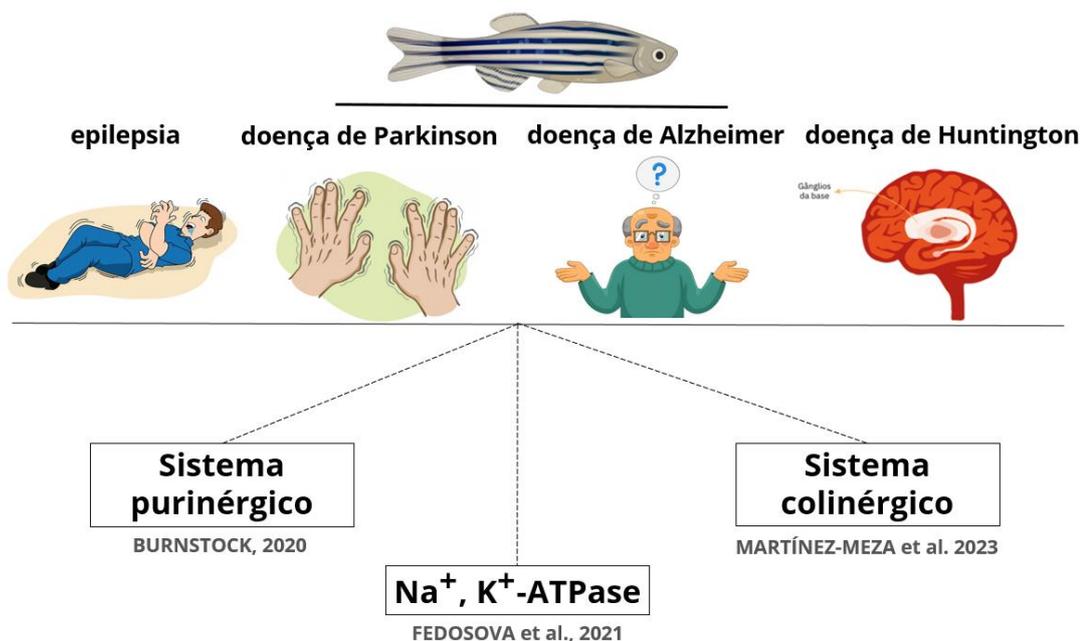


Figura 6. Organograma evidenciando os objetivos do trabalho, que foi explorar as doenças neurológicas modeladas no *zebrafish* e como elas afetam a homeostase de sistemas neuroquímicos, incluindo o sistema purinérgico, o sistema colinérgico e a enzima $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{-ATPase}$. As doenças abordadas incluem epilepsia, doença de Parkinson, doença de Alzheimer e doença de Huntington. Imagem de autoria própria.

Nesse sentido, este trabalho busca não apenas sintetizar e comparar informações disponíveis sobre os sistemas purinérgico e colinérgico, mas também preencher a lacuna de conhecimento sobre a NKA nesse contexto. A proposta desta revisão é evidenciar como esses sistemas influenciam o desenvolvimento, a progressão e as possíveis abordagens terapêuticas em humanos, destacando as contribuições do

zebrafish como modelo para estudos de doenças neurológicas e avançando na compreensão de mecanismos ainda pouco explorados na literatura.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo empregou uma abordagem adaptada de revisão sistemática da literatura, utilizando como referência o guia *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (PRISMA) 2020, que oferece diretrizes para revisões e meta-análises por meio de um checklist composto por 27 itens e um fluxograma de quatro etapas. As recomendações do protocolo foram seguidas, adaptadas às exigências do projeto e divididas em quatro fases principais: 1) seleção de bases de dados e termos de busca; 2) triagem com os critérios de inclusão e exclusão; 3) coleta de dados dos artigos selecionados; e 4) análise e interpretação dos dados coletados.

3.1. SELEÇÃO DE BASES DE DADOS E TERMOS DE BUSCA

Para a busca de dados, foram escolhidas plataformas de acesso aberto e institucional que possibilitam a pesquisa por palavras-chave e a delimitação temporal. As consultas nas plataformas de dados ocorreram semanalmente, durante o mês de setembro de 2024. As plataformas selecionadas foram PubMed, Scopus e Periódicos Capes. Para a seleção dos estudos relacionados à interação entre *zebrafish* e os aspectos neurológicos de interesse, incluindo o sistema purinérgico, colinérgico e a NKA, foram definidos os seguintes termos de busca:

- 1) *Zebrafish + neurological diseases*
- 2) *Zebrafish + purinergic system*
- 3) *Zebrafish + cholinergic system*
- 4) *Zebrafish + Na⁺, K⁺-ATPase*

3.2. TRIAGEM – CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram considerados estudos em inglês, que apresentassem os termos de busca no título, resumo ou palavras-chave. O período de publicação dos artigos não foi limitado, uma vez que o estudo se trata de uma revisão específica, na qual foram utilizados tanto artigos pioneiros quanto pesquisas recentes, com ênfase nos estudos atuais. A inclusão de artigos mais antigos foi considerada relevante para compreender a evolução do campo e estabelecer uma base sólida do que foi descrito. Após essa triagem inicial, os resumos foram revisados e os estudos selecionados com base no tema pesquisado para garantir a relevância do estudo.

2.3. COLETA DE DADOS

Após a leitura detalhada dos resumos, os estudos selecionados foram completamente revisados para extrair informações relevantes, tais como objetivo, principais resultados e outros aspectos destacados.

2.4. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS COLETADOS

Na última etapa, os dados foram submetidos a uma análise crítica, buscando reunir o conhecimento presente nos estudos, identificar concordâncias e divergências, e destacar áreas que necessitam de maior investigação. As informações foram apresentadas de forma textual, sintetizando os principais tópicos abordados nas pesquisas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado da seleção, análise e interpretação dos dados, foram selecionados 27 artigos científicos norteadores a partir das bases de dados previamente determinadas (Tabela 1, Anexo I). Durante o processo de triagem foram utilizados os filtros de pesquisa das bases de dados para excluir artigos que eram revisões científicas e então foi realizada uma análise dos títulos e resumos que apareciam repetidos em diferentes bases de pesquisa. No total, foram encontrados 495 artigos relacionados ao zebrafish e doenças neurológicas publicados desde 1999 (Figura 7A), 60 artigos sobre zebrafish e o sistema purinérgico desde 2004 (Figura 7B), 210 artigos envolvendo zebrafish e o sistema colinérgico desde 2000 (Figura 7C) e 168 artigos relacionando zebrafish e NKA desde 1996 (Figura 7D).

Após a seleção inicial, os artigos foram analisados e os principais tópicos foram categorizados: *zebrafish* e doenças neurológicas, doenças neurológicas relacionadas ao sistema purinérgico em *zebrafish*, doenças neurológicas relacionadas ao sistema colinérgico em *zebrafish*, doenças neurológicas relacionadas à NKA em *zebrafish*. Para a síntese dos resultados, além dos artigos selecionados nas plataformas, foram consultadas outras referências que complementaram e subsidiaram a interpretação dos dados, proporcionando uma visão mais esclarecedora sobre o papel do *zebrafish* no estudo de doenças neurológicas. Este processo garantiu que as informações fossem organizadas de maneira clara, facilitando a compreensão dos sistemas estudados no contexto das neuropatologias abordadas.

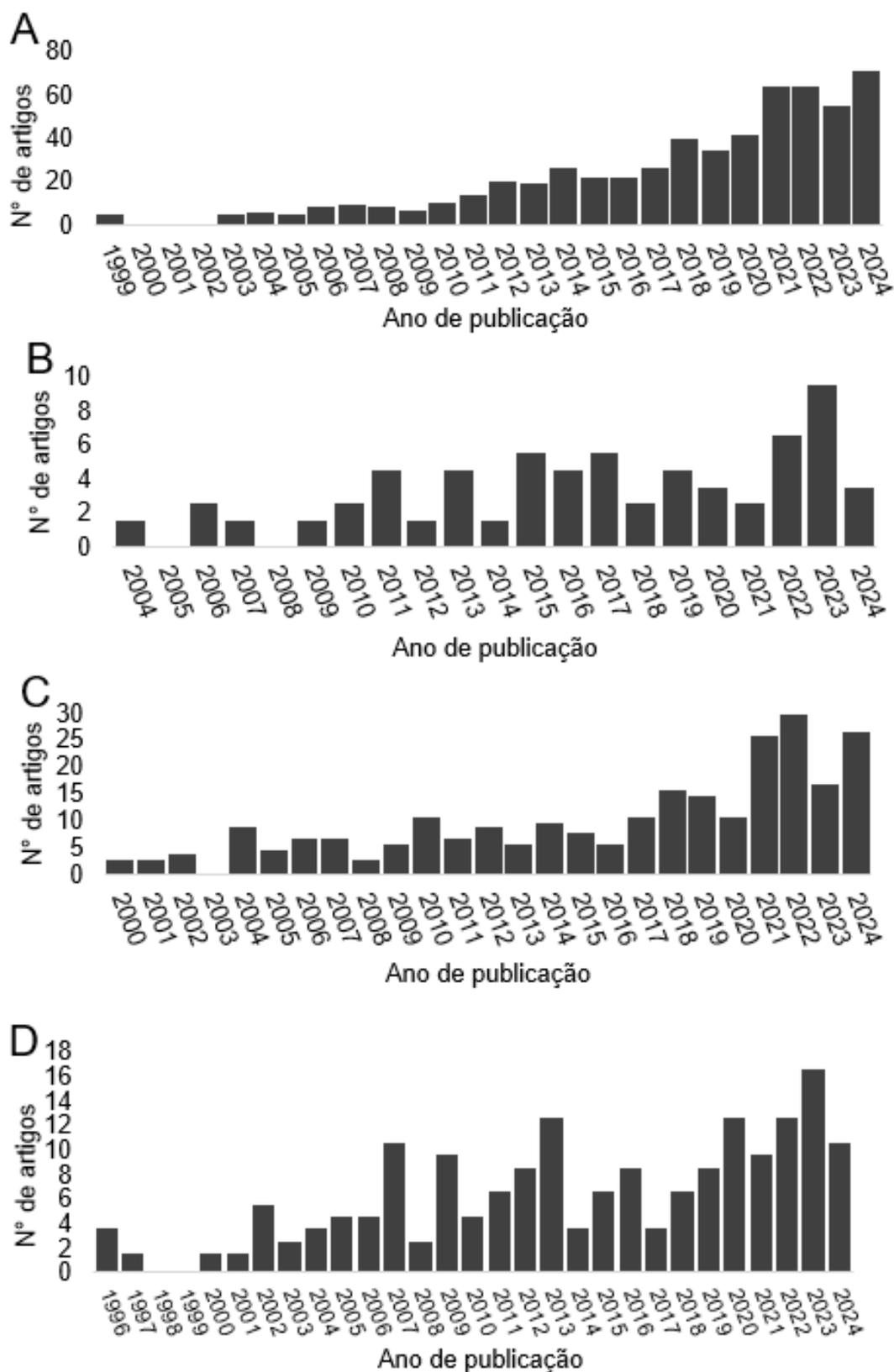


Figura 7. Distribuição temporal do número de publicações científicas relacionadas ao uso do *zebrafish* nos diferentes contextos do estudo: (A) *zebrafish* e doenças neurológicas (1999-2024), (B) *zebrafish* e sistema purinérgico (2004-2024), (C) *zebrafish* e sistema colinérgico (2000-2024) e (D) *zebrafish* e Na⁺, K⁺-ATPase (1996-2024). Os dados foram obtidos a partir de buscas realizadas nas bases de dados determinadas.

3.1. ZEBRAFISH E DOENÇAS NEUROLÓGICAS

3.1.1. Doença de Alzheimer

A DA é uma doença neurodegenerativa progressiva e irreversível, sendo um dos tipos de demência mais comuns que acometem a sociedade, marcada por um início gradual que leva à perda de memória e múltiplos déficits cognitivos (KNOPMAN et al., 2021). Sob o aspecto neuropatológico, observa-se uma atrofia cortical difusa, acompanhada de placas senis,ovelos neurofibrilares, degenerações grânulo-vacuolares e perda neuronal. O acúmulo de proteína β -amiloide nas placas senis e a fosforilação anormal da proteína tau nosovelos neurofibrilares são marcas histológicas da doença (LANE; HARDY; SCHOTT, 2018; MASTERS et al., 2015). As manifestações clínicas incluem perda progressiva da memória episódica e comprometimento das funções executivas. Além disso, ativação da glia e processos inflamatórios contribuem para a progressão da doença (REF). Essas alterações resultam em perda sináptica e morte neuronal, especialmente em regiões como o córtex cerebral, hipocampo e córtex entorrinal, frequentemente associadas ao envelhecimento (KNOPMAN et al., 2021).

A utilização do *zebrafish* como modelo para o estudo da DA apresenta vantagens significativas, como apresentado por Musa; Lehrach & Russo (2001), pois nesse modelo foram identificados dois homólogos da proteína precursora da β -amiloide (APP), denominados appa e appb, com cerca de 70% de similaridade com a APP humana. Cerca de 10% dos casos de DA estão associados a mutações autossômicas dominantes em três genes, dentre eles, o gene humano da proteína precursora da β -amiloide (HsAPP) (MURPHY; LEVINE, 2010). Essa similaridade permite a investigação de mecanismos patológicos da DA no modelo animal e a expressão de appa e appb permite o estudo da progressão da doença, possibilitando a avaliação dos efeitos de mutações associadas e a sua contribuição para a formação de placas amiloides.

O papel da proteína tau no *zebrafish*, cuja agregação é um marcador característico da DA (MURALIDAR et al., 2020), foi investigado por Wu et al., (2016). Os autores implementaram um sistema de expressão de proteínas de fusão GFP (*Green Fluorescent Protein*) de tau de *zebrafish* e humana, o que permitiu a visualização direta dos efeitos neurotóxicos da proteína em neurônios. Um sistema de monitoramento em tempo real possibilitou a avaliação da morte celular induzida pela

tau-GFP, que é um aspecto central na patologia da DA. Os resultados também indicam que fatores de sinalização como Bcl2-L1, que atua como um antiapoptótico e o Nrf2, que atua na defesa contra o estresse oxidativo, podem proteger células neuronais da morte induzida pela tau-GFP, sugerindo que o peixe não apenas serve como um modelo para estudar a neurodegeneração, mas também como uma plataforma para a triagem de agentes neuroprotetores. Essa abordagem pode levar à descoberta de novas intervenções terapêuticas que mitiguem os efeitos neurotóxicos da tau.

Além disso, estudos sobre déficits de memória em peixe-zebra, como o realizado por Bortolotto et al., (2015), mostram que a escopolamina, um antagonista do mAChR, prejudica o processamento da memória, refletindo aspectos da cognição que podem ser explorados em modelos de DA. O uso de tarefas de esquiva inibitória para avaliar a memória em *zebrafish* adultos demonstrou a aplicabilidade desse modelo para investigar funções cognitivas e comportamentais associadas à doença. A capacidade de quantificar a latência de resposta dos peixes em um ambiente controlado forneceu uma métrica objetiva para avaliar a eficácia de potenciais tratamentos. Portanto, o animal não apenas representa uma ferramenta na pesquisa de biomarcadores da DA, mas também na avaliação de intervenções que possam melhorar a memória e a função cognitiva, se destacando na compreensão e no tratamento da DA.

3.1.2. Doença de Parkinson

A DP é um distúrbio progressivo relativamente comum, que afeta uma significativa parcela da população caracterizada pela presença de bradicinesia e outras características motoras cardinais e que ao longo do tempo, pode resultar em incapacidades severas. A gravidade dos problemas motores resistentes ao tratamento, assim como os sintomas não motores associados, contribuem para um aumento considerável na deficiência geral. Embora o diagnóstico clínico da DP dependa da presença de características motoras, muitos sintomas não motores, tais como alterações cognitivas e emocionais, também são relevantes e podem impactar de maneira significativa na qualidade de vida dos pacientes (DAVIE, 2008; HAYES, 2019)

Os principais traços neuropatológicos da DP incluem a perda neuronal de neurônios dopaminérgicos em áreas específicas da substância negra, responsável

pela produção de dopamina, e a acumulação de α -sinucleína em neurônios, levando à formação dos corpos de *Lewy*. É importante ressaltar que a degeneração neuronal na DP ocorre de forma seletiva em determinados tipos de neurônios em regiões específicas do encéfalo e que embora esses traços não sejam exclusivos da doença, quando considerados em conjunto, essas duas características neuropatológicas são essenciais para um diagnóstico definitivo (DICKSON, 2018). Os mecanismos moleculares que estão por trás da patogênese da DP envolvem várias outras vias, incluindo a função mitocondrial, o estresse oxidativo, a homeostase do cálcio, o transporte axonal e a neuroinflamação (DEXTER; JENNER, 2013; ZENG et al., 2018).

Os modelos de *zebrafish* têm se mostrado fundamentais para o estudo da DP, sendo o transtorno de movimento mais investigado nesse organismo (BARNHILL; MURATA; BRONSTEIN, 2020; BRIÑEZ-GALLEGO et al., 2023; DOYLE; CROLL, 2022). Neste contexto, Lam; Korzh & Strahle, (2005) e McKinley et al., (2005) utilizaram neurotoxinas tais como o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) para induzir a DP em peixes-zebra em diferentes estágios do seu desenvolvimento. O MPTP é conhecido por causar a perda de neurônios dopaminérgicos e provocar parkinsonismo resultando em uma diminuição dos níveis de dopamina, norepinefrina e serotonina, além de comprometimentos na motilidade das larvas do peixe (OMAR; KUMAR; TEOH, 2023). Assim, o uso desse modelo tem permitido a observação de disfunções motoras, tais como a redução da velocidade de natação e comportamentos de natação anormais, que são análogos à bradicinesia observada em pacientes humanos.

Além dos modelos induzidos por neurotoxinas, também existem modelos transgênicos de *zebrafish* que expressam genes mutados, imitando formas autossômicas dominantes ou recessivas da DP como visto em FETT et al., (2010). Esses modelos têm sido usados na triagem de novos compostos terapêuticos, tanto para formas hereditárias quanto idiopáticas da doença. A pesquisa continua a focar em entender como diferentes intervenções podem influenciar a progressão da DP, incluindo a utilização de tratamentos que têm mostrado resgatar a perda de neurônios dopaminérgicos e melhorar a atividade locomotora, simulando os efeitos da doença em humanos. Essa abordagem integrada entre modelos experimentais e farmacológicos é uma ferramenta para o desenvolvimento de novas terapias e intervenções para melhorar a qualidade de vida dos pacientes com DP.

3.1.3. Epilepsia

A epilepsia é um distúrbio neurológico complexo e incapacitante, caracterizado por convulsões recorrentes devido à atividade elétrica anormal no encéfalo. Os mecanismos patológicos são diversos e multifacetados, incluindo fatores genéticos, moleculares e estruturais. Afetando mais de 70 milhões de pessoas globalmente, essa condição traz consequências neurológicas, cognitivas, psicológicas e sociais significativas, e afeta todas as faixas etárias. A incidência apresenta um padrão bimodal, com picos em crianças e idosos, devido à maior frequência de acidentes vasculares cerebrais, doenças neurodegenerativas e tumores nos adultos mais velhos. Além disso, o tratamento da epilepsia é um desafio, pois, embora muitos pacientes consigam controlar as convulsões com medicamentos, cerca de um terço permanece resistente ao tratamento, demandando a investigação de novos modelos experimentais e abordagens terapêuticas (BEGHI, 2020; MOSHÉ et al., 2015)

Pesquisas sugerem que a neuroinflamação desempenha um papel significativo na epileptogênese, especialmente em casos de epilepsia pós-traumática (LI et al., 2023; SUN et al., 2021; VEZZANI; BALOSSO; RAVIZZA, 2019). O fator de necrose tumoral- α (TNF- α), uma citocina pró-inflamatória, tem sido associado ao aumento da suscetibilidade a convulsões. Níveis elevados de TNF- α parecem intensificar a atividade convulsiva, e estudos sugerem que sua supressão pode reduzir a frequência de convulsões, apontando para o TNF- α como um alvo terapêutico em potencial (ARULSAMY; SHAIKH, 2020). Além disso, o estresse oxidativo, particularmente envolvendo a formação de peroxinitrito (ONOO⁻), contribui para a progressão da epilepsia. A presença elevada desse composto está associada a danos neuronais em encéfalos epilépticos, e a sua inibição poderia atenuar tais danos, sugerindo um papel promissor para marcadores de estresse oxidativo no diagnóstico e tratamento da epilepsia (OLOWE et al., 2020).

Para estudar esses mecanismos, o *zebrafish* é importante pois permite a criação de modelos específicos para distúrbios genéticos relacionados à epilepsia. No caso da síndrome de Dravet, uma forma grave de epilepsia infantil causada por mutações no canal de sódio voltagem dependente Nav1.1 (SCN1A). Neste caso foi observado que mutantes de peixe-zebra para o gene *scn1a* mostram déficits similares aos de humanos, como alta sensibilidade a anticonvulsivantes e resistência a

tratamentos. E nesse estudo a transparência óptica do peixe em estágio larval permite o uso de técnicas de imagem para estudar a dinâmica cerebral em tempo real e acompanhar a atividade de células individuais durante as convulsões (BARABAN; DINDAY & HORTOPAN, 2013) .

Além dos modelos genéticos, o *zebrafish* também é amplamente utilizado em estudos de epilepsia induzida por substâncias químicas, como o pentilenotetrazol (PTZ), ácido caínico e pilocarpina, que desencadeiam convulsões de forma controlada e permitem a investigação de déficits cognitivos e comportamentais (CHITOLINA et al., 2023; HEYLEN et al., 2021). Estudos como os de Baraban et al., (2005) e Bertoncello & Bonan, (2023) demonstram que o peixe-zebra exibe sintomas como ansiedade, disfunção social e déficits de memória após convulsões induzidas por PTZ, assim como às comorbidades observadas em pacientes humanos. Esses modelos permitem avaliar os efeitos de medicamentos antiepilépticos, que, embora revertam as convulsões, podem prejudicar funções cognitivas, tais como aprendizado e memória. Dado os fatos discutidos, esse peixe é um sistema para o estudo dos mecanismos fisiopatológicos da epilepsia e para a triagem de novos agentes terapêuticos que possam ajudar no controle das crises epiléticas resistentes aos tratamentos convencionais.

3.1.4. Doença de Huntington

A DH é um distúrbio neurodegenerativo hereditário, causado por uma expansão anômala de repetições CAG (citosina-adenina-guanina) no gene *huntingtin* (HTT), localizado no cromossomo 4 em humanos. Essa mutação resulta na produção da proteína huntingtina mutante (mHTT), que perturba uma série de processos celulares essenciais para o funcionamento do sistema nervoso. A degeneração progressiva causada pela mHTT afeta principalmente as regiões do corpo estriado e do córtex cerebral, levando a déficits motores, comprometimento cognitivo e sintomas psiquiátricos debilitantes. Portanto, a DH é uma doença que afeta a qualidade de vida dos pacientes e apresenta desafios terapêuticos consideráveis (TABRIZI et al., 2020; TABRIZI; GHOSH; LEAVITT, 2019)

O mecanismo fisiopatológico da DH envolve uma complexa interação de processos moleculares e celulares. Entre os principais estão a disfunção mitocondrial, que leva a um aumento do estresse oxidativo e danos neuronais, e a desregulação

transcricional, em que a mHTT interfere nos processos normais de transcrição gênica, contribuindo para a morte neuronal ao inibir a atividade mitocondrial (GUEDES-DIAS et al., 2016). Além disso, a mHTT induz a formação de agregados proteicos que comprometem a proteostase celular, resultando em apoptose. Outro fator relevante é a excitotoxicidade, em que a mutação prejudica o transporte axonal e aumenta a excitabilidade dos neurônios, exacerbando a perda celular (JAROSÍNSKA; RÜDIGER, 2021; LU; PALACINO, 2013). Esses mecanismos em conjunto resultam na progressiva perda de neurônios e no quadro clínico característico da doença.

O peixe-zebra é amplamente utilizado para estudar a DH devido às suas características genéticas e fisiológicas que se assemelham às humanas (DAS; RAJANIKANT, 2014; KUMAR; SINGH; SINGH, 2021; VAZ; OUTEIRO; FERREIRA, 2018). A expressão do gene HTT no *zebrafish* é homóloga à humana, com 70% de identidade na sequência de aminoácidos da proteína, como visto por Karlovich et al., (1998). Essa similaridade faz com que o *zebrafish* seja uma ferramenta para investigar os mecanismos moleculares da DH e avaliar novas abordagens terapêuticas.

Diversas abordagens experimentais no peixe têm revelado aspectos importantes da DH. Modelos com *knockdown* do HTT, como exemplificado por Lumsden et al., (2007), mostram fenótipo com desenvolvimento prejudicado, apresentando olhos pequenos, cabeça subdesenvolvida, pigmentação atrasada e sangue hipocrômico. Essas observações reforçam o papel fundamental do gene na regulação do desenvolvimento e homeostase celular. Além disso, o peixe-zebra também foi utilizado para investigar o papel de fatores neurotróficos, como o BDNF (fator neurotrófico derivado do encéfalo), cuja deficiência está associada à apoptose neuronal em modelos da DH (DIEKMANN et al., 2009). Com esses resultados, o peixe-zebra se posiciona como um modelo capaz de auxiliar os estudos dos mecanismos fisiopatológicos da DH e também na identificação de potenciais alvos terapêuticos para realização de triagens de novos medicamentos.

3.1.5. Outras doenças neurológicas

O peixe-zebra também se destaca como modelo na investigação e modulação de outras doenças, tais como a esquizofrenia, a hidrocefalia, etc. A esquizofrenia é uma doença mental complexa, caracterizada por disfunções cognitivas, comportamentais e emocionais que impactam os indivíduos e a sociedade (OWEN;

SAWA; MORTENSEN, 2016). Clinicamente, a doença é marcada por três grupos de sintomas: positivos, tais como alucinações e delírios, relacionados à disfunção na neurotransmissão dopaminérgica; negativos, tais como o isolamento social e a afetividade reduzida, e sintomas cognitivos, incluindo déficits de atenção e aprendizado, associados a desequilíbrios corticais entre excitação e inibição (STEPNICKI; KONDEJ; KACZOR, 2018). A doença pode ser induzida no *zebrafish* através do uso de antagonistas do receptor NMDA, que participa da transmissão sináptica e plasticidade neuronal e em processos da patogênese da doença (BENVENUTTI et al., 2022). Além disso, substâncias psicoativas como anfetaminas foram usadas para desencadear comportamentos esquizofrênicos no *zebrafish*, demonstrando mudanças na locomoção, agressividade e memória (NITA et al., 2023).

A hidrocefalia, caracterizada pelo acúmulo anormal de líquido cefalorraquidiano (LCR) nos ventrículos cerebrais, também tem sido estudada em modelos de peixe-zebra (LIU et al., 2007; TENG et al., 2011). Essa condição pode ser congênita ou adquirida e afeta tanto crianças quanto adultos. Sua fisiopatologia envolve a interrupção da homeostase do LCR, causada por obstruções ao fluxo, pulsos cerebrais disfuncionais ou mecanismos de transporte de água alterados. Em casos adquiridos, tais como os pós-hemorragicos e pós-infecciosos, a inflamação desempenha um papel importante, mediada por citocinas reguladas pelos receptores *Toll-like* e células imunes, levando a hipersecreção de LCR e danos ependimários (KARIMY et al., 2020). No *zebrafish*, a indução da hidrocefalia pode ocorrer por mutações genéticas que afetam o desenvolvimento do sistema ventricular cerebral. Exemplos incluem a mutação no gene β Pix, que compromete a estabilidade cerebrovascular e leva a padrões vasculares imaturos, causando hidrocefalia e hemorragias cranianas (LIU et al., 2007). Além disso, mutações em genes como *ccdc57*, que afetam a batida coordenada dos cílios nas células ependimárias, impedem o fluxo adequado do LCR, resultando em hidrocefalia (XIE et al., 2023).

3.2. DOENÇAS NEUROLÓGICAS RELACIONADAS AO SISTEMA PURINÉRGICO EM ZEBRAFISH

O sistema purinérgico, composto por purinoceptores e enzimas metabolizadoras de nucleotídeos e nucleosídeos, desempenha um papel fundamental no SNC do peixe-zebra, sendo amplamente descrito no animal e estudado devido à

sua implicação em várias doenças neurológicas (RAHBAR; PAN; JONZ, 2016; ZIMMERMANN et al., 2017). Essas desordens incluem a DA, DP, epilepsia e esquizofrenia, onde a sinalização purinérgica participa diretamente com fatores patológicos alterando a sua homeostase e participando ativamente da progressão dessas doenças (NABINGER; ALTENHOFEN; BONAN, 2020). O *zebrafish* expressa vários receptores e enzimas purinérgicas que replicam de forma próxima a complexidade do sistema purinérgico em mamíferos (RICO et al., 2003). Isso inclui a presença de receptores tais como os P2X1, P2X2, P2X3, P2X5, P2X7 e os P2Y1, além dos receptores A₁, A_{2A} e A_{2B} (BOEHMLER et al., 2009), e enzimas tais como as E-NTPDases, E-5'-NT e E-ADA (ROSEMBERG et al., 2010; SENGER et al., 2004). Essa similaridade estrutural e funcional torna o peixe-zebra uma plataforma para o estudo de intervenções terapêuticas voltadas para distúrbios neurológicos humanos.

Estudos têm demonstrado que a modulação da sinalização de ADO pode prevenir déficits cognitivos induzidos por escopolamina em *zebrafish*, sugerindo que a ADO é uma via importante para a prevenção de comprometimentos cognitivos (ABDELKADER et al., 2015; BORTOLOTTI, 2015). No contexto da DA, a ADO tem papel como neuromodulador regulando a excitabilidade neuronal e a homeostase ao ativar os receptores adenosinérgicos (WOODS et al., 2016). Em *zebrafish*, foi observada uma superexpressão dos receptores purinérgicos de ADO, A_{2A}, acompanhada pela redução da expressão de outros genes relacionados à doença, como o HsAPP, após exposição à cafeína, um antagonista não seletivo dos receptores de ADO (ABDELKADER et al., 2015). Esses achados abrem caminho para investigações sobre o uso de antagonistas de adenosina como potenciais terapias para retardar o declínio cognitivo.

Na DP, a interação entre o sistema purinérgico e o sistema dopaminérgico é crucial, especialmente pela relação entre os receptores A_{2A} e os receptores de dopamina D₂. A ativação dos receptores A_{2A}, que aumentam a produção de AMP cíclico (cAMP), inibe a sinalização dos receptores D₂, que reduzem a produção de cAMP e, por sua vez, a ativação dos receptores D₂ reduz a ação dos A_{2A} (GLASER et al., 2020). Em modelos de *zebrafish* com DP mimetizada pela administração de MPTP, o tratamento com a cafeína demonstrou efeitos protetores, prevenindo a perda de expressão dos transportadores de dopamina (BOEHMLER et al., 2009). Esse efeito sugere que a modulação do sistema purinérgico, particularmente através do

antagonismo dos receptores A_{2A} , pode mitigar os sintomas motores típicos da DP, destacando a importância do sistema purinérgico como alvo terapêutico para o tratamento da doença.

A epilepsia, outro distúrbio neurológico significativo, é caracterizada por crises recorrentes e está relacionada a desequilíbrios na neurotransmissão excitatória e inibitória (BEGHI, 2020). A ADO, nesse contexto, é considerada um anticonvulsivante endógeno, e sua atuação ocorre principalmente através do receptor A_1 que quando ativado inibe a liberação de glutamato e outros neurotransmissores excitatórios, reduzindo a excitabilidade neuronal ao inibir a produção de cAMP. Além disso, a ativação do receptor A_1 também pode aumentar a liberação do GABA e de outros neurotransmissores inibitórios. Modelos de convulsão em peixe-zebra, como o apresentado por Menezes et al., (2018), reforçam essa ação anticonvulsivante da ADO, com evidências de que a modulação do receptor purinérgico pode estabilizar a atividade neuronal, reduzindo a frequência de crises. Além disso, o estudo de Brillatz et al., (2018) aponta que a INO, metabólito da ADO, também possui propriedades anticonvulsivantes ao interagir com os receptores A_1 , contribuindo para estratégias de manejo de crises epiléticas.

No caso da esquizofrenia, a pesquisa de Seibt et al., (2015) evidenciou que a administração de haloperidol, um antipsicótico tradicional, reduz a atividade da enzima E-ADA, resultando em níveis aumentados de ADO. Esse efeito parece contribuir com os efeitos do medicamento, já que níveis elevados de ADO têm sido associados à melhora dos sintomas psicóticos da doença. No entanto, são necessários mais estudos para determinar se essas alterações purinérgicas poderiam ter efeitos adversos em longo prazo. Em suma, o uso do peixe-zebra como modelo para o estudo de doenças neurológicas associadas ao sistema purinérgico oferece uma perspectiva promissora para a identificação de novas terapias. A capacidade desse organismo em replicar respostas neurológicas observadas em mamíferos possibilita a exploração de agentes farmacológicos que modulam a sinalização purinérgica, visando o tratamento de desordens neurológicas complexas, tais como a DA, a DP, a epilepsia e a esquizofrenia.

3.3. DOENÇAS NEUROLÓGICAS RELACIONADAS AO SISTEMA COLINÉRGICO EM ZEBRAFISH

O sistema colinérgico é essencial para a regulação da neurotransmissão e, portanto, é intimamente relacionado com funções cognitivas, motoras e neuroprotetoras. A sinalização colinérgica é majoritariamente mediada pela ACh, um neurotransmissor que ativa dois tipos principais de receptores: os nAChR e os mAChR, expressos em várias regiões do SNC (WAXENBAUM; REDDY; VARACALLO, 2024). As vias colinérgicas do peixe-zebra são análogas às dos humanos, permitindo a avaliação de deficiências cognitivas e o teste de potenciais intervenções terapêuticas (MUELLER; VERNIER; WULLIMANN, 2004). A identificação de neurônios colinérgicos no SNC é bem estabelecida, e essa informação tem sido crucial para o estudo de doenças neurológicas relacionadas ao sistema colinérgico, tais como a DA, DP e DH.

O estudo de Mans et al., (2019) com o peixe-zebra mostra que a ativação dos receptores colinérgicos está envolvida nos processos de aprendizagem e memória, fundamentais para o desempenho cognitivo, ao induzirem a fosforilação de proteínas chave, tais como a glicogênio sintase quinase-3 β (GSK3 β) e a quinase ERK1/2, que são envolvidas na plasticidade sináptica. Essas alterações moleculares promovem a formação e a manutenção de circuitos neurais responsáveis pela consolidação da memória. A sinalização mediada por ACh também exerce um papel neuroprotetor em áreas cerebrais, tais como o telencéfalo, também devido a fosforilação de GSK3 β e a ERK1/2, que têm funções cruciais na proteção do encéfalo contra eventos neuropatogênicos.

Além das doenças neurológicas, o sistema colinérgico em peixes teleósteos também foi investigado em relação à exposição a agentes neurotóxicos por Rico et al., (2006). A exposição crônica ao etanol em peixes-zebra levou a alterações duradouras na atividade da colina acetiltransferase (ChAT), e ao aumento do estresse oxidativo no encéfalo. Esses efeitos levaram a uma menor síntese de ACh, que é associado a deficiências neurocomportamentais são fatores importantes para compreensão dos mecanismos da demência alcoólica, uma condição caracterizada por disfunções no sistema colinérgico.

Como apresentado por Clemente et al., (2004), durante o desenvolvimento embrionário do peixe-zebra, os genes colinérgicos são expressos de forma dinâmica

na medula espinhal e sua regulação é fundamental para a formação dos circuitos neurais. Conforme o desenvolvimento avança, a expressão desses genes é regulada negativamente, sugerindo que o sistema colinérgico tem um papel importante na formação de redes neuronais no encéfalo. Esse processo pode ser perturbado em doenças neurodegenerativas, onde há uma perda progressiva de neurônios colinérgicos e disfunção nos circuitos cerebrais responsáveis pela memória e aprendizado.

Estudos demonstraram que a manipulação genética de peixes-zebra pode levar à agregação de proteínas, tais como a *mHTT* na DH (SIDIK; ANG; POULADI, 2020) e a α -sinucleína na DP (LOPEZ et al., 2022), isso leva a degeneração neuronal por meio de várias modificações nos genes envolvidos na síntese, liberação, degradação e receptores de ACh. Essas características patológicas são observadas tanto da DH quanto da DP, podendo ter um papel na produção de enzimas-chave para a progressão das doenças, na desregulação da homeostase celular e na ativação de mecanismos inflamatórios.

O mapeamento detalhado do sistema colinérgico no encéfalo adulto do peixe-zebra é um passo crucial para entender o desenvolvimento e a manutenção do sistema nervoso. Esse mapeamento revelou a presença de neurônios ChAT-positivos em várias regiões do encéfalo, incluindo o telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo. Essas áreas são responsáveis por funções motoras e cognitivas, e sua análise detalhada pode fornecer informações sobre os mecanismos relacionados às disfunções no sistema colinérgico associadas às doenças neurológicas (MUELLER; VERNIER; WULLIMANN, 2004). Em resumo, o peixe-zebra é um modelo amplamente usado para estudar as doenças neurológicas relacionadas ao sistema colinérgico que é um alvo farmacológico para o desenvolvimento de novos tratamentos para doenças tais como a AD, a DP e a DH, e a pesquisa com modelos de *zebrafish* tem o potencial de aprimoramento das atuais abordagens terapêuticas.

3.4. DOENÇAS NEUROLÓGICAS RELACIONADAS A Na^+,K^+ -ATPASE (NKA) EM ZEBRAFISH

A NKA, também conhecida como bomba de sódio e potássio, é uma enzima de membrana que desempenha um papel fundamental no transporte ativo de íons, essencial para a manutenção do potencial de repouso das células. Em cada ciclo

catalítico, a NKA move três Na^+ para fora da célula e dois K^+ para dentro contra o gradiente de concentração. Esse processo é crucial para a homeostase celular, pois mantém o equilíbrio osmótico, regula o volume celular e estabelece um gradiente eletroquímico necessário para diversas funções celulares, incluindo a excitabilidade e a sinalização dos neurônios (HORISBERGER, 2004; KAPLAN, 2002). Em modelos de *zebrafish*, a NKA tem se mostrado conservada em relação aos seres humanos, com algumas isoformas desempenhando funções específicas no encéfalo (RAJARAO et al., 2001; SHU et al., 2003)

Mutações ou deficiências em certas isoformas da NKA, especialmente na subunidade $\alpha 3$, foram associadas a condições neurológicas tais como a distonia-parkinsoniana de início rápido (RDP) e a hidrocefalia por Doğanli et al., (2013). Esse estudo indica que a falta de atividade adequada da bomba pode provocar desequilíbrios iônicos significativos, afetando a excitabilidade neuronal e resultando em distúrbios neurológicos. A deficiência de NKA no *zebrafish* afeta diretamente o desenvolvimento cerebral, levando à dilatação dos ventrículos cerebrais e problemas de motilidade embrionária. Esses problemas são observados em mutantes com redução na expressão da isoforma $\alpha 3$, nos quais se nota acúmulo de LCR, o que prejudica o desenvolvimento cerebral e a resposta a estímulos sensoriais. A dilatação ventricular em *zebrafish*, semelhante à hidrocefalia em humanos, é uma condição estudada quanto a regulação dos fluidos e na manutenção da função cerebral. Já em condições neurológicas específicas tais como a RDP, mutações no gene ATP1A3 (gene que codifica a isoforma $\alpha 3$) são responsáveis por sintomas motores que envolvem tremores e distúrbios de equilíbrio nos humanos. No *zebrafish*, a redução da expressão de ATP1A3 tem mostrado resultados semelhantes, sugerindo que esse organismo modelo pode ser útil para o estudo de mecanismos subjacentes a distúrbios neurológicos para a RDP (Doğanli et al., 2013).

Além disso, a NKA desempenha um papel crucial no controle do influxo de Ca^{2+} , pois regula a concentração de Na^+ intracelular. Esse gradiente de Na^+ é essencial para o funcionamento do trocador sódio-cálcio (NCX), que extrai Ca^{2+} da célula. Quando a NKA é comprometida, o acúmulo de Na^+ reduz a eficiência do NCX, levando ao aumento dos níveis intracelulares de Ca^{2+} (GALVA; ARTIGAS; GATTO, 2012). O estudo de Saito, (2010) aponta que a regulação da NKA por proteínas como a fxyd11, específica de células das brânquias de *zebrafish* com alta quantidade de

mitocôndrias, pode influenciar a captação de Ca^{2+} . Essa regulação é essencial para a manutenção do equilíbrio iônico e do funcionamento neuronal, tornando o *zebrafish* um modelo relevante para o estudo de doenças relacionadas ao desequilíbrio iônico, tais como a DA, em que o Ca^{2+} ativa vias apoptóticas; a DP, em que o acúmulo de Ca^{2+} causa estresse oxidativo e morte celular; e a epilepsia em que alterações nos canais de cálcio podem desencadear hiperexcitabilidade neuronal.

Outro aspecto relevante é a função da NKA em astrócitos, onde essa enzima também tem o papel de regular a concentração intracelular de Ca^{2+} em conjunto com o NCX. Em *zebrafish*, uma mutação que leva a deficiência da expressão de ATP1A2, gene que codifica a isoforma $\alpha 2$ da NKA, nos astrócitos está associada a uma redução nos níveis de proteínas ligadoras de Ca^{2+} , como a parvalbumina Doğanli et al., (2012). Isso pode resultar em uma menor capacidade de tamponamento de Ca^{2+} nos neurônios e, conseqüentemente, maior suscetibilidade a crises epiléticas, já que o seu acúmulo pode resultar em hiperexcitabilidade, ilustrando o papel crítico da NKA na homeostase neuronal.

A relevância da NKA na esquizofrenia também tem sido explorada. No estudo de Seibt et al., (2012) onde o peixe-zebra é exposto ao antagonista do receptor NMDA, o MK-801, para modelar a esquizofrenia, observa-se uma redução na atividade da NKA. Esse tipo de resultado sugere uma possível ligação entre a função da NKA e distúrbios cognitivos, o que destaca o animal como modelo para investigar tratamentos que regulam a função dessa enzima. Em resumo, os modelos de *zebrafish* têm sido fundamentais para entender o papel da NKA em várias doenças neurológicas.

4. CONCLUSÕES

Como resultado da revisão bibliográfica foi possível compreender que o uso do *zebrafish* como modelo experimental para investigar doenças neurológicas oferece uma perspectiva inovadora e relevante para a neurociência. A análise dos estudos revelou que os sistemas purinérgico e colinérgico desempenham funções fundamentais na regulação de processos moleculares e celulares relacionados a patologias neurodegenerativas, como DA, DP, DH e epilepsia. Esses sistemas estão diretamente envolvidos na modulação da neurotransmissão, inflamação e homeostase celular, aspectos cruciais para a compreensão das bases fisiopatológicas dessas doenças. A revisão também permitiu identificar uma lacuna na literatura quanto ao papel específico da NKA em doenças neurológicas modeladas no *zebrafish*. Esse trabalho contribui para preencher essa lacuna ao destacar a relevância dessa enzima na manutenção do potencial de membrana e no transporte de íons, processos que, quando desregulados, podem levar a alterações cognitivas e motoras.

Além disso, foi possível confirmar que o *zebrafish* apresenta vantagens como modelo animal, devido à sua conservação genética e funcional com os seres humanos, além das diversas outras vantagens relacionadas ao seu uso. Essas características reforçam a aplicabilidade do modelo no estudo de mecanismos moleculares, identificação de novos alvos terapêuticos e avaliação de intervenções farmacológicas. Os resultados apresentados também indicam que a modulação dos sistemas purinérgico e colinérgico, assim como a manutenção adequada da NKA, são essenciais para a compreensão de alterações cognitivas e motoras. Portanto, o *zebrafish* se consolida como uma ferramenta de grande aplicabilidade para o estudo de doenças neurológicas desde seus mecanismos básicos até possíveis abordagens terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- ABDELKADER, T. S. et al. Effect of caffeine on Alzheimer's molecular factors in correlation with involved cell communication systems in developing zebrafish *Danio rerio*. *LaboratoriumsMedizin*, v. 39, n. 3, p. 165–174, 1 jun. 2015.
- ABREU-VILLAÇA, Y.; FILGUEIRAS, C. C.; MANHÃES, A. C. Developmental aspects of the cholinergic system. *Behavioural Brain Research*, v. 221, n. 2, p. 367–378, ago. 2011.
- Al, Y. et al. Purine and purinergic receptors in health and disease. *MedComm*, v. 4, n. 5, 7 out. 2023.
- ARULSAMY, A.; SHAIKH, M. F. Tumor Necrosis Factor- α , the Pathological Key to Post-Traumatic Epilepsy: A Comprehensive Systematic Review. *ACS Chemical Neuroscience*, v. 11, n. 13, p. 1900–1908, 1 jul. 2020.
- ATKINSON, B. *et al.* Ecto-nucleotidases of the CD39/NTPDase family modulate platelet activation and thrombus formation: Potential as therapeutic targets. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, v. 36, n. 2, p. 217–222, mar. 2006.
- BARABAN, S. C. et al. Pentylentetrazole induced changes in zebrafish behavior, neural activity and c-fos expression. *Neuroscience*, v. 131, n. 3, p. 759–768, jan. 2005.
- BARABAN, S. C.; DINDAY, M. T.; HORTOPAN, G. A. Drug screening in *Scn1a* zebrafish mutant identifies clemizole as a potential Dravet syndrome treatment. *Nature Communications*, v. 4, n. 1, p. 2410, 3 set. 2013.
- BARNHILL, L. M.; MURATA, H.; BRONSTEIN, J. M. Studying the Pathophysiology of Parkinson's Disease Using Zebrafish. *Biomedicines*, v. 8, n. 7, p. 197, 7 jul. 2020.
- BEGHI, E. The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*, v. 54, n. 2, p. 185–191, 2020.
- BENVENUTTI, R. et al. Glutamate NMDA Receptor Antagonists with Relevance to Schizophrenia: A Review of Zebrafish Behavioral Studies. *Current Neuropharmacology*, v. 20, n. 3, p. 494–509, mar. 2022.
- BERTONCELLO, K. T.; BONAN, C. D. The Effect of Adenosine Signaling on Memory Impairment Induced by Pentylentetrazole in Zebrafish. *Neurochemical Research*, v. 48, n. 6, p. 1889–1899, 2 jun. 2023.
- BLADER, P. Zebrafish developmental genetics and central nervous system development. *Human Molecular Genetics*, v. 9, n. 6, p. 945–951, 1 abr. 2000.
- BOEHMLER, W. et al. Identification of zebrafish A2 adenosine receptors and expression in developing embryos. *Gene Expression Patterns*, v. 9, n. 3, p. 144–151, mar. 2009.

- BORTOLOTTO, J. W. et al. Modulation of adenosine signaling prevents scopolamine-induced cognitive impairment in zebrafish. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 118, p. 113–119, fev. 2015.
- BRILLATZ, T. et al. Zebrafish-based identification of the antiseizure nucleoside inosine from the marine diatom *Skeletonema marinoi*. *PLOS ONE*, v. 13, n. 4, p. e0196195, 24 abr. 2018.
- BRIÑEZ-GALLEGO, P. et al. Experimental models of chemically induced Parkinson's disease in zebrafish at the embryonic larval stage: a systematic review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, v. 26, n. 4, p. 201–237, 19 maio 2023.
- BURNSTOCK, G. et al. Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic inhibitory nerves in the gut. *British Journal of Pharmacology*, v. 40, n. 4, p. 668–688, 19 dez. 1970.
- BURNSTOCK, G. *Introduction to Purinergic Signaling*. Em: [s.l: s.n.]. p. 1–15. 2020.
- BURNSTOCK, G. Purine and purinergic receptors. *Brain and Neuroscience Advances*, v. 2, p. 239821281881749, 6 jan. 2018.
- BURNSTOCK, G. Purine and pyrimidine receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 64, n. 12, p. 1471–1483, 19 jun. 2007.
- BURNSTOCK, G. Purinergic nerves. *Pharmacological reviews*, v. 24, n. 3, p. 509–81, set. 1972.
- BURNSTOCK, G. Purinergic receptors. *Journal of Theoretical Biology*, v. 62, n. 2, p. 491–503, out. 1976.
- CARDOSO, A. M.; MANFREDI, L. H.; MACIEL, S. F. V. DE O. (EDS.). *Sinalização purinérgica: implicações fisiopatológicas*. [s.l.] Editora UFFS, 2021.
- CASANO, A. M.; PERI, F. Microglia: Multitasking Specialists of the Brain. *Developmental Cell*, v. 32, n. 4, p. 469–477, fev. 2015.
- CHIA, K. et al. Zebrafish as a model organism for neurodegenerative disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 15, 13 out. 2022.
- CHITOLINA, R. et al. Chemically-induced epileptic seizures in zebrafish: a systematic review. , 28 jun. 2023.
- CLAUSEN, M. V.; HILBERS, F.; POULSEN, H. The Structure and Function of the Na,K-ATPase Isoforms in Health and Disease. *Frontiers in Physiology*, v. 8, 6 jun. 2017.
- CLEMENTE, D. et al. Cholinergic elements in the zebrafish central nervous system: Histochemical and immunohistochemical analysis. *Journal of Comparative Neurology*, v. 474, n. 1, p. 75–107, 14 jun. 2004.
- COLOVIC, M. B. et al. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, v. 11, n. 3, p. 315–335, 1 abr. 2013.

- COSACAK, M. I. et al. Single-Cell Transcriptomics Analyses of Neural Stem Cell Heterogeneity and Contextual Plasticity in a Zebrafish Brain Model of Amyloid Toxicity. *Cell Reports*, v. 27, n. 4, p. 1307- 1318.e3, abr. 2019.
- DAS, S.; RAJANIKANT, G. K. Huntington disease: Can a zebrafish trail leave more than a ripple? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 45, p. 258–261, set. 2014.
- DAVIE, C. A. A review of Parkinson's disease. *British Medical Bulletin*, v. 86, n. 1, p. 109–127, 18 fev. 2008.
- DEUSCHL, G. et al. The burden of neurological diseases in Europe: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet Public Health*, v. 5, n. 10, p. e551–e567, out. 2020.
- DEXTER, D. T.; JENNER, P. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 62, p. 132–144, set. 2013.
- DI LIDDO, R.; GOTTARDI, M. Purinergic signaling in stem cell growth. Em: *Stem Cells and Signaling Pathways*. [s.l.] Elsevier, 2024. p. 57–66.
- DI VIRGILIO, F.; SARTI, A. C.; COUTINHO-SILVA, R. Purinergic signaling, DAMPs, and inflammation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 318, n. 5, p. C832–C835, 1 maio 2020.
- DICKSON, D. W. Neuropathology of Parkinson disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, v. 46, p. S30–S33, jan. 2018.
- DIEKMANN, H. et al. Decreased BDNF Levels Are a Major Contributor to the Embryonic Phenotype of Huntingtin Knockdown Zebrafish. *The Journal of Neuroscience*, v. 29, n. 5, p. 1343–1349, 4 fev. 2009.
- DOĞANLI, C. et al. The $\alpha 2\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase is critical for skeletal and heart muscle function in zebrafish. *Journal of Cell Science*, 1 jan. 2012.
- DOĞANLI, C. et al. $\alpha 3\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase Deficiency Causes Brain Ventricle Dilation and Abrupt Embryonic Motility in Zebrafish. *Journal of Biological Chemistry*, v. 288, n. 13, p. 8862–8874, mar. 2013.
- DOYLE, J. M.; CROLL, R. P. A Critical Review of Zebrafish Models of Parkinson's Disease. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, 15 mar. 2022.
- DRAPER, B. W. et al. A High-Throughput Method for Identifying N-Ethyl-N-Nitrosourea (ENU)-Induced Point Mutations in Zebrafish. Em: [s.l.: s.n.]. p. 91–112.
- FEDOSOVA, N. U.; HABECK, M.; NISSEN, P. Structure and Function of Na,K-ATPase—The Sodium-Potassium Pump. Em: *Comprehensive Physiology*. [s.l.] Wiley, 2021. p. 2659–2679.
- FETT, M. E. et al. Parkin Is Protective against Proteotoxic Stress in a Transgenic Zebrafish Model. *PLoS ONE*, v. 5, n. 7, p. e11783, 30 jul. 2010.
- FRANCO, R. et al. Cell surface adenosine deaminase: Much more than an ectoenzyme. *Progress in Neurobiology*, v. 52, n. 4, p. 283–294, jul. 1997.

- FULWILER, C.; GILBERT, W. Zebrafish embryology and neural development. *Current Opinion in Cell Biology*, v. 3, n. 6, p. 988–991, dez. 1991.
- GALVA, C.; ARTIGAS, P.; GATTO, C. Nuclear Na,K-ATPase plays an active role in Nucleoplasmic Calcium Homeostasis. *Journal of Cell Science*, 1 jan. 2012.
- GANZ, J. et al. Subdivisions of the adult zebrafish subpallium by molecular marker analysis. *Journal of Comparative Neurology*, v. 520, n. 3, p. 633–655, 15 fev. 2012.
- GHADDAR, B.; DIOTEL, N. Zebrafish: A New Promise to Study the Impact of Metabolic Disorders on the Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 10, p. 5372, 11 maio 2022.
- GLASER, T. et al. Purinergic Receptors in Basal Ganglia Diseases: Shared Molecular Mechanisms between Huntington's and Parkinson's Disease. *Neuroscience Bulletin*, v. 36, n. 11, p. 1299–1314, 7 nov. 2020.
- GUEDES-DIAS, P. et al. Mitochondrial dynamics and quality control in Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, v. 90, p. 51–57, jun. 2016.
- HAFFTER, P. et al. The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, *Danio rerio*. *Development*, v. 123, n. 1, p. 1–36, 1 dez. 1996.
- HAYES, M. T. Parkinson's Disease and Parkinsonism. *The American Journal of Medicine*, v. 132, n. 7, p. 802–807, jul. 2019.
- HEYLEN, L. et al. Pericardial Injection of Kainic Acid Induces a Chronic Epileptic State in Larval Zebrafish. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 14, 14 out. 2021.
- HORISBERGER, J.-D. Recent Insights into the Structure and Mechanism of the Sodium Pump. *Physiology*, v. 19, n. 6, p. 377–387, dez. 2004.
- HOWE, K. et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, v. 496, n. 7446, p. 498–503, 25 abr. 2013.
- HUANG, Z. et al. From purines to purinergic signalling: molecular functions and human diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 6, n. 1, p. 162, 28 abr. 2021.
- HUNSUCKER, S. A.; MITCHELL, B. S.; SPYCHALA, J. The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 107, n. 1, p. 1–30, jul. 2005.
- ILLES, P. et al. Purinergic receptors in cognitive disturbances. *Neurobiology of Disease*, v. 185, p. 106229, set. 2023.
- JACOBS, E. A. K.; RYU, S. Larval zebrafish as a model for studying individual variability in translational neuroscience research. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 17, 23 jun. 2023.
- JAROSIŃSKA, O. D.; RÜDIGER, S. G. D. Molecular Strategies to Target Protein Aggregation in Huntington's Disease. *Frontiers in Molecular Biosciences*, v. 8, 12 nov. 2021.

- KALUEFF, A. V.; STEWART, A. M.; GERLAI, R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 35, n. 2, p. 63–75, fev. 2014.
- KAPLAN, J. H. Biochemistry of Na,K-ATPase. *Annual Review of Biochemistry*, v. 71, n. 1, p. 511–535, jun. 2002.
- KARIMY, J. K. et al. Inflammation in acquired hydrocephalus: pathogenic mechanisms and therapeutic targets. *Nature Reviews Neurology*, v. 16, n. 5, p. 285–296, 9 maio 2020.
- KARLOVICH, C. A. et al. Characterization of the Huntington's disease (HD) gene homolog in the zebrafish *Danio rerio*. *Gene*, v. 217, n. 1–2, p. 117–125, set. 1998.
- KASLIN, J.; PANULA, P. Comparative anatomy of the histaminergic and other aminergic systems in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Comparative Neurology*, v. 440, n. 4, p. 342–377, 26 nov. 2001.
- KLEINMAN, A. et al. Time for mental health to come out of the shadows. *The Lancet*, v. 387, n. 10035, p. 2274–2275, jun. 2016.
- KNOPMAN, D. S. et al. Alzheimer disease. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 7, n. 1, p. 33, 13 maio 2021.
- KOZOL, R. A. et al. Function Over Form: Modeling Groups of Inherited Neurological Conditions in Zebrafish. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 9, 7 jul. 2016.
- KUIL, L. E. et al. Zebrafish: A Model Organism for Studying Enteric Nervous System Development and Disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 8, 21 jan. 2021.
- KUMAR, V.; SINGH, C.; SINGH, A. Zebrafish an experimental model of Huntington's disease: molecular aspects, therapeutic targets and current challenges. *Molecular Biology Reports*, v. 48, n. 12, p. 8181–8194, 19 dez. 2021.
- LAM, C. S.; KORZH, V.; STRAHLE, U. Zebrafish embryos are susceptible to the dopaminergic neurotoxin MPTP. *European Journal of Neuroscience*, v. 21, n. 6, p. 1758–1762, 12 mar. 2005.
- LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M. Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, v. 25, n. 1, p. 59–70, 19 jan. 2018.
- LARSEN, B. R.; STOICA, A.; MACAULAY, N. Managing Brain Extracellular K⁺ during Neuronal Activity: The Physiological Role of the Na⁺/K⁺-ATPase Subunit Isoforms. *Frontiers in Physiology*, v. 7, 22 abr. 2016.
- LI, W. et al. Neuroinflammation in epileptogenesis: from pathophysiology to therapeutic strategies. *Frontiers in Immunology*, v. 14, 22 dez. 2023.
- LIMA, A. A. et al. A Comprehensive Survey on the Detection, Classification, and Challenges of Neurological Disorders. *Biology*, v. 11, n. 3, p. 469, 18 mar. 2022.
- LINGREL, J. B. et al. Na,K-ATPase and the role of α isoforms in behavior. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, v. 39, n. 5–6, p. 385–389, 28 dez. 2007.

- LIU, J. et al. A β Pix–Pak2a signaling pathway regulates cerebral vascular stability in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 104, n. 35, p. 13990–13995, 28 ago. 2007.
- LOPEZ, A. et al. A New Zebrafish Model to Measure Neuronal α -Synuclein Clearance In Vivo. *Genes*, v. 13, n. 5, p. 868, 12 maio 2022.
- LU, B.; PALACINO, J. A novel human embryonic stem cell-derived Huntington's disease neuronal model exhibits mutant huntingtin (mHTT) aggregates and soluble mHTT-dependent neurodegeneration. *The FASEB Journal*, v. 27, n. 5, p. 1820–1829, 16 maio 2013.
- LUMSDEN, A. L. et al. Huntingtin-deficient zebrafish exhibit defects in iron utilization and development. *Human Molecular Genetics*, v. 16, n. 16, p. 1905–1920, 13 jun. 2007.
- LUQUE, F. J.; MUÑOZ-TORRERO, D. Acetylcholinesterase: A Versatile Template to Coin Potent Modulators of Multiple Therapeutic Targets. *Accounts of Chemical Research*, 9 fev. 2024.
- LYONS, D. A.; TALBOT, W. S. Glial Cell Development and Function in Zebrafish. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 7, n. 2, p. a020586, fev. 2015.
- MANS, R. A. et al. Cholinergic Stimulation of the Adult Zebrafish Brain Induces Phosphorylation of Glycogen Synthase Kinase-3 β and Extracellular Signal-Regulated Kinase in the Telencephalon. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 12, 16 abr. 2019.
- MARTÍNEZ-MEZA, S. et al. The brain-liver cholinergic anti-inflammatory pathway and viral infections. *Bioelectronic Medicine*, v. 9, n. 1, p. 29, 20 dez. 2023.
- MASTERS, C. L. et al. Alzheimer's disease. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 1, n. 1, p. 15056, 15 out. 2015.
- MCKINLEY, E. T. et al. Neuroprotection of MPTP-induced toxicity in zebrafish dopaminergic neurons. *Molecular Brain Research*, v. 141, n. 2, p. 128–137, nov. 2005.
- MENEZES, F. P. et al. Transient Disruption of Adenosine Signaling During Embryogenesis Triggers a Pro-epileptic Phenotype in Adult Zebrafish. *Molecular Neurobiology*, v. 55, n. 8, p. 6547–6557, 11 ago. 2018.
- MOSHÉ, S. L. et al. Epilepsy: new advances. *The Lancet*, v. 385, n. 9971, p. 884–898, mar. 2015.
- MUELLER, T.; VERNIER, P.; WULLIMANN, M. F. The adult central nervous cholinergic system of a neurogenetic model animal, the zebrafish *Danio rerio*. *Brain Research*, v. 1011, n. 2, p. 156–169, jun. 2004.
- MUELLER, T.; WULLIMANN, M. F. An Evolutionary Interpretation of Teleostean Forebrain Anatomy. *Brain, Behavior and Evolution*, v. 74, n. 1, p. 30–42, 2009.
- MÜLLER, T. C. et al. Antidepressants inhibit human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, v. 1587, n. 1, p. 92–98, maio 2002.

- MULLINS, M. C. et al. Large-scale mutagenesis in the zebrafish: in search of genes controlling development in a vertebrate. *Current Biology*, v. 4, n. 3, p. 189–202, mar. 1994.
- MURALIDAR, S. et al. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 163, p. 1599–1617, nov. 2020.
- MURATA, K. et al. Region- and neuronal-subtype-specific expression of Na, K-ATPase alpha and beta subunit isoforms in the mouse brain. *Journal of Comparative Neurology*, v. 528, n. 16, p. 2654–2678, 28 nov. 2020.
- MURPHY, M. P.; LEVINE, H. Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, v. 19, n. 1, p. 311–23, 2010.
- MUSA, A.; LEHRACH, H.; RUSSO, V. Distinct expression patterns of two zebrafish homologues of the human APP gene during embryonic development. *Development Genes and Evolution*, v. 211, n. 11, p. 563–567, 1 dez. 2001.
- NABINGER, D. D.; ALTENHOFEN, S.; BONAN, C. D. Zebrafish models: Gaining insight into purinergic signaling and neurological disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 98, p. 109770, mar. 2020.
- NELSON, J. C.; GRANATO, M. Zebrafish behavior as a gateway to nervous system assembly and plasticity. *Development*, v. 149, n. 9, 1 maio 2022.
- NITA, I. B. et al. The suitability of zebrafish (*danio rerio*) as an optimal organism to further investigate the associated schizophrenia-like phenotype. *European Psychiatry*, v. 66, n. S1, p. S439–S440, 19 mar. 2023.
- OLOWE, R. et al. Approaches for Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress Quantification in Epilepsy. *Antioxidants*, v. 9, n. 10, p. 990, 14 out. 2020.
- OMAR, N. A.; KUMAR, J.; TEOH, S. L. Parkinson's disease model in zebrafish using intraperitoneal MPTP injection. *Frontiers in Neuroscience*, v. 17, 25 ago. 2023.
- ORHAN, I. E. et al. Molecular modeling and in vitro approaches towards cholinesterase inhibitory effect of some natural xanthohumol, naringenin, and acyl phloroglucinol derivatives. *Phytomedicine*, v. 42, p. 25–33, mar. 2018.
- OWEN, M. J.; SAWA, A.; MORTENSEN, P. B. Schizophrenia. *The Lancet*, v. 388, n. 10039, p. 86–97, jul. 2016.
- PANULA, P. et al. Modulatory Neurotransmitter Systems and Behavior: Towards Zebrafish Models of Neurodegenerative Diseases. *Zebrafish*, v. 3, n. 2, p. 235–247, jun. 2006.
- PATRITTI-CRAM, J. et al. Purinergic signaling in peripheral nervous system glial cells. *Glia*, v. 69, n. 8, p. 1837–1851, 28 ago. 2021.
- PEARSON, R. C. A. The human nervous system. *Neuroscience*, v. 42, n. 1, p. 299, jan. 1991.

- PEZZEMENTI, L.; NACHON, F.; CHATONNET, A. Evolution of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase in the Vertebrates: An Atypical Butyrylcholinesterase from the Medaka *Oryzias latipes*. PLoS ONE, v. 6, n. 2, p. e17396, 25 fev. 2011.
- POSTLETHWAIT, J. H. et al. Zebrafish Comparative Genomics and the Origins of Vertebrate Chromosomes. Genome Research, v. 10, n. 12, p. 1890–1902, 1 dez. 2000.
- QUINLIVAN, V. H.; FARBER, S. A. Lipid Uptake, Metabolism, and Transport in the Larval Zebrafish. Frontiers in Endocrinology, v. 8, 20 nov. 2017.
- QUINN, D. M. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. Chemical Reviews, v. 87, n. 5, p. 955–979, 1 out. 1987.
- RAHBAR, S.; PAN, W.; JONZ, M. G. Purinergic and Cholinergic Drugs Mediate Hyperventilation in Zebrafish: Evidence from a Novel Chemical Screen. PLOS ONE, v. 11, n. 4, p. e0154261, 21 abr. 2016.
- RAJARAO, S. J. R. et al. The Repertoire of Na,K-ATPase α and β Subunit Genes Expressed in the Zebrafish, *Danio rerio*. Genome Research, v. 11, n. 7, p. 1211–1220, 1 jul. 2001.
- RALEVIC, V.; BURNSTOCK, G. Receptors for purines and pyrimidines. Pharmacological reviews, v. 50, n. 3, p. 413–92, set. 1998.
- RATHBONE M. P., et al. Trophic effects of purines in neurons and glial cells. Progress Neurobiology, v. 59, p. 663-690, 1999.
- RICO, E. P. et al. ATP and ADP hydrolysis in brain membranes of zebrafish (*Danio rerio*). Life Sciences, v. 73, n. 16, p. 2071–2082, set. 2003.
- RICO, E. P. et al. Methanol alters ecto-nucleotidases and acetylcholinesterase in zebrafish brain. Neurotoxicology and Teratology, v. 28, n. 4, p. 489–496, jul. 2006.
- RITTINER, J. E. et al. AMP Is an Adenosine A1 Receptor Agonist. Journal of Biological Chemistry, v. 287, n. 8, p. 5301–5309, fev. 2012.
- ROSEMBERG, D. B. et al. NTPDase family in zebrafish: Nucleotide hydrolysis, molecular identification and gene expression profiles in brain, liver and heart. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, v. 155, n. 3, p. 230–240, mar. 2010.
- SAITO, K. Identification of zebrafish FXYD11a protein that is highly expressed in ion-transporting epithelium of the gill and skin and its possible role in ion homeostasis. Frontiers in Physiology, v. 1, ago. 2010.
- SCHMIDT, R.; STRÄHLE, U.; SCHOLPP, S. Neurogenesis in zebrafish – from embryo to adult. Neural Development, v. 8, n. 1, p. 3, 21 dez. 2013.
- SEIBT, K. J. et al. Investigation into effects of antipsychotics on ectonucleotidase and adenosine deaminase in zebrafish brain. Fish Physiology and Biochemistry, v. 41, n. 6, p. 1383–1392, 9 dez. 2015.

- SEIBT, K. J. et al. MK-801 alters Na⁺, K⁺-ATPase activity and oxidative status in zebrafish brain: reversal by antipsychotic drugs. *Journal of Neural Transmission*, v. 119, n. 6, p. 661–667, 6 jun. 2012.
- SENGER, M. R. et al. Ecto-5'-nucleotidase activity in brain membranes of zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 139, n. 2, p. 203–207, out. 2004.
- SHAHNAWAZ AHMED et al. Zebrafish as a comprehensive model of neurological diseases. *International Journal of Science and Research Archive*, v. 10, n. 1, p. 018–052, 30 set. 2023.
- SHRIVASTAVA, A. N.; TRILLER, A.; MELKI, R. Cell biology and dynamics of Neuronal Na⁺ /K⁺ -ATPase in health and diseases. *Neuropharmacology*, v. 169, p. 107461, jun. 2020.
- SHU, X. et al. Na,K-ATPase is essential for embryonic heart development in the zebrafish. *Development*, v. 130, n. 25, p. 6165–6173, 22 dez. 2003.
- SIDIK, H.; ANG, C. J.; POULADI, M. A. Huntingtin confers fitness but is not embryonically essential in zebrafish development. *Developmental Biology*, v. 458, n. 1, p. 98–105, fev. 2020.
- SONG, G. et al. The metabolic role of the CD73/adenosine signaling pathway in HTR-8/SVneo cells: A Double-Edged Sword? *Heliyon*, v. 10, n. 3, p. e25252, fev. 2024.
- SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase — new roles for an old actor. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 2, n. 4, p. 294–302, abr. 2001.
- SOUSA, A. M. M. et al. Evolution of the Human Nervous System Function, Structure, and Development. *Cell*, v. 170, n. 2, p. 226–247, jul. 2017.
- STĘPNICKI, P.; KONDEJ, M.; KACZOR, A. A. Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. *Molecules*, v. 23, n. 8, p. 2087, 20 ago. 2018.
- STEWART, A. M. et al. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. *Trends in Neurosciences*, v. 37, n. 5, p. 264–278, maio 2014.
- STREISINGER, G. et al. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature*, v. 291, n. 5813, p. 293–296, maio 1981.
- SUN, L. et al. The Role of Neuroinflammation in Post-traumatic Epilepsy. *Frontiers in Neurology*, v. 12, 28 maio 2021.
- SZOT, P. Common factors among Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and epilepsy: Possible role of the noradrenergic nervous system. *Epilepsia*, v. 53, n. s1, p. 61–66, 21 jun. 2012.
- TABRIZI, S. J. et al. Huntington disease: new insights into molecular pathogenesis and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Neurology*, v. 16, n. 10, p. 529–546, 14 out. 2020.

- TABRIZI, S. J.; GHOSH, R.; LEAVITT, B. R. Huntingtin Lowering Strategies for Disease Modification in Huntington's Disease. *Neuron*, v. 101, n. 5, p. 801–819, mar. 2019.
- TENG, Y. et al. Loss of Zebrafish Igi1b Leads to Hydrocephalus and Sensitization to Pentylentetrazol Induced Seizure-Like Behavior. *PLoS ONE*, v. 6, n. 9, p. e24596, 16 set. 2011.
- THAN-TRONG, E.; BALLY-CUIF, L. Radial glia and neural progenitors in the adult zebrafish central nervous system. *Glia*, v. 63, n. 8, p. 1406–1428, 14 ago. 2015.
- ULLMANN, J. F. P. et al. A three-dimensional digital atlas of the zebrafish brain. *NeuroImage*, v. 51, n. 1, p. 76–82, maio 2010.
- VAZ, R. L.; OUTEIRO, T. F.; FERREIRA, J. J. Zebrafish as an Animal Model for Drug Discovery in Parkinson's Disease and Other Movement Disorders: A Systematic Review. *Frontiers in Neurology*, v. 9, 1 jun. 2018.
- VEZZANI, A.; BALOSSO, S.; RAVIZZA, T. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, v. 15, n. 8, p. 459–472, 1 ago. 2019.
- WASEL, O.; FREEMAN, J. L. Chemical and Genetic Zebrafish Models to Define Mechanisms of and Treatments for Dopaminergic Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 17, p. 5981, 20 ago. 2020.
- WAXENBAUM, J. A.; REDDY, V.; VARACALLO, M. Anatomy, Autonomic Nervous System. [s.l: s.n.].
- WOODS, L. T. et al. Purinergic receptors as potential therapeutic targets in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, v. 104, p. 169–179, maio 2016.
- WU, B.-K. et al. Multiple signaling factors and drugs alleviate neuronal death induced by expression of human and zebrafish tau proteins in vivo. *Journal of Biomedical Science*, v. 23, n. 1, p. 25, 6 dez. 2016.
- XIE, H. et al. Ependymal polarity defects coupled with disorganized ciliary beating drive abnormal cerebrospinal fluid flow and spine curvature in zebrafish. *PLOS Biology*, v. 21, n. 3, p. e3002008, 2 mar. 2023.
- ZARRINMAYEH, H.; TERRITO, P. R. Purinergic Receptors of the Central Nervous System: Biology, PET Ligands, and Their Applications. *Molecular Imaging*, v. 19, p. 153601212092760, 1 jan. 2020.
- ZENG, X.-S. et al. Cellular and Molecular Basis of Neurodegeneration in Parkinson Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, v. 10, 17 abr. 2018.
- ZHU, S. I.; GOODHILL, G. J. From perception to behavior: The neural circuits underlying prey hunting in larval zebrafish. *Frontiers in Neural Circuits*, v. 17, 1 fev. 2023.

ZIMMERMANN, F. F. et al. Analysis of Extracellular Nucleotide Metabolism in Adult Zebrafish After Embryological Exposure to Valproic Acid. *Molecular Neurobiology*, v. 54, n. 5, p. 3542–3553, 17 jul. 2017.

ZIMMERMANN, H. Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolases and ecto-5'-nucleotidase in purinergic signaling: how the field developed and where we are now. *Purinergic Signalling*, v. 17, n. 1, p. 117–125, 17 mar. 2021.

ZIMMERMANN, H. History of ectonucleotidases and their role in purinergic signaling. *Biochemical Pharmacology*, v. 187, p. 114-322, mai. 2020.

ZIMMERMANN, H.; ZEBISCH, M.; STRÄTER, N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. *Purinergic Signalling*, v. 8, n. 3, p. 437–502, 4 set. 2012.

A formatação das citações e referências bibliográficas seguiu as regras de formatação da revista Cadernos de Saúde Pública (<https://cadernos.ensp.fiocruz.br/ojs/index.php/csp>).

ANEXO I

Tabela 1. Artigos selecionados para a revisão bibliográfica, com base em pesquisa sistemática, destacando os objetivos, resultados principais e aspectos relevantes de cada estudo.

Autor/ano	Título	Objetivo	Principais resultados	Outros aspectos destacados
Abdelkader <i>et al</i> (2015)	Effect of caffeine on Alzheimer's molecular factors in correlation with involved cell communication systems in developing zebrafish <i>Danio rerio</i>	Estudar o efeito regulador da cafeína em genes relacionados à doença de Alzheimer (<i>APP</i> , <i>Psen1</i> , <i>Psen2</i> , <i>ApoE</i> , <i>Sor11</i>) e nos receptores de adenosina (AR) e dopamina (DR) no zebrafish em desenvolvimento	A cafeína reduziu a expressão de genes relacionados à DA e influenciou os receptores de adenosina e dopamina, sugerindo que pode proteger contra a DA via vias amiloides e sistemas AR e DR	Todos os genes testados já estão expressos em estágios iniciais do desenvolvimento, e o zebrafish se mostrou um modelo promissor para estudos moleculares da DA
Baraban <i>et al</i> (2005)	Pentylentetrazole induced changes in zebrafish behavior, neural activity and c-fos expression	Demonstrar o efeito do Pentilenotetrazole (PTZ) em larvas de zebrafish	O PTZ induz convulsões em zebrafish e os animais mostraram mudanças comportamentais, eletrográficas e moleculares, que foram bloqueadas por antagonistas de receptores de glutamato e drogas antiepilépticas, como valproato e diazepam	A expressão de c-fos foi aumentada em estruturas do SNC dos zebrafish expostos ao PTZ, e o modelo zebrafish oferece uma alternativa poderosa para estudar convulsões e epileptogênese
Baraban <i>et al</i> (2013)	Drug screening in Scn1a zebrafish mutant identifies clemizole as a potential Dravet syndrome treatment	Caracterizar mutantes de Nav1.1 (<i>scn1Lab</i>) em zebrafish, identificados originalmente em uma triagem de mutagênese química	A expressão de <i>scn1Lab</i> mostrou-se reduzida e a análise de microarranjos revelou uma pequena fração de genes diferencialmente expressos (3%) e a ausência de mudanças compensatórias na expressão de outros subunidades <i>scn</i>	A dieta cetogênica, o diazepam, o valproato, o brometo de potássio e o stiripentol atenuaram a atividade convulsiva dos mutantes; outros sete medicamentos antiepilépticos não tiveram efeito
Bertoncello & Bonan (2023)	The effect of adenosine signaling on memory impairment induced by pentylentetrazole in zebrafish	Verificar o papel da modulação de adenosina no desenvolvimento de crises e no comprometimento cognitivo induzidos por pentylentetrazol (PTZ) em zebrafish.	Os agonistas dos receptores de ADO: Valproato, CPA e EHNA, mostraram efeitos anticonvulsivos e preveniram o comprometimento da memória induzido pela exposição ao PTZ. Os pré-tratamentos com DPCPX, ZM 241385 e dipiridamol preveniram o comprometimento da memória sem alterar a locomoção	Os resultados reforçam os efeitos anticonvulsivos da sinalização de adenosina e apoiam a ideia de que o envolvimento da adenosina nos processos de memória pode ser um alvo para estratégias preventivas contra o comprometimento cognitivo associado à epilepsia
Boehmler <i>et al</i> (2009)	Identification of zebrafish A2 adenosine receptors and expression in developing embryos	Caracterizar os receptores de adenosina A2 (<i>adora2a.1</i> , <i>adora2a.2</i> , <i>adora2b</i>) no zebrafish e investigar seu papel na proteção contra os efeitos neurotóxicos do MPTP	Foram identificados três genes de receptores A2 no zebrafish, que compartilham alta identidade com os receptores de mamíferos. Os receptores A2 foram expressos principalmente no sistema nervoso central. A cafeína demonstrou ser neuroprotetora contra os efeitos do MPTP em embriões de zebrafish	Os receptores de adenosina A2 no zebrafish podem ser alvos promissores para o desenvolvimento de terapias para a doença de Parkinson
Bortolotto <i>et al</i> (2015)	Modulation of adenosine signaling prevents scopolamine-induced cognitive impairment in zebrafish	Investigar os efeitos da administração aguda de cafeína, ZM 241385, DPCPX, dipiridamol e EHNA em um modelo de comprometimento cognitivo farmacológico induzido por escopolamina em zebrafish adultos	Esses compostos preveniram a amnésia induzida pela escopolamina sem impactar a atividade locomotora ou a interação social	Esses dados apoiam a hipótese de que a sinalização da adenosina pode modular o processamento da memória na doença de Alzheimer
Brillatz <i>et al</i> (2014)	Zebrafish-based identification of the antiepileptic nucleoside inosine from the marine diatom <i>Skeletonema marinoi</i>	Identificar metabólitos secundários neuroativos da microalga <i>Skeletonema marinoi</i> usando um bioensaio em zebrafish para avaliar atividades anticonvulsivas	O extrato metanólico de <i>S. marinoi</i> apresentou significativa atividade anticonvulsiva, com a inosina, um agonista do receptor de adenosina, sendo identificada como o principal composto ativo	A metodologia usada inclui a triagem baseada em zebrafish e a fracionamento guiado por bioensaios
Clemente <i>et al</i> (2004)	Cholinergic elements in the zebrafish central nervous system: Histochemical and immunohistochemical analysis	Analisar o sistema colinérgico/cholinérgico do sistema nervoso central (SNC) do zebrafish, utilizando imunohistoquímica para a colina acetiltransferase (ChAT) e histoquímica para a acetilcolinesterase (AChE)	A coloração por AChE foi mais abundante e amplamente distribuída em comparação com a imunoreatividade da ChAT, com diferenças notáveis na distribuição em várias regiões do SNC	Observou-se uma distribuição substancialmente diferente da ChAT e AChE entre zebrafish e outras espécies de peixes, o que pode ser relevante devido ao uso do zebrafish como modelo animal genético ou de desenvolvimento
Doganli <i>et al</i> (2012)	The $\alpha 2Na^+K^+$ -ATPase is critical for skeletal and heart muscle function in zebrafish	Investigar o papel da isoforma $\alpha 2Na^+K^+$ -ATPase em zebrafish, analisando sua expressão em músculos estriados e as consequências de seu knockdown nas funções musculares e cardíacas	A $\alpha 2Na^+K^+$ -ATPase está associada a músculos estriados; seu knockdown causa despolarização do potencial de membrana em repouso, respostas mecânico-sensoriais anômalas, redução da frequência cardíaca e perda de simetria no tubo cardíaco. A deficiência em $\alpha 2Na^+K^+$ -ATPase e o knockdown do trocador Na^+/Ca^{2+} indicam interações importantes entre essas proteínas	A $\alpha 2Na^+K^+$ -ATPase é essencial para as funções musculares esqueléticas e cardíacas em zebrafish, evidenciando a complexidade das interações proteicas em desenvolvimento muscular

Autor/ano	Título	Objetivo	Principais resultados	Outros aspectos destacados
Doganli <i>et al</i> (2013)	$\alpha 3\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase deficiency causes brain ventricle dilation and abrupt embryonic motility in zebrafish	Investigar o papel da subunidade $\alpha 3$ do Na^+/K^+ -ATPase (ATP1A3) no desenvolvimento cerebral e na motilidade em zebrafish, examinando as consequências do knockdown dos ortólogos Atp1a3a e Atp1a3b	O knockdown de Atp1a3a ou Atp1a3b causa dilatação dos ventrículos cerebrais, provavelmente devido a desequilíbrios iônicos que resultam em acúmulo de líquido cefalorraquidiano. A dilatação dos ventrículos cerebrais é acompanhada por despolarização dos neurônios Rohon-Beard da medula espinhal em embriões knockdown de Atp1a3a, sugerindo uma excitabilidade neuronal comprometida	Os resultados ressaltam a importância da $\alpha 3\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase no desenvolvimento cerebral e na motilidade dos zebrafish, associando pela primeira vez a deficiência dessa proteína à dilatação dos ventrículos cerebrais
Feet <i>et al</i> (2010)	Parkin Is Protective against Proteotoxic Stress in a Transgenic Zebrafish Model	Estudar a função da proteína parkin em <i>Danio rerio</i> e comparar aspectos bioquímicos e funcionais do parkin zebrafish com o humano	O knockdown de parkin em zebrafish não causou alterações morfológicas ou comportamentais significativas e não houve perda de neurônios dopaminérgicos. Zebrafish com superexpressão de parkin foram mais protegidos contra morte celular induzida por estresse proteotóxico	Parkin em zebrafish funciona como uma proteína responsiva ao estresse, protegendo as células de morte induzida
Karlovič <i>et al</i> (1998)	Characterization of the Huntington's disease (HD) gene homolog in the zebrafish <i>Danio rerio</i>	Identificação e caracterização do homólogo do gene da doença de Huntington no zebrafish	O gene homólogo da doença de Huntington (HD) foi identificado no zebrafish, codificando uma proteína com 70% de identidade ao huntington humano	
Lam <i>et al</i> (2005)	Zebrafish embryos are susceptible to the dopaminergic neurotoxin MPTP	Examinar os efeitos do MPTP, seu modo de ação proposto, e elucidar o potencial homólogo dos núcleos dopaminérgicos do mesencéfalo de mamíferos por meio de sua função no zebrafish	O estudo revelou que a exposição ao MPTP em embriões de zebrafish reduziu os neurônios dopaminérgicos no diencéfalo, sugerindo uma homologia funcional com os núcleos dopaminérgicos do mesencéfalo de mamíferos	O zebrafish pode ser utilizado como um sistema conveniente e econômico para estudar a patogênese da doença de Parkinson e testar estratégias terapêuticas potenciais
Lopez <i>et al</i> (2022)	A New Zebrafish Model to Measure Neuronal α -Synuclein Clearance In Vivo	Desenvolver modelos de zebrafish expressando a α -sinucleína humana (α -SYN) <i>wildtype</i> e a mutante A53T e investigar os mecanismos e a cinética de agregação e degradação da α -SYN <i>in vivo</i>	Os modelos de zebrafish reproduzem características de sinucleinopatias, como agregação de α -SYN, defeitos mitocondriais, obstrução de tráfego celular e morte neuronal elevada. A proteína α -SYN foi fusionada ao marcador Dendra2, permitindo análises da cinética de degradação da α -SYN <i>wildtype</i> e A53T <i>in vivo</i>	A eliminação adequada da α -SYN tóxica é essencial para a homeostase celular e a sobrevivência neuronal
Lumsden <i>et al</i> (2007)	Huntingtin-deficient zebrafish exhibit defects in iron utilization and development	Explorar os papéis da proteína Huntingtin (Htt) analisando os efeitos da deficiência no desenvolvimento embrionário de zebrafish	A redução da expressão de Htt em zebrafish resultou em vários defeitos de desenvolvimento, incluindo sangue hipocrômico devido à diminuição da produção de hemoglobina, apesar da presença de ferro nas células sanguíneas. Aumento dos transcritos do receptor de transferrina 1 indicou uma possível diminuição dos níveis de ferro	Os resultados sugerem que a perturbação da função normal de Htt na via do ferro, possivelmente causada pela expansão do trecho de poliglutamina, pode contribuir para a patologia da doença de Huntington (HD), especialmente em relação à especificidade neuronal
Mans <i>et al</i> (2019)	Cholinergic Stimulation of the Adult Zebrafish Brain Induces Phosphorylation of Glycogen Synthase Kinase-3 β and Extracellular Signal-Regulated Kinase in the Telencephalon	Explorar os eventos intracelulares que mediam processos colinérgicos no cérebro de zebrafish Investigar o papel da fosforilação de GSK3 β e ERK1/2 em processos cognitivos de zebrafish.	A estimulação colinérgica com carbacol no cérebro de zebrafish induziu a fosforilação de GSK3 β e ERK1/2 no telencéfalo	Eventos intracelulares estão associados a processos cognitivos em zebrafish, similar ao que ocorre em mamíferos
McKinley <i>et al</i> (2005)	Neuroprotection of MPTP-induced toxicity in zebrafish dopaminergic neurons	Demonstrar o efeito do MPTP em neurônios dopaminérgicos de larvas de zebrafish	A toxicidade induzida pelo MPTP em neurônios dopaminérgicos de zebrafish foi prevenida por inibidores da MAO-B, do transportador de dopamina e pela inativação do gene DAT	O efeito do MPTP nos neurônios dopaminérgicos de larvas de zebrafish é mediado pelos mesmos caminhos demonstrados em espécies de mamíferos
Menezes <i>et al</i> (2014)	Transient Disruption of Adenosine Signaling During Embryogenesis Triggers a Pro-epileptic Phenotype in Adult Zebrafish	Investigar os efeitos da interrupção temporária da sinalização adenosinérgica durante o desenvolvimento embrionário do zebrafish, bloqueando os receptores de adenosina <i>adora1</i> , <i>adora2aa</i> e <i>adora2ab</i> , e analisar a suscetibilidade a convulsões durante as fases larval e adulta	O bloqueio dos transcritos <i>adora2aa</i> e <i>adora2aa</i> + <i>adora2ab</i> aumentou a mortalidade e causou altas taxas de malformações. Além disso, na fase adulta, os animais mostraram uma latência reduzida para atingir estágios avançados de convulsões, sugerindo maior suscetibilidade	A interrupção temporária dos receptores adenosinérgicos durante o desenvolvimento embrionário afetou a sobrevivência e a morfologia. Efeitos de longo prazo no desenvolvimento neural aumentaram a vulnerabilidade a convulsões na fase adulta

Autor/ano	Título	Objetivo	Principais resultados	Outros aspectos destacados
Mueller <i>et al</i> (2004)	The adult central nervous cholinergic system of a neurogenetic model animal, the zebrafish <i>Danio rerio</i>	Documentar o sistema colinérgico central do zebrafish usando métodos imunohistoquímicos para visualizar a enzima sintetizadora de acetilcolina, ChAT	Campos terminais positivos para ChAT foram encontrados em várias áreas, incluindo o núcleo supracomissural do telencéfalo, o núcleo pré-tectal superficial e os lobos facial, glossofaringeo e vagal	Algumas populações colinérgicas no telencéfalo ventral e no núcleo reticular superior do istmo são homólogas aos sistemas ativadores ascendentes de mamíferos
Musa <i>et al</i> (2001)	Distinct expression patterns of two zebrafish homologues of the human APP gene during embryonic development	Identificar homólogos do gene APP (precursor da proteína amiloide humana) em zebrafish no seu estado larval	Foram identificados dois homólogos do gene APP: o <i>appa</i> e <i>apbb</i> . Os genes mostraram um alto grau de identidade com o APP humano	
Rico <i>et al</i> (2003)	ATP and ADP hydrolysis in brain membranes of zebrafish (<i>Danio rerio</i>)	Relatar as propriedades enzimáticas da NTPDase em membrana cerebrais de zebrafish	O estudo demonstrou a presença de uma NTPDase em membranas cerebrais de zebrafish, que é dependente de cátions, com atividade máxima para a hidrólise de ATP e ADP em pH entre 7,5 e 8,0, e a 37°C. A enzima mostrou-se insensível a inibidores clássicos de ATPase, como ouabaína, mas foi inibida pela azida de sódio	
Rico <i>et al</i> (2006)	Methanol alters ecto-nucleotidases and acetylcholinesterase in zebrafish brain	Testar o efeito agudo do metanol na atividade da ecto-nucleotidase (NTPDase, ecto-5'-nucleotidase) e da acetilcolinesterase (AChE) no cérebro de zebrafish	O metanol causou diminuições significativas na hidrólise de ATP e ADP, além de inibir a atividade da AChE em concentrações de 0,25% a 1,0%, enquanto a atividade da ecto-5'-nucleotidase não foi alterada	O metanol inibiu a expressão de transcritos de NTPDase1 e NTPDase2, sugerindo que os efeitos inibitórios observados nas enzimas podem contribuir para os eventos neurodegenerativos induzidos pelo metanol no cérebro de zebrafish
Saito (2010)	Identification of zebrafish FXYD11a protein that is highly expressed in ion-transporting epithelium of the gill and skin and its possible role in ion homeostasis	Investigar os mecanismos moleculares de regulação da Na ⁺ -K ⁺ -ATPase nas células ricas em mitocôndrias (MRCs) de zebrafish de água doce, identificando as proteínas FXYD expressas nessas células	A imunofluorescência dupla mostrou que zFxyd11 é abundante nas MRCs ricas em Na ⁺ -K ⁺ -ATPase (NaK-MRCs), e uma análise de proximidade in situ demonstrou sua associação próxima com a Na ⁺ -K ⁺ -ATPase. A expressão de zFxyd11 foi detectável a partir de 1 dia pós-fertilização e variou em resposta a mudanças nas concentrações iônicas ambientais. O knockdown de zFxyd11 resultou em um aumento significativo no número de células positivas para Na ⁺ -K ⁺ -ATPase na pele larval	Os resultados sugerem que zFxyd11 pode regular a capacidade de transporte das NaK-MRCs modulando a atividade da Na ⁺ -K ⁺ -ATPase, além de estar envolvido na regulação da homeostase de fluidos corporais e eletrólitos
Seibt <i>et al</i> (2012)	MK-801 alters Na ⁺ , K ⁺ -ATPase activity and oxidative status in zebrafish brain: reversal by antipsychotic drugs	Investigar a influência de medicamentos antipsicóticos nos efeitos da administração de MK-801, uma droga que imita as mudanças bioquímicas observadas na esquizofrenia, sobre a atividade da Na ⁺ , K ⁺ -ATPase e alguns parâmetros de estresse oxidativo no cérebro de zebrafish	O tratamento com MK-801 reduziu significativamente a atividade da enzima, e todos os antipsicóticos testados impediram esses efeitos. O tratamento agudo com MK-801 não alterou as espécies reativas de oxigênio/nitrogênio, mas aumentou os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em comparação com os controles. Antipsicóticos como sulpirida, olanzapina e haloperidol impediram o aumento de TBARS causado pelo MK-801	Os resultados sugerem que o dano oxidativo pode ser um mecanismo envolvido na redução da atividade da NKA induzida pelo MK-801. Este estudo apresenta parâmetros que não haviam sido testados anteriormente neste modelo animal, indicando que o zebrafish pode contribuir para fornecer informações sobre tratamentos potenciais e características da doença pelo MK-801
Seibt <i>et al</i> (2015)	Investigation into effects of antipsychotics on ectonucleotidase and adenosine deaminase in zebrafish brain	Investigar os efeitos de antipsicóticos típicos e atípicos sobre as atividades das enzimas ectonucleotidases e da adenosina deaminase (ADA) no cérebro do zebrafish, bem como analisar os padrões de expressão gênica relacionados	O tratamento com haloperidol reduziu a hidrólise de ATP. Os antipsicóticos sulpirida e olanzapina não alteraram as atividades das ectonucleotidases e ADA. O haloperidol também reduziu a transcrição de mRNA para os genes <i>entpd2_mq</i> , <i>entpd3</i> e <i>adal</i>	O sistema purinérgico pode ser um alvo dos efeitos farmacológicos promovidos pelo haloperidol, possivelmente relevante para o tratamento de distúrbios psicóticos
Sidik <i>et al</i> (2020)	Huntingtin confers fitness but is not embryonically essential in zebrafish development	Investigar a função da proteína HTT no desenvolvimento pós-natal usando um modelo de zebrafish com knockout constitutivo de HTT	Em adultos, os knockouts mostraram redução significativa no tamanho corporal e na aptidão física em comparação a hemizigotos e peixes selvagens	O modelo de zebrafish permite estudar a função da HTT em fases mais avançadas do desenvolvimento
Wu <i>et al</i> (2016)	Multiple signaling factors and drugs alleviate neuronal death induced by expression of human and zebrafish tau proteins in vivo	Elucidar os mecanismos pelos quais a proteína tau causa neurodegeneração em modelos transgênicos de zebrafish	A expressão de tau-GFP em embriões de zebrafish causou neurotoxicidade significativa, mas fatores de sinalização e compostos neuroprotetores preveniram a morte neuronal	Este sistema pode servir como uma plataforma eficiente de imagem in vivo para a descoberta de novos medicamentos contra tauopatias