Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Paula Hosana Fernandes da Silva

Efeitos do extrato da *Alpinia zerumbet* sobre a neurotoxicidade e as alterações comportamentais induzidas pelo 3, 3', 4, 4', 5-pentaclorobifenil (PCB 126)

Rio de Janeiro
2024

Paula Hosana Fernandes da Silva

Efeitos do extrato da *Alpinia zerumbet* sobre a neurodegeneração e as alterações comportamentais induzidas pelo 3,3',4,4',5-pentaclorobifenil (PCB 126)

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Profª. Dra. Graziele Freitas de Bem

Coorientadora: Profª. Dra. Angela de Castro Resende

Rio de Janeiro

2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S586 Silva, Paula Hosana Fernandes da.
Efeitos do extrato da *Alpinia zerumbet* sobre a neurotoxicidade e as alterações comportamentais induzidas pelo 3, 3', 4, 4', 5-pentaclorobifenil (PCB126) / Paula Hosana Fernandes da Silva – 2024.
93f.

Orientadora: Prof. Dra. Graziele Freitas de Bem
Coorientadora: Prof. Dra. Angela de Castro Resende

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Bifenilos Policlorados. 2. Atividade motora - Teses. 3. Plantas medicinais - Teses. 4. Síndromes neurotóxicas. I. Bem, Graziele Freitas de II. Resende, Angela de Castro. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 661.715.4

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____
Assinatura Data

Paula Hosana Fernandes da Silva

Efeitos do extrato da *Alpinia zerumbet* sobre a neurodegeneração e as alterações comportamentais induzidas pelo 3,3',4,4',5-pentaclorobifenil (PCB 126)

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 30 de setembro de 2024.

Orientadora: Prof.ª Dra. Graziele Freitas de Bem
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Coorientadora: Prof.ª Dra. Angela de Castro Resende
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora: _____
Prof. Dr. Cláudio Carneiro Filgueiras
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

_____
Prof. Dr. Guilherme Carneiro Montes
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

_____
Prof. Dr. Heitor Affonso de Paula Neto
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro
2024

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, que são minha base.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui. Só agradeço à minha mãe, Rosana, que me ajudou e acreditou em mim quando nem eu mesma acreditei. Meu pai, Paulo, que sempre me animou e me incentivou a nunca desistir nos dias que era tudo o que eu queria fazer. Rodrigo, meu namorado, que me incentivou e me ajudou tanto. Junior, meu irmão, minha alma gêmea e meu melhor amigo da vida. Marina, minha segunda mãe e meu anjo da guarda, obrigada por tudo. Vocês são minha vida. Só agradeço a Deus pela vida de vocês, por terem me abraçado e terem segurado meu mundo no lugar quando tudo o que eu tinha a ofertar eram lágrimas. Sem vocês não seria possível.

Gostaria de agradecer à minha orientadora Drª. Graziele Freitas de Bem por ter me acolhido e apostado em mim, além de ter confiado em mim como sua primeira aluna de pós-graduação. Esse trabalho marca um tempo importante na minha vida, que ficará em meu coração para sempre. Quero agradecer à minha coorientadora Drª Angela de Castro Resende por todo o suporte. Além disso, não poderia deixar de agradecer à Drª Cristiane Aguiar da Costa e Drª Dayane Teixeira Ognibene, por auxiliarem não só a mim, como a todos os alunos do laboratório diariamente.

Quero agradecer a todos os meus colegas de laboratório e aos amigos que levo desse lugar incrível que tenho o privilégio de dizer que fiz e faço parte de alguma forma. Obrigada pelas risadas nos dias difíceis, bagunças nos dias apropriados e o trabalho duro diário. Gostaria de agradecer em especial à Dafne Lopes, só ela sabe o quanto foi importante para que esse trabalho andasse, por me acolher e sempre me ouvir e me aconselhar. Beatriz Cardoso e Mariana Alencar, obrigada por sempre me ouvirem e aconselharem essa iniciante que ainda é. Ana Caroline Assis, por ter sido minha primeira parceira no laboratório, e Wallace, por ambos terem sido meus auxiliares. Por fim, quero agradecer à Flávia, Juliana e Camilla, pelas incontáveis risadas e conversas edificantes. Levo cada um de vocês em meu coração.

Por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer aos meus colaboradores, Dr André Luiz, Dr Cláudio Filgueiras, Drª Jemima Isnardo, Drª Fabrícia Lima, Dr Julio Daleprane, que foram essenciais para que esse trabalho acontecesse. Além disso, não posso deixar de agradecer a Msc. Lenize, por também ter ajudado nesse trabalho e nos conselhos de vida.

Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo bolsa concedida durante o desenvolvimento do meu mestrado e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo fomento que foi essencial para o desenvolvimento do nosso trabalho.

A todos, o meu muito obrigada.

O navio está seguro quando está no porto, mas não é para isso que se fazem navios

John A. Shedd

RESUMO

SILVA, Paula Hosana Fernandes da. **Efeitos do extrato da *Alpinia zerumbet* sobre a neurotoxicidade e as alterações comportamentais induzidas pelo 3, 3', 4, 4', 5-pentaclorobifenil (PCB 126).** 2024. 93 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Os bifenilos policlorados (PCBs) são compostos sintéticos que se bioacumularam contaminando o ecossistema global. Estudos identificaram a vulnerabilidade do cérebro a esses compostos. Os polifenóis, entretanto, têm demonstrado efeito neuroprotetor. Nosso grupo mostrou que o extrato de folhas frescas de Alpinia zerumbet (AZE), rico em polifenóis, possui efeitos antioxidantes em um modelo de hipertensão. Portanto, nosso objetivo foi avaliar se o AZE é capaz de prevenir a neurotoxicidade e alterações comportamentais induzidas pelo PCB126 em camundongos C57BL/6 adultos. Camundongos C57BL/6 machos foram divididos em quatro grupos: Control (Controle), Control+AZE (50mg/kg/dia na água de beber), PCB (2mg/Kg/uma vez por semana), PCB+AZE (2mg/Kg/uma vez por semana; 50mg/Kg/dia), durante quatro semanas. Ao final do experimento, os animais realizaram testes comportamentais e foram eutanasiados (CEUA/021/2021). Foi avaliado o dano oxidativo e a atividade antioxidante no tronco encefálico, cerebelo, mesencéfalo e córtex esquerdo, além de marcadores de neurodegeneração e neuroinflamação no córtex direito através de qPCR e Western Blotting. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA), seguidas pelo pós-teste de Tukey, sendo considerado significativo quando $p<0,05$. Houve uma diminuição da atividade locomotora nos animais do grupo PCB em comparação aos controles, que foi prevenida pelo AZE no Teste de Labirinto em Cruz Elevado (EPM) e de Campo Aberto. Não foi evidenciado o comportamento do tipo ansioso nesses testes. O tratamento com AZE foi capaz de melhorar a memória espacial no grupo exposto ao PCB tratado pelo AZE no Teste de Localização de Objetos. Não houve diferença estatística entre os grupos no Teste do Nado Forçado. O grupo PCB apresentou aumento da peroxidação lipídica em relação ao grupo Cont+AZE no tronco encefálico e córtex esquerdo, o que foi prevenido pelo tratamento com AZE no grupo PCB+AZE. A atividade da enzima antioxidante Catalase foi maior com o tratamento com AZE no cerebelo e no mesencéfalo. Não foram evidenciadas diferenças estatísticas nos níveis de dopamina no córtex de ambos os hemisférios, entretanto houve aumento de serotonina, glutamato, GABA e acetilcolina nos grupos que receberam o PCB 126 e foram tratados com AZE. No córtex direito, não foi observado diferenças nos níveis de Parp-1, Bcl-2 e receptor M1, porém houve aumento da proteína pró-apoptótica Bax no grupo PCB. O tratamento com AZE foi capaz de prevenir esse aumento no grupo tratado. No hipocampo, o grupo exposto ao PCB apresentou uma redução da proteína anti-apoptótica Bcl-2. Houve aumento da expressão da tirosina hidroxilase no grupo PCB+AZE e redução da expressão do receptor D2 no grupo PCB. Não foram observadas diferenças estatísticas em relação à expressão da Bax, receptor M1 e BDNF no hipocampo, assim como, da neuroinflamação no córtex direito. Nossos resultados demonstraram que o extrato preveniu o desenvolvimento de alterações locomotoras induzidos pelo PCB, sem causar comportamento do tipo ansioso. O extrato também preveniu o dano oxidativo e a redução da atividade antioxidante em diferentes regiões, além de prevenir alterações de proteínas associadas à apoptose, sugerindo um efeito neuroprotetor.

Palavras-chave: neurodegeneração; locomoção; bifenilos policlorados; *Alpinia zerumbet*.

ABSTRACT

SILVA, Paula Hosana Fernandes da. **Effects of *Alpinia zerumbet's* extract on the neurotoxicity and behavioral alterations induced by 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126).** 2024. 93 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are synthetic compounds that have bioaccumulated and consequently contaminated the global ecosystem. Research has demonstrated the brain's susceptibility to these compounds. In contrast, polyphenols have shown neuroprotective effects. Our research group has previously demonstrated that the extract from fresh leaves of *Alpinia zerumbet* (AZE), rich in polyphenols, exhibits antioxidant properties in a hypertension model. This study aimed to evaluate whether AZE can prevent neurotoxicity and behavioral changes induced by PCB126 in adult C57BL/6 mice. Male C57BL/6 mice were divided into four groups: Control, Control+AZE (50 mg/kg/day in drinking water), PCB (2 mg/kg/week), and PCB+AZE (2 mg/kg/week; 50 mg/kg/day). The treatments were administered over four weeks. At the end of the experiment, the animals underwent behavioral tests and were subsequently euthanized (CEUA/021/2021). We assessed oxidative stress and antioxidant activity in the brain stem, cerebellum, midbrain and left cortex, as well as markers of neurodegeneration and neuroinflammation through qPCR and Western Blotting in the right cortex. Differences between groups were analyzed using analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post-hoc test, with significance considered when $p<0.05$. Our findings revealed a reduction in locomotor activity in the PCB group compared to controls, an effect mitigated by AZE treatment in the Elevated Plus Maze and Open Field Test. Notably, no anxious behavior was observed in these tests. AZE treatment also improved spatial memory in the PCB-exposed group, as demonstrated by the Object Location Test. There were no significant differences between groups in the Forced Swim Test. The PCB group showed increased lipid peroxidation in the brainstem and left cortex relative to the Control+AZE group, an increase that was prevented by AZE treatment in the PCB+AZE group. AZE treatment was associated with significantly higher activity of the antioxidant enzyme Catalase in the cerebellum and midbrain. Although there were no statistical differences in dopamine levels in the cortex of both hemispheres, levels of serotonin, glutamate, GABA and acetylcholine were elevated in the groups exposed to PCB and treated with AZE. In the right cortex, there were no differences in Parp-1, Bcl-2, and M1 receptor levels, but an increase in the pro-apoptotic protein Bax was observed in the PCB group, which was prevented by AZE treatment. In the hippocampus, the PCB-exposed group showed a reduction in the anti-apoptotic protein Bcl-2. Additionally, there was an increase in tyrosine hydroxylase expression in the PCB+AZE group and a decrease in D2 receptor expression in the PCB group. No significant statistical differences were found in the expression of Bax, M1 receptor, and BDNF in the hippocampus. There were no differences in RNAm expression of neuroinflammation markers in the right cortex. In conclusion, the results indicate that the extract of *Alpinia zerumbet* effectively prevents the development of locomotor deficits induced by PCB, does not induce anxious behavior and improves spatial memory. Moreover, the extract prevents oxidative damage and a reduction in antioxidant activity across different brain regions and beneficially prevents alterations in apoptosis-associated proteins, suggesting a neuroprotective effect.

Keywords: neurodegeneration; locomotion; *Alpinia zerumbet*; PCB.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diferentes NDLs e DLs congêneres de PCB 16
Figura 2 – Síntese Dopaminérgica 23
Figura 3 – Neurotransmissão Dopaminérgica 24
Figura 4 – Via Direta da Via Nigrostriatal..... 25
Figura 5 – Via Indireta da Via Nigroestriatal..... 26
Figura 6 – *Alpinia zerumbet* 35
Figura 7 – Linha do tempo experimental 39
Figura 8 – Extrato hidroalcóolico de folhas verdes da *Alpiniai zerumbet* 40
Figura 9 – Avaliação do comportamento do tipo ansioso no Teste de Labirinto em Cruz Elevado 51
Figura 10 – Avaliação do efeito do AZE sobre a locomoção e comportamento do tipo ansioso no Teste de Campo Aberto..... 52
Figura 11 – Avaliação do efeito do AZE sobre a memória espacial e aprendizado..... 53
Figura 12 – Avaliação do efeito do AZE sobre o comportamento do tipo depressivo..... 54
Figura 13 – Peroxidação lipídica em diferentes regiões do encéfalo..... 60
Figura 14 – Atividade da SOD em diferentes regiões do encéfalo..... 62
Figura 15 – Atividade da CAT em diferentes regiões do encéfalo..... 64
Figura 16 – Níveis de proteínas envolvidas na apoptose em amostra de córtex direito..... 66
Figura 17 – Níveis de proteínas envolvidas na apoptose em amostra de hipocampo..... 67
Figura 18 – Níveis de TH e D2r no córtex direito..... 68
Figura 19 – Níveis do receptor M1 no córtex direito e hipocampo..... 61
Figura 20 – Níveis de BNDF no hipocampo..... 70
Figura 21 – Níveis de RNAm de moléculas relacionadas à inflamação..... 71
Figura 22 – Níveis de RNAm de moléculas relacionadas à formação de ROS e inflamação..... 72
Figura 23 – Resumo 80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Conteúdo polifenólico total dos diferentes preparos do AZE..... 36
Tabela 2 – Anticorpos utilizados para Western Blotting..... 46
Tabela 3 – Primers utilizados para qPCR..... 47
Tabela 4 – Níveis de TH, DA, NOR e seus metabólitos no córtex direito..... 55
Tabela 5 – Níveis de DA no córtex esquerdo..... 56
Tabela 6 – Níveis de colina e ACh no córtex direito..... 56
Tabela 7 – Níveis de serotonina e seus metabólitos no córtex direito..... 57
Tabela 8 – Avaliação de GABA, glutamina e glutamato..... 58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PCB	Bifenilos policlorados
POP	Poluente Orgânico Persistente
UNEP	Do inglês *United Nations Environment Programme*
DL	Do inglês *Dioxin-like*
AhR	Receptor de hidrocarboneto de arila
NDL	Do inglês *Non-dioxin-like*
ROS	Espécies reativas de oxigênio
PCDD	Dibenzo-p-dioxinas policloradas
PCDF	Dibenzofuranos policlorados
L	Litro
EFSA	Autoridade Europeia de Segurança Alimentar
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
CAT	Catalase
GPx	Glutationa peroxidase
NOSi	Óxido nítrico sintase induzível
NO	Óxido nítrico
TLR	Do inglês *Toll-like receptors*
NLR	Do inglês *NOD-lie receptors*
TNF	Fator de necrose tumoral
IL	Interleucina
MCP	Proteína quimiotática de monócitos
Nrf2	Fator nuclear eritróide 2
Bcl	Do inglês *B-cell lymphoma protein 2*
Bax	Do inglês *Bcl-2 associated protein X*
PARP	Poli (ADP-ribose) polimerase
DA	Dopamina
L-DOPA	L-3,4-dihidroxifenilalanina
TH	Tirosina hidroxilase
AADC	L-aminoácido-aromático descarboxilase

VMAT	Transportador vesicular de monoaminas
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
DAT	Transportador de dopamina
OCT	Transportadores de cátions orgânicos
SNc	Substância negra compacta
MAO	Monoaminaoxidase
COMT	Cateol-O-metiltransferase
GABA	Ácido gama-aminobutiríco
GPi	Segmento interno do globo pálido
SNr	Substância negra reticulada
GPe	Segmento externo do globo pálido
BDNF	Do inglês *Brain-derived neutropic fator*
NE	Norepinefrina
5-HT	5-hidroxitripamina
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizada
ACh	Acetilcolina
ASE	Extrato Hidroalcoólico do Caroço do Açaí
AZE	Extrato Hidroalcoólico de Folhas Frescas da *Alpinia Zerumbet*
CTP	Conteúdo total de polifenol
GAE	Equivalente de ácido gálico
RENISUS	Relação Nacional de Plantas de Interesse ao Sistema Único de Saúde
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
TBARS	Do inglês *Thiobarbituric acid reactive species*
MDA	Malonaldeído
TBA	Do inglês *Thiobarbituric acid*
ANOVA	Do inglês *One-way analysis of variance*

LISTA DE SÍMBOLOS

µg/kg	Micrograma por quilograma
±	Mais ou menos
α	Alfa
κ	Kappa
rpm	Rotações por minuto
°C	Graus Celsius
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
Ng	Nanograma
Δ	Delta
mg	Miligrama
mM	Micromolar
nm	Nanômetros
µL	Microlitro
µg	Micrograma
Ct	Valor de limiar de ciclo
pg/mL	Picogramas por mililitro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 15
1 **OBJETIVOS** 37
1.1 **Objetivo geral** 37
1.2 **Objetivos específicos** 37
2 **MÉTODOS E MATERIAIS** 38
2.1 **Animais e modelo experimental** 38
2.2 **Preparo do AZE** 39
2.3 **Testes comportamentais** 41
2.3.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado 41
2.3.2 Teste do Campo Aberto 41
2.3.3 Teste de Localização de Objetos 42
2.3.4 Teste do Nado Forçado 42
2.4 **Eutanásia** 43
2.5 **Determinação do estresse oxidativo** 43
2.5.1 Preparo do homogenato e dosagem de proteínas 43
2.5.2 Determinação de estresse oxidativo 44
2.5.3 Avaliação da atividade antioxidante 44
2.6 **Expressão proteica por Western Blotting** 45
2.7 **Quantificação de RNAm através da RT-qPCR** 47
2.8 **Avaliação de neurotransmissores por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UHPLC – *Ultra-high Performance Liquid Chromatography*)** 47
2.8.1 Preparo do tecido 47
2.8.2 Quantificação dos neurotransmissores 48
2.8.3 Quantificação dos níveis corticais de DA por ELISA 48
2.9 **Análise estatística** 49
3.1 **Efeitos do AZE sobre as alterações comportamentais induzidas pelo PCB 126** 50
3.1.1 Efeitos do AZE sobre o comportamento do tipo ansioso e atividade locomotora 50
3.1.2 Efeito do AZE sobre o aprendizado e memória 53
3.1.3 Efeito do AZE sobre o comportamento do tipo depressivo 54
3.4 **Efeitos do AZE alterações da atividade antioxidante** 61
3.4.1 Efeito do AZE sobre alteração da atividade da SOD 61
3.4.2 Efeito do AZE sobre a atividade da CAT 63

3.7 **Efeitos do tratamento com AZE sobre o aprendizado e memória no córtex** direito **e no hipocampo** 69
3.8 **Efeito do tratamento com AZE sobre a expressão de BDNF no hipocampo** 70
3.9 **Efeito do tratamento com AZE sobre neuroinflamação no córtex direito** 71
4 **DISCUSSÃO** 73
CONCLUSÃO 81
REFERÊNCIAS 82

INTRODUÇÃO

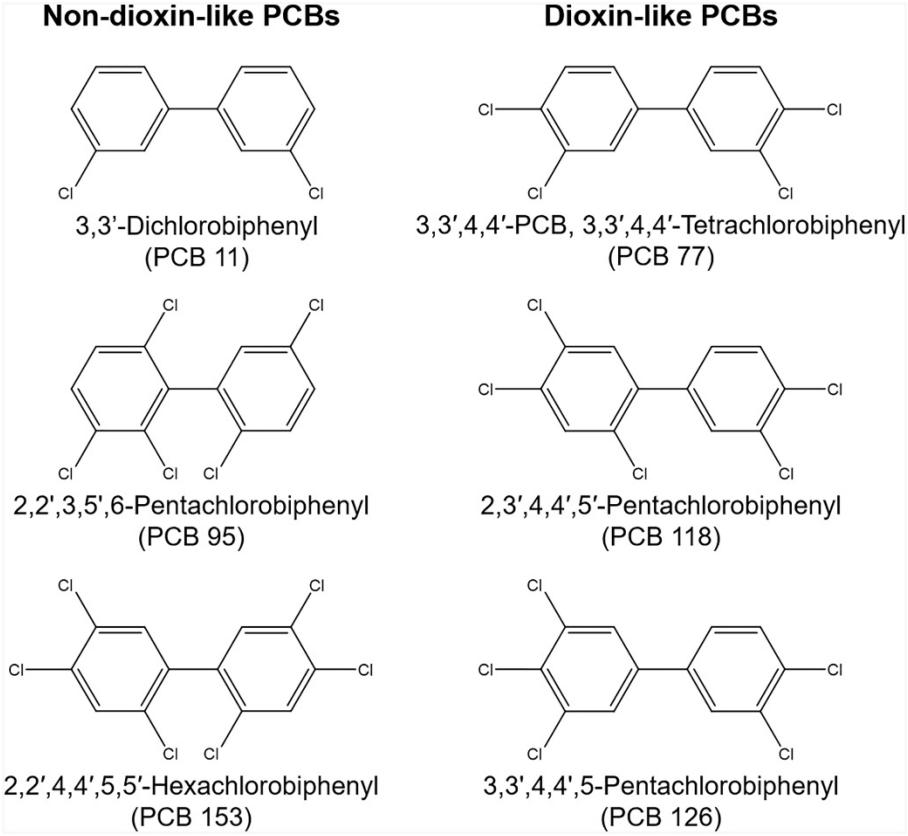
Os bifenilos policlorados (PCBs) são substâncias consideradas como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) por conta de sua persistência no meio ambiente. Esses compostos foram introduzidos para uso em fluidos dielétricos para reduzir o risco de explosão de capacitores e transformadores, plastificantes e retardantes de chamas em produtos para construção e tintas. Devido a estas características, são substâncias que foram distribuídas globalmente, sendo principalmente utilizadas em fluidos dielétricos de capacitores e transformadores (MELYMUK *et al.*, 2022).

Esses compostos foram produzidos e utilizados em grande escala desde a década de 1930 até meados da década de 1980, quando passaram a ser produzidos e utilizados com restrições em diferentes regiões do mundo, até serem totalmente proibidos após a Convenção de Estocolmo. A convenção visou não só banir a produção dos PCBs, assim como eliminar gradualmente os compostos ainda em uso até o ano de 2025 (UNEP, 2017). No Brasil, a produção, uso e comercialização desses compostos foi proibida no início dos anos 1980. Entretanto, a mesma legislação permite que transformadores já em uso, permaneçam utilizando os PCBs até sua troca ou substituição do fluido dielétrico (PENTEADO; VAZ, 2001; SILVA; TORRES; MALM, 2007).

De forma geral, a lipossolubilidade dos PCBs aumenta com o número de átomos de cloro na molécula. Com isso, esses compostos tendem a se acumular nos tecidos ricos em lipídeos. As moléculas de PCB consistem em dois anéis de fenol com 1 a 10 átomos de cloro ligados ao redor destes, resultando em 209 diferentes congêneres caracterizados por seus graus de cloração e padrão de substituição. No meio ambiente, são geralmente encontrados em misturas complexas originando em formulações comerciais, como o chamado Aroclor ou Ascarel (CORREA *et al.*, 2010). Uma das maneiras de categorização dos PCBs é baseada justamente em sua semelhança à dioxina. Átomos de cloro nas posições meta e para nos anéis de fenol, ou seja, nas posições 3, 4 e 5 faz com que essas moléculas assumam uma estrutura coplanar, também chamada de semelhante à dioxina (DL ou *dioxin-like*). Por conta dessa semelhança estrutural, essas moléculas conseguem se ligar aos receptores de hidrocarboneto de arila (AhR) (BELL, 2014; PANESAR *et al.*, 2020), o que potencializa os efeitos tóxicos desses compostos, como é o caso dos congêneres 77 (3,3’,4,4’-tetraclorobifenil), 126 (3,3’,4,4’,5-pentaclorobifenil) e 169 (3,3’,4,4’,5,5’-hexaclorobifenil) (SIMON; BRITT; JAMES, 2007). Por sua vez, as moléculas com baixo grau de cloração, assumem estrutura

não-coplanar, ou não semelhantes à dioxina (NDL ou *non-dioxinlike*), como é o caso do PCB 11 (KLOCKE; SETHI; LEIN, 2020) (Figura 1).

Figura 1 – Diferentes NDLs e DLs congêneres de PCBs



Legenda: Diferentes congêneres de PCBs, classificados como NDLs ou DLs, incluindo PCB 126.
Fonte: KLOCKE; SETHI; LEIN, 2020.

O AhR é um receptor citoplasmático, expresso em diversos tecidos, que modula respostas celulares e a toxicidade a estímulos xenobióticos, através da indução de enzimas da subfamília 1A do citocromo P450 (CYP4501A) (ZHANG *et al.*, 2022). A ativação da CYP1A1 pode ocasionar a formação de espécies reativas, principalmente de oxigênio (ROS). Essas moléculas podem induzir o aumento da síntese e liberação de mediadores inflamatórios e causar danos ao DNA celular, culminando na apoptose ou carcinogênese (ACCIOLI *et al.*, 2023). Portanto, o PCB 126, por possuir alta capacidade de promover a estimulação desse receptor, possui potencial de ocasionar elevada toxicidade.

A proibição da produção dos PCBs não impediu a continuidade da contaminação do meio ambiente, que ocorre principalmente por conta do descarte inadequado dos equipamentos dielétricos que o utilizam, sendo esse feito de forma errônea e/ou em locais

inapropriados. Além disso, é comum que ocorra a incineração de lixo municipal e industrial, sendo esse muitas vezes não efetivo para a destruição dessas substâncias, causando um problema ainda maior. Os PCBs são substâncias inflamáveis a altas temperaturas, tendo como produto de sua combustão moléculas maléficas à saúde e ao meio ambiente, como dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDDs) e dibenzofuranos policlorados (PCDFs) (PEREIRA, 2004). Por conta da necessidade de tratamento específico para remoção e destruição dos PCBs, centenas de litros do produto ou de equipamentos desativados que o contém, permanecem em depósitos. Um exemplo foi o ocorrido em 2012 no Rio Grande do Sul, noticiado pelo jornal Correio do Povo, no qual 1000L de Ascarel foram removidos do Porto da Capital, às margens do rio Guaíba, após permanecerem armazenados por 10 anos após desativação de transformadores. Além da remoção do produto em si, todo o piso do local precisou ser removido e trocado em decorrência de vazamento da mistura. Esse acontecimento enfatiza que, apesar desses compostos terem sido proibidos há 40 anos no país, o risco de contaminação ainda é extremamente alto (CORREIO DO POVO, 2012).

Outro exemplo de contaminação foi demonstrado através de um estudo que avaliou mamíferos marinhos da costa Sul e Sudeste do Brasil, constatando que esses animais continham altas concentrações de PCBs, como os cetáceos da região da Baía de Guanabara e do litoral de São Paulo, especialmente do congênere 126, no tecido adiposo e hepático (DORNELES *et al.*, 2013). Em outros dois estudos, foi possível verificar a presença de diferentes congêneres de PCBs em amostras de leite materno de diferentes regiões do país. Mulheres que moravam mais próximas de regiões industrializadas como São Paulo, ou de mares e rios contaminados, apresentaram maior concentração dessas substâncias na amostra, demonstrando uma relação proporcional aos níveis de PCBs e a industrialização. Entre os principais fatores que levam à presença de PCBs no leite materno, o mais importante é o alto teor lipídico dessa matriz (KOWALSKI *et al.*, 2010, 2013).

Entre as diferentes formas de exposição a esses compostos, uma das principais vias de exposição humana é a ingestão de alimentos contaminados. A legislação brasileira prevê limites de referência para a quantidade de PCBs em alguns alimentos como a carne (200µg/kg), leite (100µg/L) e o peixe de cultivo (15µg/kg) (BRASIL, 2011). Na Europa, esses limites máximos permitidos são expressos em TEQ (total de toxicidade equivalente). Segundo o relatório de risco publicado em 2018 pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (Sigla em inglês EFSA), o limite máximo de ingestão semanal que seria de 2µg TEQ/kg de peso corporal, foi excedido em todas as faixas etárias com base nos dados recolhidos pelos países membros (PEREIRA, 2004). Um estudo feito no Rio Grande do Sul

avaliou amostras de grãos de arroz e de feijão, que são dois alimentos que compõem a cesta básica brasileira e que são base não só da alimentação nacional, como também de diversos outros países do mundo. O estudo constatou níveis importantes de contaminação por PCBs nesses alimentos (COCCO *et al.*, 2015). Outro trabalho que foi desenvolvido por Costabeber *et al.* (2006) constatou a presença dessas substâncias em amostras de carnes de origem bovina e suína, porém os níveis de PCBs estavam abaixo do permitido para esses produtos.

Dessa forma, apesar da existência de legislação para limitação da presença desses compostos, a literatura salienta as diversas fontes de exposição aos PCBs que, por sua característica química de ser altamente lipossolúvel, pode sofrer acúmulo no organismo ao exceder a capacidade de metabolização. A toxicidade ocasionada pelos compostos pode causar alterações periféricas, como alterações endócrinas e câncer (BUHA DJORDJEVIC *et al.*, 2020; MOHR; COSTABEBER, 2012) e também neurotoxicidade (TILSON; KODAVANTI, 1998).

Efeitos dos PCBs no Sistema Nervoso Central (SNC)

O cérebro é um órgão que possui grandes quantidades de colesterol e esfingolipídeos, que estão envolvidos na neurogênese e sinaptogênese, transmissão de impulsos e na manutenção do desenvolvimento do cérebro e seus processos celulares (YANG *et al.*, 2022). Além disso, possui alto consumo de oxigênio (cerca de 20% do oxigênio total) (MICHALSKA; LEÓN, 2020). Essas características tornam o órgão susceptível às ações dos PCBs por esses compostos possuírem alta lipossolubilidade, sendo capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e causar neurotoxicidade e alterações na homeostase do SNC (FAROON; JONES; DE ROSA, 2000).

Um papel essencial entre a transmissão de informação pelo SNC e Periférico é desempenhado pelos neurotransmissores, que são moléculas mensageiras que carregam sinais entre as células nervosas e dessas para as outras células. Essas substâncias amplificam, transmitem e convertem informações, sendo essenciais na comunicação de neurônios, podendo afetar funções como emoções, cognição, memória e locomoção. Consequentemente, alterações nos níveis dessas moléculas refletem na desregulação de funções cerebrais, levando a distúrbios psiquiátricos, físicos e neurodegenerativos (TELEANU *et al.*, 2022). Estudos evidenciaram que alterações nessas moléculas em diferentes regiões do cérebro, como redução das concentrações de dopamina, norepinefrina e serotonina (FAROON; JONES; DE

ROSA, 2000; RICHARDSON; MILLER, 2004), contribuem para alterações comportamentais, como as induzidas por PCBs.

Um aspecto crucial na neurotoxicidade causada pelos PCBs é sua capacidade de se acumular no tecido cerebral devido à alta lipossolubilidade desses compostos e o conteúdo lipídico do tecido cerebral. A toxicidade induzida pelos PCBs está ligada ao aumento da produção de ROS (BAVITHRA *et al*., 2012), através da ativação do AhR, que é relacionado ao aumento de estresse oxidativo e inflamação (NEAVIN *et al.*, 2018). A produção excessiva de ROS pode ocorrer tanto na perda de neurônios durante o desenvolvimento e envelhecimento quanto em condições patológicas, como após exposição a toxinas (FRANKLIN, 2011), como o PCB 126. Como as ROS são um subproduto comum do metabolismo celular aeróbico normal, o sistema antioxidante intrínseco do organismo desempenha um papel importante na prevenção de danos celulares causados pela superprodução dessas espécies. O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade do sistema biológico de neutralizar essas moléculas (CHEN; GUO; KONG, 2012).

O estresse oxidativo é um processo deletério, capaz de alterar estruturas celulares, como a membrana plasmática, proteínas e o DNA, tendo papel desastroso na neurodegeneração. A neurotoxicidade causada por um excesso de ROS contribui para o dobramento incorreto e agregação de proteínas, disfunções mitocondriais, ativação de células da glia e apoptose celular (CHEN; GUO; KONG, 2012). O corpo responde à superprodução de ROS com a ação de antioxidantes, sejam naturalmente gerados (antioxidantes endógenos, como enzimas e moléculas doadoras de elétrons) ou suplementados através da dieta (antioxidantes exógenos, como os polifenóis). De uma forma ou de outra, o papel desses antioxidantes é neutralizar o excesso de radicais livres, protegendo as células dos efeitos tóxicos e contribuindo para prevenção de patologias. As enzimas antioxidantes estão envolvidas no sistema de defesa contra os possíveis danos teciduais causados por ROS. Essas incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx) (IGHODARO; AKINLOYE, 2018; JOMOVA et al., 2023; SULE; CONDON; GOMES, 2022).

ROS são segundos mensageiros chaves na resposta imune inata e adaptativa, porém, uma produção exacerbada dessas moléculas pode contribuir para uma ativação crônica da resposta inflamatória, causando danos teciduais (MITTAL *et al.*, 2014). Na resposta imune inata, espécies reativas derivadas da mitocôndria podem agir como moléculas sinalizadoras, regulando positivamente a produção de citocinas pró-inflamatórias (NAIK; DIXIT, 2011). Por

sua vez, essas citocinas podem causar regulação positiva para formação de espécies reativas com a ativação de enzimas como a óxido nítrico sintase induzível (NOSi), aumentando de forma exacerbada a produção dessas moléculas, como o óxido nítrico (NO) (WEST *et al.*, 2011). Reações redox desencadeadas por níveis excessivos de NO podem contribuir para a formação de peroxinitrito, espécie reativa altamente deletéria e, consequentemente, causar erros no dobramento de proteínas, além de danos a outras biomoléculas como DNA e membranas (DŽOLJIĆ; GRABATINIĆ; KOSTIĆ, 2015; JOMOVA *et al.*, 2023).

A resposta imune é um processo estritamente regulado no cérebro, constituído por diferentes mecanismos celulares e moleculares, incluindo células imunes, vasos sanguíneos e mediadores moleculares (WYSS-CORAY; MUCKE, 2002). Na imunidade inata, micróglias expressam receptores do tipo *toll* (TLR ou *toll-like receptors*), do tipo NOD (NLR ou *NOD-lie receptors*) e do tipo varredura (*scavenger*) (SAIJO; GLASS, 2011). Quando essas células são ativadas (ativação clássica), liberam altas quantidades de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral α (TNF-α), interleucina-6 (IL-6) e quimiocinas (como a proteína quimiotática de monócitos 1, ou MCP-1). Além disso, estas moléculas são capazes de induzir a expressão das enzimas anteriormente citadas, contribuindo para o aumento de estresse oxidativo (GONZÁLEZ *et al.*, 2014). A exposição ao PCB 126 é capaz de induzir um aumento da produção dos fatores inflamatórios anteriormente citados em macrófagos humanos, além de induzir a translocação do fator nuclear eritróide 2 (Nrf-2) para o núcleo, podendo alterar a produção das enzimas antioxidantes e, consequentemente, aumentando a suscetibilidade das células ao estresse oxidativo (WANG *et al.*, 2019).

Os astrócitos são células importantes para a formação de sinapses neuronais, suporte energético e metabólico, assim como, para a regulação da permeabilidade da barreira hematoencefálica (SOFRONIEW; VINTERS, 2010). Em situações patológicas, essas células se tornam reativas, migram para o sítio e formam a chamada cicatriz glial (PEKNY; WILHELMSSON; PEKNA, 2014). Os astrócitos também respondem a estímulos inflamatórios no SNC, expressando TLRs e receptores de varredura em sua membrana, além de liberarem mediadores pró-inflamatórios quando estimulados pelas citocinas liberadas por micróglias (SAIJO; GLASS, 2011). Sob circunstâncias como a presença de toxinas e o estresse oxidativo, as células da glia são submetidas a uma ativação descontrolada, levando à neuroinflamação crônica, liberação de fatores neurotóxicos e, finalmente, à apoptose (DE LELLA EZCURRA *et al.*, 2010).

A apoptose é uma forma de morte celular geneticamente regulada, sendo um mecanismo importante no processo de manutenção da homeostase de eucariotos. De forma

breve, a apoptose pode ser destrinchada em duas vias de ativação de caspases diferentes, porém que se convergem. A via extrínseca ativa a Caspase-10, quando ligantes da família do TNF-α recrutam outras proteínas, incluindo outras Caspases. Já na via intrínseca (também denominada "via mitocondrial" ou "via de estresse"), ocorre a ativação da Caspase-9, quando o Citocromo C é liberado devido a danos às mitocôndrias em resposta a estressores, incluindo danos ao DNA. Essa Caspase iniciadora ativa as Caspases efetoras (-3, -6 e -7), culminando na apoptose celular (ADAMS; CORY, 2007; QIAN *et al.,* 2022). Proteínas membros da família Bcl-2 são reguladoras da apoptose pela via mitocondrial, controlando o destino da célula em resposta a estresses, como na ocorrência de estresse oxidativo, possuindo membros anti-apoptóticos (como a Bcl-2 e Bcl-X) e pró-apoptóticos (como as proteínas Bax e Bak) (ADACHI; IMAI, 2002). Estudos sugerem que a neurotoxicidade induzida por PCBs podem acarretar na apoptose de células neuronais, principalmente pelos danos causados pelo aumento da produção de ROS (YANG; LEIN, 2010).

Outra proteína importante relacionada a apoptose é a poli (ADP-ribose) polimerase-1 (PARP-1). A função normal da PARP-1 é o reparo rotineiro de danos ao DNA, adicionando polímeros de poli (ADP-ribose) em resposta a uma variedade de estresses celulares. Recentemente, tornou-se amplamente reconhecido que essa proteína também participa de diversas funções fisiológicas e patológicas, desde a sobrevivência celular até várias formas de morte celular, e tem sido implicada na transcrição gênica, respostas imunes, inflamação, aprendizado, memória, funções sinápticas, angiogênese e envelhecimento (CHAITANYA; ALEXANDER; BABU, 2010). Um estudo avaliou os efeitos citotóxicos dos congêneres 153 e 126 em células humanas de câncer de mama, sugerindo que a formação de ROS induzidas pelos PCBs pode ser um fator determinante para danos ao DNA, ativação da PARP-1 e consequente morte celular (LIN; LIN, 2006).

A neurodegeneração é caracterizada pela perda progressiva e irreversível de função e estrutura neuronal. Esta pode resultar da perturbação de processos endógenos, como os previamente citados, exposição a compostos exógenos como toxinas ou a combinação de fatores endógenos e exógenos. Por suas propriedades químicas, os PCBs são capazes de se acumularem em tecidos ricos em lipídeos, como é o caso do cérebro, no qual sua detecção *post-mortem* é ligada a diversas patologias e sintomas (HATCHER-MARTIN *et al.*, 2012; MCCANN; MAGUIRE-ZEISS, 2021). Além disso, a exposição a congêneres individuais e a misturas de PCBs como a Aroclor 1221 e 1254 tem sido associada a uma variedade de efeitos neurológicos, estes incluem anormalidades neurocomportamentais, principalmente em neonatos e crianças, alterações neuroquímicas em modelos animais (HATCHER-MARTIN *et*

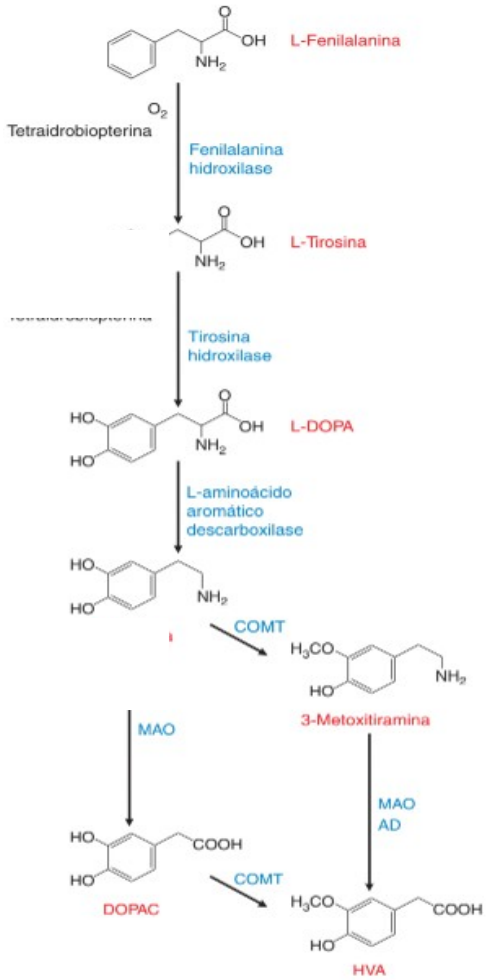
al., 2012), alterações de aprendizado e memória e sexuais em ratas (CHUNG; NUNEZ; CLEMENS, 2001). Além disso, esses compostos podem afetar viabilidade celular, funções cerebrais e já foram associados a doenças neurodegenerativas, como a Doença de Parkinson (ADORNETTO *et al.*, 2013; CAUDLE *et al.*, 2006), a qual é marcada por alterações locomotoras. Ademais, uma revisão da literatura investigou até mesmo a influência de exposição a PCBs e outros contaminantes como possíveis fatores de risco para o Transtorno de Espectro Autista (PANESAR *et al.*, 2020), demonstrando o potencial desses compostos de causarem alterações nocivas ao SNC.

Efeitos dos PCBs na atividade locomotora

A dopamina (DA) é um neurotransmissor com importante papel na modulação da atividade locomotora em uma variedade de vertebrados (SHARPLES *et al.*, 2015). Tem sido extensivamente documentado na literatura que a diminuição da atividade das vias dopaminérgicas causa redução da locomoção (DREHER; JACKSON, 1989). Além disso, a atividade locomotora também é reduzida quando substâncias que reduzem os níveis de catecolaminas, como a reserpina (KELLY et al., 1998), são administradas. Todavia, o oposto ocorre quando substâncias que aumentam a liberação de DA, como a cocaína e anfetaminas, são utilizadas, evidenciando a importância do neurotransmissor no processo de locomoção (BERTRAN-GONZALEZ et al., 2008).

A DA é sintetizada nas terminações nervosas de neurônios dopaminérgicos, a partir da fenilalanina e da tirosina, sendo essas substâncias precursoras das catecolaminas (Figura 2). A fenilalanina ingerida através da dieta é convertida em tirosina pela fenilalanina hidroxilase e, uma vez convertida, a tirosina atravessa a barreira hematoencefálica e a membrana de neurônios dopaminérgicos por captação. Dentro desses neurônios, a tirosina é convertida em L-DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina) pela tirosina hidroxilase (TH). A L-DOPA é, então, rapidamente convertida em DA pela L-aminoácido-aromático descarboxilase (AADC) (BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2019, p. 284-286).

Figura 2 – Síntese dopaminérgica

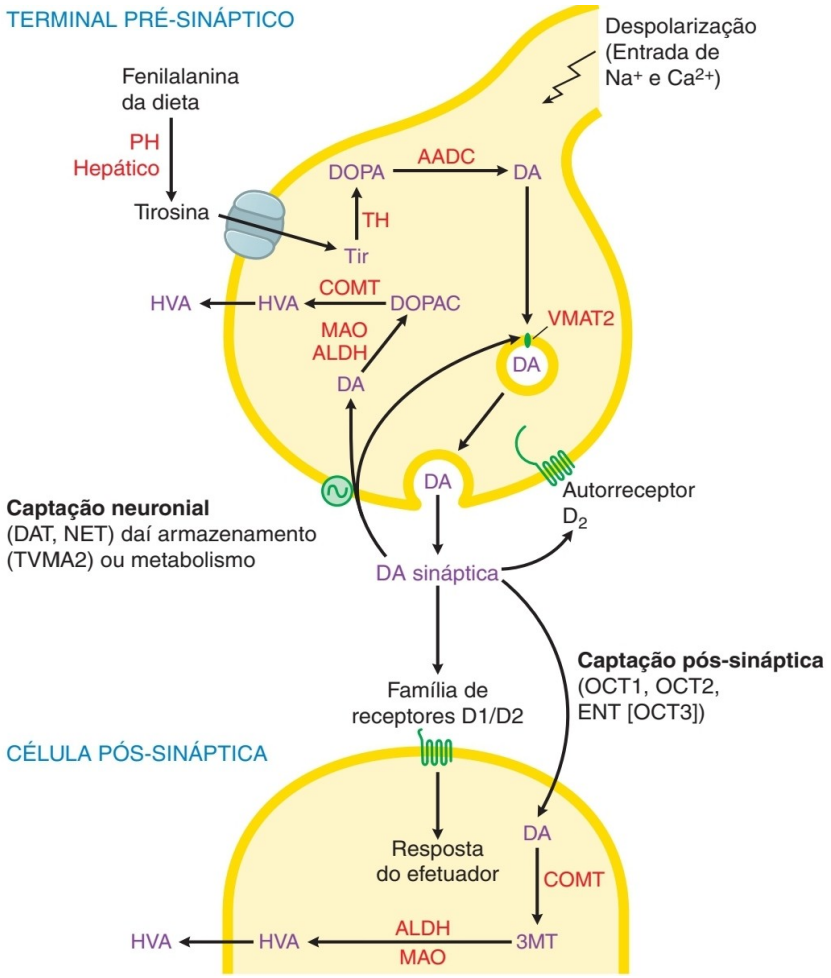


Legenda: Parte inicial da síntese das catecolaminas, com dopamina como primeiro neurotransmissor produzido. Siglas: 3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA), catecol-O-metiltransferase (COMT), monoaminaoxidase (MAO), ácido 3,4-diidroxifeliacético (DOPAC), aldeído desidrogenase (AD), ácido homovanílico (HVA).
Nota: Enzimas em azul e cofatores em preto.
Fonte: BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012, p. 352.

Após sua síntese, a DA é transportada para dentro de vesículas pelo transportador vesicular de monoaminas 2 (VMAT2) e permanece armazenada, até que um estímulo cause a fusão dessas vesículas e a consequente exocitose dessas moléculas na fenda sináptica (Figura 3). Uma vez na fenda sináptica, a DA se liga a receptores dopaminérgicos, podendo esses serem subdivididos em 2 famílias: família D1, sendo formada pelos receptores D1 e D5, os quais se acoplam a proteína Gs, aumentando a produção de AMPc; família D2, sendo formada pelos receptores D2, D3 e D4, os quais se acoplam a proteína Gi, inibindo a produção de AMPc, além de permitirem o influxo de cátions como K^+ (Figura 3) (BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2019, p. 284-286).

Após sua ação, a DA pode ser recaptada pelo transportador de dopamina (DAT) no neurônio pré-sináptico ou sofrer captação pós-sináptica pelos transportadores OCT. No citosol, a DA pode sofrer degradação enzimática por ação da monoaminaoxidase (MAO), formando um derivado aldeído inativo. Em seguida, esse é metabolizado pela aldeído-desidrogenase em DOPAC. Uma vez formado, DOPAC pode ser metabolizado pela catecol-O-metiltransferase (COMT) em ácido homovanílico (AHV), sendo esse o principal metabólito da DA (Figura 3) (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012, p. 633; BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2019, p. 284-286).

Figura 3 – Neurotransmissão dopaminérgica

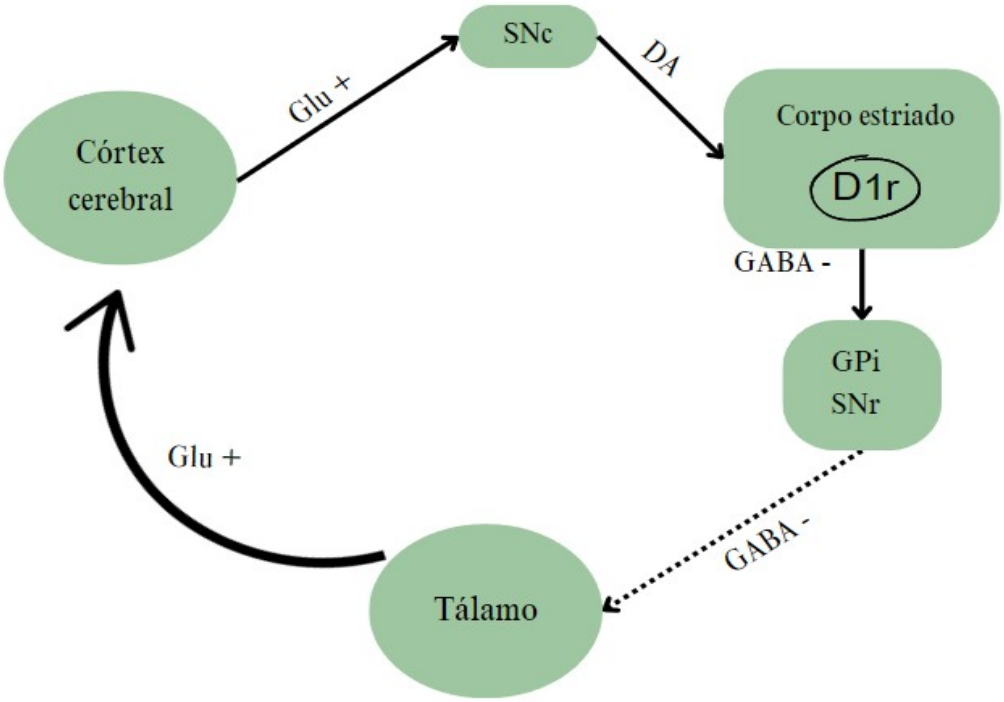


Legenda: Mecanismos da neurotransmissão dopaminérgica. Siglas: Fenilalanina hidrozilase (PH), Dopamina (DA), Tirosina Hidroxilase (TH), aminoácidos aromáticos descaboxilase (AADC), catecol-O-metiltransferase (COMT), monoaminoxidase (MAO), aldeído-desidrogenase (ALDH), transportador vesicular de monoaminas 2 (TVMA2), transportador de dopamina (DAT), transportador de norepinefrina (NET), transportadores de cátions orgânicos (OCT), ácido 3,4-diidroxifeliacético (DOPAC), ácido homovanílico (AHV).

Fonte: BRUNTON; CHABNER; KNOLLMAN, 2012, p. 634.

A dopamina atua em diferentes vias dopaminérgicas, dentre elas a via nigroestriatal, que atua no controle dos movimentos. Os gânglios de base são núcleos subcorticais que controlam movimentos voluntários e estão envolvidos em vários distúrbios neurológicos debilitantes, como a Doença de Parkinson. O modelo mais aceito para entender a função dessa região sugere que existem duas vias de projeção distintas no estriado, conhecidas como vias direta e indireta. Esses circuitos têm efeitos opostos sobre o movimento: a atividade da via direta tende a facilitar o movimento, enquanto a atividade na via indireta tende a inibi-lo (CUI *et al.*, 2013).

Figura 4 – Via direta da via nigrostriatal



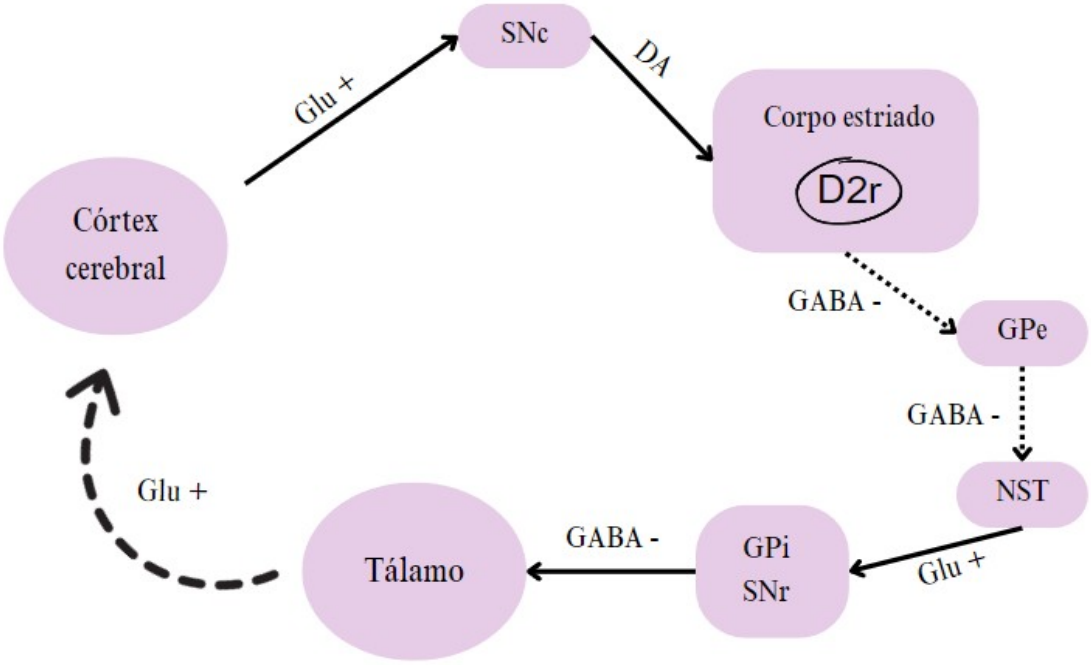
Legenda: Ação da dopamina na via direta, resultando em atividade locomotora. Glutamato (Glu), parte compacta da substância negra (SNc), dopamina (DA), receptor dopaminérgico D1 (D1r), ácido gama-aminobutírico (GABA), segmento interno do globo pálido (GPi), parte reticulada da substância negra (SNr).
Fonte: Adaptado de LANCIEGO; LUQUIN; OBESO, 2012; NELSON; KREITZER, 2014.

A via direta é formada pela ação da DA liberada por neurônios dopaminérgicos da substância negra compacta (SNc), que atua em receptores do tipo D1 de neurônios GABAérgicos do corpo estriado. Uma vez estimulados, esses neurônios liberam GABA para duas regiões: o segmento interno do globo pálido (GPi) e substância negra reticulada (SNr), que também possuem neurônios GABAérgicos. Essas regiões inervam o tálamo, que possui

neurônios glutamatérgicos. O efeito final é aumentar a atividade do tálamo por desinibição da região, que envia estímulos glutamatérgicos excitatórios ao córtex motor e culmina na estimulação da locomoção (Figura 4) (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012, p. 633; BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2019, p. 284-286).

Na via indireta, entretanto, a ação da DA liberada por neurônios dopaminérgicos da SNc ocorre em receptores do tipo D2r de neurônios GABAérgicos do corpo estriado que enervam o segmento externo do globo pálido (GPe). Uma vez que a DA se liga aos D2r, a liberação de GABA do corpo estriado para o GPe é reduzida, desinibindo o núcleo subtalâmico, que possui neurônios glutamatérgicos que enervam o GPi e a SNr. O efeito final é o contrário da via direta, ou seja, a ligação da DA aos D2r reduz a atividade dessa via, ou seja, reduz a atividade no tálamo, que envia estímulos excitatórios ao córtex motor. Sendo assim, a ligação da dopamina em ambos os receptores D1 e D2 tende a aumentar a atividade da via direta e reduzir a atividade da via indireta, respectivamente, culminando na locomoção (Figura 5) (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012, p. 633; BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2019, p. 284-286).

Figura 5 – Via indireta da via nigrostriatal



Legenda: Ação da dopamina na via indireta, resultando na diminuição da atividade locomotora. Glutamato (Glu), parte compacta da substância negra (SNc), dopamina (DA), receptor dopaminérgico D2 (D2r), ácido gama-aminobutírico (GABA), segmento externo do globo pálido (GPe), núcleo subtalâmico (NST), segmento interno do globo pálido (GPi), parte reticulada da substância negra (SNr).
Fonte: Adaptado de LANCIEGO; LUQUIN; OBESO, 2012; NELSON; KREITZER, 2014.

Um achado consistente tanto em estudos *in vivo* quanto em estudos *in vitro* é a redução significativa nas concentrações de DA na região estriatal após a exposição à misturas de PCBs (HATCHER-MARTIN *et al.*, 2012). O mecanismo pelo qual a redução de DA ocorre ainda não foi completamente elucidado, entretanto, dados da literatura têm sugerido que a redução dos níveis do neurotransmissor ocorre devido a inibição da enzima TH, que tem papel essencial e limitante na síntese de DA (CAUDLE *et al.*, 2006).

Os PCBs podem interferir também no transporte do neurotransmissor da fenda sináptica de volta aos neurônios pré-sinápticos por bloquear os transportadores, além de também bloquear o transporte do citosol para as vesículas, alterando o metabolismo do neurotransmissor. Estudos in vitro utilizando células de ratos demostraram que tanto congêneres individualmente, mas principalmente misturas como Aroclor, podem atuar como antagonistas competitivos de DAT e VMAT2, além de diminuírem a expressão desses transportadores *in vivo* (BEMIS; SEEGAL, 2004; MARIUSSEN; ANDERSEN; FONNUM, 1999; MARIUSSEN; FONNUM, 2001; RICHARDSON; MILLER, 2004).

Os testes de Campo Aberto e de Labirinto em Cruz Elevado são comumente utilizados para avaliação de comportamento do tipo exploratório e ansioso em roedores. Nesses testes comportamentais, tanto a qualidade – tempo que o animal passa em determinadas regiões do aparato – quanto a quantidade – distância total percorrida – de movimento podem ser medidas. Esses testes são amplamente utilizados para avaliação de efeitos tóxicos, sedativos e estimulantes de compostos. Dessa forma, são testes versáteis e que estão inclusos em diversas análises de comportamento de roedores, incluindo análises de locomoção (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009; WALF; FRYE, 2007), como a utilizada no presente trabalho.

Efeitos dos PCBs no comportamento do tipo depressivo

A teoria de monoaminas foi a primeira hipótese descrita como causa do Transtorno Depressivo Maior (TDM) na década de 1960. De acordo com essa teoria, a base fisiopatológica do TDM é resultado de uma redução das concentrações das monoaminas, ou seja, da serotonina (5-HT, SER), da norepinefrina (NE) e da DA, ou de alterações na transmissão monoaminérgica (KARABIN; BIALA; KRUK-SLOMKA, 2023; MULINARI, 2012). O principal tratamento para o TDM consiste na ação de fármacos que aumentam os níveis desses neurotransmissores, principalmente norepinefrina e serotonina, atenuando os

sintomas do transtorno e corroborando com a base da teoria, além de demonstrar a relação entre os níveis dessas moléculas e o TDM (HAMON; BLIER, 2013). Apesar dessa teoria ainda ser bem aceita, atualmente sabe-se que o TDM é um transtorno de etiologia complexa e multifatorial, além de existirem outros pilares na fisiopatologia que têm sido descritos na literatura nos últimos anos, como neuroinflamação, estresse oxidativo, níveis de neutrofinas, como o *brain derived neuronal fator* (BDNF), e neuroplasticidade associada a essas moléculas (JIANG *et al.*, 2022).

A NE é sintetizada a partir da via dopaminérgica descrita na seção anterior, conhecida como via das catecolaminas, sendo a DA dentro das vesículas convertida em NE por neurônios que possuem a enzima dopamina-β-hidroxilase (HUSSAIN; REDDY; MAANI, 2024). Já a SER é sintetizada a partir do aminoácido triptofano, que é transportado até o SNC por proteínas transportadoras. Uma vez no neurônio, sofre ação da triptofano hidroxilase, formando o L-5-hidroxitriptofano. Este, sofre ação da mesma AADC citada anteriormente na síntese dopaminérgica, formando a serotonina (5-hidroxitripamina, 5-HT). Uma vez formada, a SER sofre metabolização pela MAO, produzindo 5-hidroxindol-acetildeído. Este, por fim, sofre metabolismo da aldeído desidrogenase e redutase, formando ácido 5-hidroxin-dolacético (5-HIAA, principal metabólito da serotonina) e o 5-hidroxitriptofol, respectivamente (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012, p. 336; Maffei, 2021).

De acordo com a teoria, a diminuição dos níveis de monoaminas ocorre devido a um aumento da atividade da MAO ou diminuição da função dos transportadores dessas moléculas. A DA está envolvida na produção de funções de recompensa e motivação, memória de trabalho, comportamento e atenção, além de estar associada ao sentimento de alegria. A NE modula o processamento da memória de trabalho, além de também estar envolvida na regulação do comportamento – principalmente o de “luta ou fuga”. A SER possui diferentes papéis no SNC por ser o maior sistema neurotransmissor. Dependendo de qual receptor é ativado ou bloqueado, está envolvido na modulação do sono, sedação, memória, temperatura e pode inibir pensamentos compulsórios (KARABIN; BIALA; KRUK-SLOMKA, 2023).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF – *brain-derived neutropic fator*) parece possuir um papel importante no TDM (GONUL *et al.*, 2005). Como anteriormente, citado, é bem aceito que o desequilíbrio neuroquímico é a base da fisiopatologia dos transtornos do afeto. Entretanto, estudos demonstraram que modificações estruturais também podem ocorrer em resposta a estresse e em pacientes com esses transtornos, como o TDM. A expressão de BDNF no hipocampo é dramaticamente reduzida pela exposição ao estresse. Em

contraste com os efeitos do estresse, a administração crônica de fármacos antidepressivos aumenta a expressão de BDNF no hipocampo, assim como no córtex frontal (DUMAN, 2002), representando respostas de longo prazo com o uso de antidepressivos. Citocinas inflamatórias e metabólitos endógenos também parecem estar envolvidos nos mecanismos da depressão (FELGER; LOTRICH, 2013; WANG *et al.*, 2018).

Diferentes fontes dão suporte ao papel da neurotransmissão dopaminérgica na depressão. No cérebro, a DA é um neurotransmissor essencial na regulação do humor e é precursor da NE, outra monoamina que também se pode ter seus níveis alterados no TDM (BABAEV; CRUCES-SOLIS; ARBAN, 2022). Modelos animais de TDM demonstram respostas consideráveis na manipulação dos níveis dopaminérgicos. Além disso, estudos que investigam achados *post mortem* em indivíduos com TDM severo, demonstraram níveis reduzidos de metabólitos de DA no líquido cefalorraquidiano e em regiões do encéfalo que mediam humor e motivação (DUNLOP; NEMEROFF, 2007).

Atualmente, os inibidores de recaptação de monoaminas são a classe de fármacos mais prescritas no tratamento do transtorno. Entretanto, há um grande problema no tempo que esses fármacos levam até o efeito farmacológico inicial e a redução da severidade dos sintomas clínicos. Normalmente, somente cerca de 50% dos pacientes apresentam uma real diminuição dos sintomas após a terapia, enfatizando a necessidade de identificar, estudar e desenvolver novos agentes terapêuticos de ação mais rápida (TIAN *et al.*, 2022).

Há um achado consistente relacionado à depressão e sintomas depressivos após exposição ocupacional e ambiental a PCBs em humanos adultos. Um estudo demonstrou associação entre a quantidade de PCBs encontrada no corpo e sintomas depressivos (GAUM *et al.*, 2014). A literatura tem mostrado que alguns polifenóis e seus metabólitos conseguem penetrar a barreira hematoencefálica, além de possuírem efeitos neuroprotetores como ação anti-inflamatória e antioxidante. Dessa forma, a modulação de múltiplos alvos pelos polifenóis pode prevenir a progressão de transtornos neuropsiquiáticos, além de fornecer uma nova estratégia terapêutica, especialmente nos transtornos de difícil tratamento, como é o caso do TDM (WU *et al.*, 2024).

O Teste de Nado Forçado é um teste comportamental muito utilizado para investigação de comportamento do tipo depressivo em roedores. O teste é baseado na suposição de que, ao colocar o animal em um recipiente cheio de água, ele inicialmente fará esforços para escapar, mas eventualmente exibirá imobilidade, o que pode ser considerado um indicador de desespero comportamental. Esse teste tem sido extensivamente utilizado na literatura em trabalhos que avaliam modelos de TDM por envolver a exposição do animal a

alto nível de estresse, que tem sido associado ao TDM (YANKELEVITCH-YAHAV *et al.*, 2015).

Efeitos dos PCBs no comportamento do tipo ansioso

Está bem documentado na literatura que as propriedades de fármacos ansiolíticos e antidepressivos que agem principalmente nas vias monoaminérgicas, implicam que os neurotransmissores SER, NE e DA estão envolvidos na patogenia dos transtornos de humor, como no Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG) (MARTIN *et al.*, 2009).

Um estudo publicado por Morse *et al.*, 1996, demonstrou que a exposição de ratas à mistura Aroclor 1254 durante a gravidez por gavagem alterou os níveis de neurotransmissores e seus receptores no cérebro, incluindo aqueles relacionados a ansiedade e estado afetivo. No período gestacional final de ratas Wistar, os metabólitos de SER no córtex pré-frontal e no hipocampo estavam aumentados após a exposição aos PCBs (MORSE *et al.*, 1996). No caso do comportamento do tipo ansioso, uma variedade de circuitos neuronais estão envolvidos, podendo ser esses hormônio-sensíveis e/ou sexualmente dismórficos (GILLETTE *et al.*, 2017).

Apesar da literatura em relação à exposição a PCBs e transtornos do afeto ser limitada, em ratos, a exposição pré-natal aguda ao PCB 126 resultou no aumento do comportamento do tipo ansioso e a uma hiperatividade do eixo hipotálamo-pituritária-adrenal (HPA) a eventos estressantes durante a adolescência desses animais (ORITO *et al.*, 2007). Esses resultados podem ser traduzidos para humanos, dado que um estudo epidemiológico associou concentrações plasmáticas de PCBs em adultos com déficits de aprendizado e memória, além de sintomas depressivos (FITZGERALD *et al.*, 2008).

Além disso, um estudo do nosso grupo demonstrou efeitos benéficos e neuroprotetores do Extrato Hidroalcóolico do Caroço do Açaí (ASE) em um modelo animal de estresse precoce, associando os polifenóis presentes no extrato ao efeito ansiolítico e de redução da hiperatividade do eixo HPA (DE BEM *et al.*, 2020).

A disfunção do sistema de ácido gama-aminobutírico (GABA) é também associada a transtornos de ansiedade e depressão. Em estudos tanto com humanos quanto com animais, moduladores positivos dos receptores de GABA geralmente possuem atividade ansiolítica, enquanto moduladores negativos produzem efeitos contrários. Além disso, uma classe

importante de fármacos para o tratamento de TAG são os benzodiazepínicos, que aumentam os efeitos inibitórios do neurotransmissor GABA (MÖHLER, 2012).

O GABA é sintetizado a partir do precursor glutamato pela enzima glutamato descarboxilase. Após a síntese, ele é transportado para vesículas sinápticas pelo transportador vesicular de aminoácidos inibitórios. Quando um potencial de ação atinge a célula pré-sináptica, canais de cálcio dependentes de voltagem se abrem e o cálcio se liga à sinaptobrevina, resultando na fusão da vesícula com a membrana plasmática e liberando o GABA na fenda sináptica, onde o neurotransmissor se liga aos receptores GABAérgicos. Para que ocorra a interrupção da ação do neurotransmissor, este pode ser degradado extracelularmente pela GABA-transaminase em semialdeído succínico ou reabsorvido pelas células gliais ou pelo neurônio pré-sináptico (JEWETT; SHARMA, 2024).

Apesar de neurônios monoaminérgicos parecerem ser particularmente vulneráveis às ações dos PCBs, esses compostos também são capazes de atuar em outros sistemas de neurotransmissores, como na captação de glutamato e GABA pela membrana plasmática (MARIUSSEN; FONNUM, 2001), sugerindo que esse mecanismo também pode colaborar para as alterações comportamentais observadas em estudos prévios.

Para avaliação de comportamento do tipo ansioso em modelos animais, os Testes do Labirinto em Cruz Elevado e do Campo Aberto para roedores, são é um testes comportamentais amplamente utilizados, sendo possível fazer a avaliação do efeito de agentes farmacológicos, além de auxiliar na definição de regiões e mecanismos cerebrais por trás do comportamento relacionado à ansiedade (WALF; FRYE, 2007).

Efeitos dos PCBs sobre o aprendizado e memória

O aprendizado e a memória são processos cognitivos que nos permitem obter, reter e relembrar informações. Esses fatores são cruciais para a sobrevivência, adaptação e criatividade. Entretando, os mecanismos subjacentes a esses processos ainda estão sendo elucidados. Sabe-se que a amígdala, o hipocampo e o córtex pré-frontal são essenciais na formação de memórias e na facilitação do aprendizado (BATTAGLIA *et al.*, 2024). É bem estabelecido que a aprendizagem e a memória são processos complexos, que envolvem e recrutam diferentes áreas e sistemas de neurotransmissores moduladores do cérebro, como a acetilcolina (ACh), a DA, o glutamato e o GABA. O papel da neurotransmissão colinérgica e

dopaminérgica nos processos de aprendizado, memória e recompensa tem sido extensivamente estudado (CLOS; BUNZECK; SOMMER, 2019; HASSELMO, 2006). Por décadas, o glutamato e OS receptores inotrópicos têm sido associados a um papel crítico na plasticidade sináptica, uma forma de adaptação que regula a formação da memória, principalmente memória espacial e dependente do hipocampo (KOUROSH-ARAMI; KOMAKI; ZARRINDAST, 2023; MÉNARD; QUIRION, 2012). Além disso, baixos níveis de GABA e de seus receptores estão associados à alterações da memória em testes comportamentais como o de Reconhecimento de Objetos (PRUT *et al.*, 2010).

Dessa forma, a síntese colinérgica e sua interrupção em neurônios durante o processo de cognição é bem elucidado. Primeiro, a ACh é sintetizada a partir da junção do aminoácido colina e de uma molécula de acetil-CoA, através da ação da enzima colina acetiltransferase. Após sua síntese, a ACh é transportada para vesículas, ocorrendo sua exocitose na sinapse após um estímulo. Uma vez na sinapse, essas moléculas podem agir sobre receptores muscarínicos e nicotínicos no neuro pós-sináptico, promovendo seus efeitos biológicos. Por fim, para que ocorra a interrupção de sua ação, a ACh é metabolizada novamente em colina e acetil-CoA pela acetilcolinesterase, sendo reabsorvida e reciclada (MAURER; WILLIAMS, 2017).

Os neurônios colinérgicos residem em áreas como o tronco encefálico, no estriado, onde estão relacionados à liberação de DA, e na região basal, na qual se projetam para regiões como hipocampo e amígdala. Estudos evidenciam a importância da ACh hipocampal no papel da memória e cognição. Primeiro, a diminuição dos níveis do neurotransmissor no hipocampo é correlacionada com o declínio cognitivo ligado ao envelhecimento (HAAM; YAKEL, 2017). Outro estudo evidencia a correlação entre a memória espacial e a liberação de ACh no hipocampo e nos gânglios basais, demonstrando a importância do neurotransmissor no processo de aquisição de memória (SOLARI; HANGYA, 2018).

Da mesma forma, os receptores muscarínicos de ACh também possuem papel crucial nos processos de aprendizado e memória. Estes receptores estão presentes em grandes quantidades no córtex pré-frontal e no hipocampo, regiões importantes para cognição e na consolidação de memória espacial em roedores, primatas não humanos e humanos. O receptor mais expresso nessas regiões é o do tipo M1. Estudos demonstram que a perda desse receptor ou o uso de antagonistas muscarínicos, como a escopolamina, exacerbam sintomas como os da Doença de Alzheimer, patologia marcada pelo comprometimento da memória e cognição (HALEY *et al.*, 2011; MEDEIROS *et al.*, 2011).

Além disso, estudos demonstraram que o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) também possui importante papel na formação e consolidação da memória. O BDNF foi primeiro purificado do cérebro de mamíferos com base em sua ação na sobrevivência e plasticidade neuronal, sendo classificado como o segundo membro da família de fatores de crescimento neurotróficos. O BDNF e seu principal receptor TrkB têm a expressão mais abundante e disseminada no cérebro de mamíferos em desenvolvimento e adultos. Da mesma forma, a ação desse neurotrofina no SNC adulto é extensivamente estudada, provavelmente pelo papel crítico desempenhado na potenciação de longo prazo, uma forma de plasticidade sináptica que ainda é amplamente considerada um modelo celular para a formação de memória de longo prazo (CUNHA; BRAMBILLA; THOMAS, 2010).

Em relação aos PCBs e seus efeitos sobre esses mecanismos, existem evidências de associação entre a exposição aos PCBs no útero e o comprometimento da capacidade intelectual na infância. Entretanto, o impacto da exposição a esses compostos na vida adulta ainda é pouco estudado. Um estudo demonstrou o comprometimento do aprendizado e memória em indivíduos expostos aos PCBs de forma crônica através da alimentação de peixes contaminados, mas evidenciou que a função visual-espacial permaneceu intacta (SCHANTZ *et al.*, 2001) Outro estudo demonstrou que a mistura comercial Aroclor 1254 ocasionou despolimerização de actina em cultura de células neuronais hipocampais de ratos expostas a diferentes concentrações de forma aguda, relacionando esse achado aos déficits de aprendizado e memória induzidos por PCBs (TANG *et al.*, 2007).

Para avaliação de memória espacial, ou seja, dependente do hipocampo, em modelos animais utilizando roedores, o Teste de Localização de Objetos é um teste simples e efetivo. O teste depende da preferência natural do animal por novidades, sem interferência externa, evitando assim, tipicamente, as complicações associadas à respostas emocionais (VOGEL-CIERNIA; WOOD, 2014). Diferente do Teste de Reconhecimento de Objetos, no qual o animal é apresentado a um novo objeto após um determinado intervalo, no Teste de Localização de Objetos, os objetos permanecem familiares, só sendo mudado a localização de um deles (DENNINGER; SMITH; KIRBY, 2018), como foi feito no presente trabalho.

Os polifenóis têm se mostrado cada vez mais eficazes no papel de neuroprotetores e adjuvantes a terapias já utilizadas. Um estudo demonstrou que tratamento com curcumina, principal polifenol encontrado na *Curcuma longa*, e extrato de *Ginko biloba* associado, foi capaz de reverter parcialmente déficits de aprendizado e memória e outras alterações induzidas por escopolamina num modelo animal de Doença de Alzheimer, que é caracterizada por declínio cognitivo e déficits de aprendizado e memória (ASSI *et al.*, 2023). Dessa forma,

os polifenóis podem apresentar efeitos benéficos e um potencial terapêutico no tratamento de patologias e alterações que acometem o SNC.

Extrato Hiroalcóolico das folhas frescas da *Alpinia zerumbet* (AZE)

A *Alpinia zerumbet*, conhecida no Brasil como "colônia" – devido ao seu odor característico – e "casca de gengibre", é uma planta medicinal originária do Sudeste Asiático. A planta foi introduzida em países de climas tropicais e subtropicais, como o Brasil, onde se naturalizou (Figura 6). Apesar de diferentes partes da planta serem utilizadas com diferentes propósitos, no Brasil, as folhas da planta são bastante utilizadas nas formas de chá, infusão e decocção (NISHIDONO; TANAKA, 2024).

Estudos farmacológicos atuais mostram que a *Alpinia zerumbet* possui importantes ações fisiológicas e farmacológicas, entre estas estão: ação antioxidante, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, diurética, entre outras (XIAO *et al.*, 2020). Essa planta medicinal é uma fonte abundante de vários metabólitos, incluindo polifenóis, alcaloides e terpenos. Análises de espectrofotometria de diferentes partes da planta identificaram ácidos fenólicos (como ácido gálico, cinâmico, cafeico e ferrúlico) e flavonóides (como kaempferol, catequinas, rutina e quercetina) (YUANDANI *et al.*, 2023).

Nas últimas décadas, estudos epidemiológicos têm revelado que dietas ricas em polifenóis possuem efeitos benéficos em humanos, como na prevenção de distúrbios degenerativos e declínio cognitivo. Essas substâncias podem agir através de diferentes mecanismos, demonstrando efeitos neuroprotetores e de melhora da cognição, além de muitos outros benefícios à saúde (FIGUEIRA *et al.*, 2017b). Por muitos anos, pensava-se que a proteção antioxidante que esses compostos ocasionavam nas células, era decorrente de sua ação direta, através da propriedade *scavenging* que essas substâncias possuem, doando elétrons a radicais livres. Entretanto, estudos que utilizam polifenóis têm elucidado cada vez mais seus mecanismos de ação, trazendo à luz outros efeitos, como modulação de proteínas/enzimas através de interação direta ou indireta, propriedade de quelação, regulação mitocondrial, modulação de sinais relacionados a sobrevivência e diferenciação neuronal (FIGUEIRA *et al.*, 2017a).

Por conta de seu alto conteúdo polifenólico, a *Alpinia zerumbet* tem sido alvo de diferentes estudos no Brasil e no mundo, principalmente em forma de óleos essenciais

(NISHIDONO; TANAKA, 2024). Além disso, a planta está listada na Relação Nacional de Plantas de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), se apresentando como alvo promissor para gerar produtos de interesse ao SUS. Apesar de estudos que investigam os efeitos de diferentes formas de preparo de extratos estarem emergindo na literatura, pouco ainda se discute sobre os efeitos de extratos hidroalcóolicos, principalmente das folhas verdes da *Alpinia zerumbet* (NISHIDONO; TANAKA, 2024). Portanto, mais estudos são necessários para aprofundarmos o nosso conhecimento sobre as diferentes propriedades benéficas de diferentes partes da planta, assim como, dos distintos extratos preparados a partir da mesma.

Figura 6 – *Alpinia zerumbet*

Legenda: Folhas verdes e flor da *Alpinia zerumbet* no Palácio do Catete, Rio de Janeiro/RJ, antes de ser coletada para preparação de AZE.
Fonte: A autora, 2023.

Inicialmente, nosso grupo investigou o efeito anti-hipertensivo do extrato hidroalcóolico preparado a partir das folhas secas da planta e constatou um efeito vasodilatador em leito arterial mesentérico de ratos, associando este efeito ao conteúdo polifenólico do extrato (DE MOURA *et al.*, 2005). Entretanto, um estudo recente do nosso grupo caracterizou e avaliou o conteúdo polifenólico e o efeito vasodilatador de diferentes formas de preparação do AZE, constatando que o extrato hidroalcóolico preparado a partir das folhas frescas da *Alpinia zerumbet* e submetido à fervura demonstrou efeito vasodilatador mais potente, além de maior conteúdo polifenólico, do que os extratos aquosos preparados com as folhas verdes e secas, bem como, hidroalcóolico preparado com as folhas secas (Tabela 1). Entre as moléculas identificadas na caracterização do AZE, os flavonoides foram

os principais constituintes, destacando-se a alpinetina, o kaempferol-3-O-glucoronídeo, a (-)-epicatequina e a pinocembrina (SILVA *et al.*, 2021).

Tabela 1 – Conteúdo polifenólico total dos diferentes preparos do AZE

Extrato	Folhas	Solvente	Aquecimento	CTP (mg GAE/g de AZE)
AZE1	Secas	Água/etanol	Não	6,35 ± 0,081
AZE2	Secas	Água	Sim	14,63 ± 0,043
AZE3	Verdes	Água	Sim	15,35 ± 0,44
AZE4	Verdes	Água/etanol	Sim	16,30 ± 0,44
AZE5	Secas	Água/etanol	Sim	13,46 ± 0,075

Legenda: Conteúdo de polifenóis presentes em diferentes formas de preparo do AZE medido através de curva de ácido gálico. CTP: conteúdo total de polifenol; GAE: equivalente de ácido gálico.
Nota: Valores expressos em média ± erro padrão da média.
Fonte: Adaptado de SILVA *et al.*, 2021.

Alguns estudos da literatura demonstram os efeitos benéficos de extratos oleosos da *Alpinia zerumbet* no SNC, principalmente efeito ansiolítico. Um estudo feito por Satou *et al.* em 2010 demonstrou que o óleo essencial obtido a partir dessa planta, ocasionou efeito ansiolítico em camundongos através, da avaliação dos animais no Teste de Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado e de Caixa Escura e Clara. Esse trabalho destaca ainda, que a *Alpinia zerumbet* reduz o comportamento do tipo ansioso sem promover redução da atividade locomotora, como ocorre com a utilização dos benzodiazepínicos (DE SOUSA *et al.*, 2015).

Portanto, destacamos que a *Alpinia zerumbet* possui ação no central, documentada pelos estudos anteriormente mencionados, demonstrando que a mesma, é uma planta medicinal, com propriedades farmacológicas úteis para um possível uso terapêutico no tratamento de alterações patológicas do sistema nervoso central. Entretanto, ainda não conhecemos o efeito do tratamento com AZE sobre a neurotoxicidade, neuroinflamação, neurodegeneração e as alterações comportamentais induzidas pelo PCB 126, destacando as modificações no estado redox, nos níveis dos neurotransmissores, na apoptose, e na expressão de proteínas envolvidas com a atividade locomotora e com o aprendizado e memória. Este trabalho pretende avaliar os efeitos benéficos do AZE e sua possível utilização como um fitoterápico neuroprotetor.

REFERÊNCIAS

ACCIOLI, C. DE A. F. et al. Aryl Hydrocarbon Receptor as a Therapeutical Target of Environmentally Induced Skin Conditions. **Molecular Pharmacology**, v. 103, n. 5, p. 255–265, 1 maio 2023.

ADACHI, M.; IMAI, K. The proapoptotic BH3-only protein BAD transduces cell death signals independently of its interaction with Bcl-2. **Cell Death & Differentiation**, v. 9, n. 11, p. 1240–1247, nov. 2002.

ADAMS, J. M.; CORY, S. The Bcl-2-regulated apoptosis switch: mechanism and therapeutic potential. **Current opinion in immunology**, v. 19, n. 5, p. 488–496, out. 2007.

ADORNETTO, A. et al. Polychlorinated biphenyls impair dibutyryl cAMP-induced astrocytic differentiation in rat C6 glial cell line. **FEBS Open Bio**, v. 3, n. 1, p. 459–466, 2013.

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121–126, 1984.

ARIAS-SÁNCHEZ, R. A.; TORNER, L.; FENTON NAVARRO, B. Polyphenols and Neurodegenerative Diseases: Potential Effects and Mechanisms of Neuroprotection. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 14, p. 5415, 14 jul. 2023.

ASSI, A.-A. et al. Protective effects of curcumin and Ginkgo biloba extract combination on a new model of Alzheimer's disease. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 3, p. 1449–1464, 2023.

BABAEV, O.; CRUCES-SOLIS, H.; ARBAN, R. Dopamine modulating agents alter individual subdomains of motivation-related behavior assessed by touchscreen procedures. **Neuropharmacology**, v. 211, p. 109056, 15 jun. 2022.

BAIRD, L.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T. The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway. **Archives of Toxicology**, v. 85, n. 4, p. 241–272, abr. 2011.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for superoxide dismutase. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 32, p. 279–312, 1987.

BATTAGLIA, S. et al. Neural Correlates and Molecular Mechanisms of Memory and Learning. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 5, p. 2724, 27 fev. 2024.

BAVITHRA, S. et al. Polychlorinated Biphenyl (PCBs)-Induced Oxidative Stress Plays a Critical Role on Cerebellar Dopaminergic Receptor Expression: Ameliorative Role of Quercetin. **Neurotoxicity research**, v. 21, p. 149–59, 12 jul. 2011.

BAVITHRA, S. et al. Polychlorinated Biphenyl (PCBs)-Induced Oxidative Stress Plays a Critical Role on Cerebellar Dopaminergic Receptor Expression: Ameliorative Role of Quercetin. **Neurotoxicity Research**, v. 21, n. 2, p. 149–159, fev. 2012.

BELL, M. R. Endocrine-disrupting actions of PCBs on brain development and social and reproductive behaviors. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 19, p. 134–144, dez. 2014.

BEMIS, J. C.; SEEGAL, R. F. PCB-induced inhibition of the vesicular monoamine transporter predicts reductions in synaptosomal dopamine content. **Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology**, v. 80, n. 2, p. 288–295, ago. 2004.

BERTRAN-GONZALEZ, J. et al. Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 28, n. 22, p. 5671–5685, 28 maio 2008.

BEVILAQUA, F. et al. Involvement of the catecholaminergic system on the antidepressant-like effects of Alpinia zerumbet in mice. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 1, p. 151–156, 2 jan. 2016.

BJÖRKHOLM, C.; MONTEGGIA, L. M. BDNF — a key transducer of antidepressant effects. **Neuropharmacology**, v. 102, p. 72–79, mar. 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 7 maio 1976.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KOLLMANN, B. C. (org). **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R.; KOLLMANN, B. C. (org). **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2019.

BUHA DJORDJEVIC, A. et al. Endocrine-disrupting mechanisms of polychlorinated biphenyls. **Current Opinion in Toxicology**, Mechanistic Toxicology. v. 19, p. 42–49, 1 fev. 2020.

CAUDLE, W. M. et al. Polychlorinated Biphenyl–Induced Reduction of Dopamine Transporter Expression as a Precursor to Parkinson's Disease–Associated Dopamine Toxicity. **Toxicological Sciences**, v. 92, n. 2, p. 490–499, 1 ago. 2006.

CHAITANYA, G. V.; ALEXANDER, J. S.; BABU, P. P. PARP-1 cleavage fragments: signatures of cell-death proteases in neurodegeneration. **Cell Communication and Signaling**, v. 8, n. 1, p. 31, 22 dez. 2010.

CHEN, X.; GUO, C.; KONG, J. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Neural Regeneration Research**, v. 7, n. 5, p. 376–385, 15 fev. 2012.

CHEN, Z.-R. et al. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 6, p. 1816, 10 mar. 2022.

CHOKSI, N. Effects of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) on Brain Tyrosine Hydroxylase Activity and Dopamine Synthesis in Rats,. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 76–80, set. 1997.

CHUNG, Y.-W.; NUNEZ, A. A.; CLEMENS, L. G. Effects of neonatal polychlorinated biphenyl exposure on female sexual behavior. **Physiology & Behavior**, v. 74, n. 3, p. 363–370, 1 out. 2001.

CLOS, M.; BUNZECK, N.; SOMMER, T. Dopamine is a double-edged sword: dopaminergic modulation enhances memory retrieval performance but impairs metacognition. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 3, p. 555–563, fev. 2019.

COCCO, R. et al. Bifenilos policlorados em arroz e feijão do estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 45, p. 1522–1527, 14 abr. 2015.

CORREA, P. A. et al. The Effects of Individual PCB Congeners on the Soil Bacterial Community Structure and the Abundance of Biphenyl Dioxygenase Genes. **Environment international**, v. 36, n. 8, p. 901–906, nov. 2010.

COSTABEBER, I. et al. Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 1, p. 1–7, 1 jan. 2006.

CUI, G. et al. Concurrent Activation of Striatal Direct and Indirect Pathways During Action Initiation. **Nature**, v. 494, n. 7436, p. 238–242, 14 fev. 2013.

CUNHA, C.; BRAMBILLA, R.; THOMAS, K. L. A simple role for BDNF in learning and memory? **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 3, 9 fev. 2010.

DE ARAÚJO, F. Y. R. et al. Involvement of anti-inflammatory, antioxidant, and BDNF up-regulating properties in the antipsychotic-like effect of the essential oil of Alpinia zerumbet in mice: a comparative study with olanzapine. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 8, p. 2283–2297, dez. 2021.

DE BEM, G. F. et al. Anxiolytic and antioxidant effects of Euterpe oleracea Mart. (açaí) seed extract in adult rat offspring submitted to periodic maternal separation. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme**, v. 45, n. 11, p. 1277–1286, nov. 2020.

DE LELLA EZCURRA, A. L. et al. Chronic expression of low levels of tumor necrosis factor-α in the substantia nigra elicits progressive neurodegeneration, delayed motor

symptoms and microglia/macrophage activation. **Neurobiology of Disease**, Inflammation in Neuropsychiatric Disease. v. 37, n. 3, p. 630–640, 1 mar. 2010.

DE MOURA, R. S. et al. Antihypertensive and Endothelium-Dependent Vasodilator Effects of Alpinia zerumbet, a Medicinal Plant. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 46, n. 3, p. 288–294, set. 2005.

DE SOUSA, D. P. et al. A Systematic Review of the Anxiolytic-Like Effects of Essential Oils in Animal Models. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 18620–18660, 14 out. 2015.

DENNINGER, J. K.; SMITH, B. M.; KIRBY, E. D. Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. **Journal of visualized experiments : JoVE**, n. 141, p. 10.3791/58593, 20 nov. 2018.

DORNELES, P. R. et al. High accumulation of PCDD, PCDF, and PCB congeners in marine mammals from Brazil: A serious PCB problem. **Science of The Total Environment**, v. 463–464, p. 309–318, out. 2013.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 421–431, 1990.

DREHER, J. K.; JACKSON, D. M. Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of rats. **Brain Research**, v. 487, n. 2, p. 267–277, 22 maio 1989.

DUMAN, R. S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. **European Psychiatry**, v. 17, n. S3, p. 306s–310s, jul. 2002.

DUNLOP, B. W.; NEMEROFF, C. B. The Role of Dopamine in the Pathophysiology of Depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 64, n. 3, p. 327, 1 mar. 2007.

DŽOLJIĆ, E.; GRABATINIĆ, I.; KOSTIĆ, V. Why is nitric oxide important for our brain? **Functional Neurology**, v. 30, n. 3, p. 159–163, 14 out. 2015.

FAROON, O.; JONES, D.; DE ROSA, C. Effects of polychlorinated biphenyls on the nervous system. **Toxicology and Industrial Health**, v. 16, n. 7–8, p. 305–333, ago. 2000.

FELGER, J. C.; LOTRICH, F. E. Inflammatory Cytokines in Depression: Neurobiological Mechanisms and Therapeutic Implications. **Neuroscience**, v. 246, p. 199–229, 29 ago. 2013.

FIGUEIRA, I. et al. Polyphenols Beyond Barriers: A Glimpse into the Brain. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 4, p. 562–594, 11 abr. 2017a.

FIGUEIRA, I. et al. Polyphenols journey through blood-brain barrier towards neuronal protection. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 11456, 13 set. 2017b.

FITZGERALD, E. F. et al. Polychlorinated Biphenyl Exposure and Neuropsychological Status among Older Residents of Upper Hudson River Communities. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 2, p. 209–215, fev. 2008.

FRAGA, M. C. et al. Anxiety-like, novelty-seeking and memory/learning behavioral traits in male Wistar rats submitted to early weaning. **Physiology & Behavior**, v. 124, p. 100–106, 30 jan. 2014.

FRANKLIN, J. L. Redox Regulation of the Intrinsic Pathway in Neuronal Apoptosis. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, n. 8, p. 1437–1448, 15 abr. 2011.

GAUM, P. M. et al. Prevalence and incidence rates of mental syndromes after occupational exposure to polychlorinated biphenyls. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 217, n. 7, p. 765–774, set. 2014.

GAUM, P. M. et al. Polychlorinated biphenyls and depression: cross-sectional and longitudinal investigation of a dopamine-related Neurochemical path in the German HELPcB surveillance program. **Environmental Health**, v. 16, p. 106, 10 out. 2017.

GAUM, P. M. et al. Depressive Symptoms After PCB Exposure: Hypotheses for Underlying Pathomechanisms via the Thyroid and Dopamine System. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 6, p. 950, mar. 2019.

GILLETTE, R. et al. Anxiety-like behaviors in adulthood are altered in male but not female rats exposed to low dosages of polychlorinated biphenyls *in utero*. **Hormones and Behavior**, v. 87, p. 8–15, 1 jan. 2017.

GONUL, A. S. et al. Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 255, n. 6, p. 381–386, dez. 2005.

GONZÁLEZ, H. et al. Neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. **Journal of Neuroimmunology**, v. 274, n. 1–2, p. 1–13, set. 2014.

GOULD, T. D.; DAO, D. T.; KOVACSICS, C. E. The Open Field Test. Em: GOULD, T. D. (Ed.). **Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice**. Neuromethods. Totowa, NJ: Humana Press, 2009. v. 42p. 1–20.

HAAM, J.; YAKEL, J. L. Cholinergic modulation of the hippocampal region and memory function. **Journal of neurochemistry**, v. 142, n. Suppl 2, p. 111–121, ago. 2017.

HALEY, G. E. et al. Hippocampal M1 receptor function associated with spatial learning and memory in aged female rhesus macaques. **AGE**, v. 33, n. 3, p. 309–320, 1 set. 2011.

HAMON, M.; BLIER, P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 45, p. 54–63, 1 ago. 2013.

HASSELMO, M. E. The Role of Acetylcholine in Learning and Memory. **Current opinion in neurobiology**, v. 16, n. 6, p. 710–715, dez. 2006.

HATCHER-MARTIN, J. M. et al. Association between polychlorinated biphenyls and Parkinson's disease neuropathology. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 5, p. 1298–1304, out. 2012.

HELYAR, S. G. et al. PCB-induced endothelial cell dysfunction: Role of poly(ADP-ribose) polymerase. **Biochemical pharmacology**, v. 78, n. 8, p. 959–965, 15 out. 2009.

HUSSAIN, L. S.; REDDY, V.; MAANI, C. V. Physiology, Noradrenergic Synapse. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287–293, 1 dez. 2018.

JEWETT, B. E.; SHARMA, S. Physiology, GABA. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

JIANG, Y. et al. Monoamine Neurotransmitters Control Basic Emotions and Affect Major Depressive Disorders. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 10, p. 1203, 28 set. 2022.

JOMOVA, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Archives of Toxicology**, v. 97, n. 10, p. 2499–2574, 2023.

KARABIN, T.; BIALA, G.; KRUK-SLOMKA, M. The monoamine theory of depression as a target to effective pharmacotherapy. **Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences**, v. 36, n. 2, p. 108–113, 1 jun. 2023.

KELLY, M. A. et al. Locomotor Activity in D2 Dopamine Receptor-Deficient Mice Is Determined by Gene Dosage, Genetic Background, and Developmental Adaptations. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 9, p. 3470–3479, 1 maio 1998.

KLOCKE, C.; SETHI, S.; LEIN, P. J. The developmental neurotoxicity of legacy vs. contemporary polychlorinated biphenyls (PCBs): Similarities and differences. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 9, p. 8885–8896, mar. 2020.

KOPF, P. G.; WALKER, M. K. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin increases reactive oxygen species production in human endothelial cells via induction of cytochrome P4501A1. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 245, n. 1, p. 91–99, 15 maio 2010.

KOUROSH-ARAMI, M.; KOMAKI, A.; ZARRINDAST, M.-R. Dopamine as a Potential Target for Learning and Memory: Contributing to Related Neurological Disorders. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets- CNS & Neurological Disorders)**, v. 22, n. 4, p. 558–576, 1 maio 2023.

KOWALSKI, C. H. et al. Determination of polychlorinated biphenyls in brazilian breast milk samples using solid-phase microextraction and gas chromatography-electron capture detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 502–509, 2010.

KOWALSKI, C. H. et al. Application of Kohonen neural network for evaluation of the contamination of Brazilian breast milk with polychlorinated biphenyls. **Talanta**, v. 116, p. 315–321, 15 nov. 2013.

LANCIEGO, J. L.; LUQUIN, N.; OBESO, J. A. Functional Neuroanatomy of the Basal Ganglia. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 12, p. a009621, dez. 2012.

LEGER, M. et al. Object recognition test in mice. **Nature Protocols**, v. 8, n. 12, p. 2531–2537, dez. 2013.

LIN, C.-H.; LIN, P.-H. Induction of ROS formation, poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation, and cell death by PCB126 and PCB153 in human T47D and MDA-MB-231 breast cancer cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 162, n. 2, p. 181–194, 25 ago. 2006.

LIU, D.; PERKINS, J. T.; HENNIG, B. EGCG prevents PCB 126-induced endothelial cell inflammation via epigenetic modifications of NF-κB target genes in human endothelial cells. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 28, p. 164–170, fev. 2016.

LIU, T. et al. NF-κB signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, p. 17023-, 2017.

MALUCHENKO, N. V.; FEOFANOV, A. V.; STUDITSKY, V. M. PARP-1-Associated Pathological Processes: Inhibition by Natural Polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11441, 23 out. 2021.

MARIUSSEN, E.; FONNUM, F. The effect of polychlorinated biphenyls on the high affinity uptake of the neurotransmitters, dopamine, serotonin, glutamate and GABA, into rat brain synaptosomes. **Toxicology**, v. 159, n. 1–2, p. 11–21, fev. 2001.

MARTIN, E. I. et al. The Neurobiology of Anxiety Disorders: Brain Imaging, Genetics, and Psychoneuroendocrinology. **The Psychiatric clinics of North America**, v. 32, n. 3, p. 549–575, set. 2009.

MAURER, S. V.; WILLIAMS, C. L. The Cholinergic System Modulates Memory and Hippocampal Plasticity via Its Interactions with Non-Neuronal Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 8, 8 nov. 2017.

MCCANN, M. S.; MAGUIRE-ZEISS, K. A. Environmental toxicants in the brain: A review of astrocytic metabolic dysfunction. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 84, p. 103608, maio 2021.

MEDEIROS, R. et al. Loss of Muscarinic M1 Receptor Exacerbates Alzheimer's Disease–Like Pathology and Cognitive Decline. **The American Journal of Pathology**, v. 179, n. 2, p. 980–991, 1 ago. 2011.

MELYMUK, L. et al. Persistent Problem: Global Challenges to Managing PCBs. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 12, p. 9029–9040, 21 jun. 2022.

MÉNARD, C.; QUIRION, R. Group 1 Metabotropic Glutamate Receptor Function and Its Regulation of Learning and Memory in the Aging Brain. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3, 12 out. 2012.

MICHALSKA, P.; LEÓN, R. When It Comes to an End: Oxidative Stress Crosstalk with Protein Aggregation and Neuroinflammation Induce Neurodegeneration. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 740, 12 ago. 2020.

MITTAL, M. et al. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 7, p. 1126–1167, mar. 2014.

MÖHLER, H. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. **Neuropharmacology**, Anxiety and Depression. v. 62, n. 1, p. 42–53, 1 jan. 2012.

MOHR, S.; COSTABEBER, I. H. Aspectos toxicológicos e ocorrência dos bifenilos policlorados em alimentos. **Ciência Rural**, v. 42, p. 559–566, mar. 2012.

MORSE, D. C. et al. Long-term alterations in regional brain serotonin metabolism following maternal polychlorinated biphenyl exposure in the rat. **Neurotoxicology**, v. 17, n. 3–4, p. 631–638, 1996.

MULINARI, S. Monoamine Theories of Depression: Historical Impact on Biomedical Research. **Journal of the History of the Neurosciences**, v. 21, n. 4, p. 366–392, 1 out. 2012.

MURAKAMI, S. et al. Effects of the essential oil from leaves of Alpinia zerumbet on behavioral alterations in mice. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 1, p. 129–132, jan. 2009.

NAIK, E.; DIXIT, V. M. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production. **Journal of Experimental Medicine**, v. 208, n. 3, p. 417–420, 14 mar. 2011.

NEAVIN, D. R. et al. The Role of the Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) in Immune and Inflammatory Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 12, p. 3851, 3 dez. 2018.

NELSON, A. B.; KREITZER, A. C. Reassessing Models of Basal Ganglia Function and Dysfunction. **Annual review of neuroscience**, v. 37, p. 117–135, 2014.

NEWSOME, B. J. et al. Green tea diet decreases PCB 126-induced oxidative stress in mice by up-regulating antioxidant enzymes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 2, p. 126–135, fev. 2014.

NISHIDONO, Y.; TANAKA, K. Phytochemicals of Alpinia zerumbet: A Review. **Molecules**, v. 29, n. 12, p. 2845, 14 jun. 2024.

ORITO, K. et al. Prenatal exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126) promotes anxiogenic behavior in rats. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 212, n. 2, p. 151–157, jun. 2007.

PANESAR, H. K. et al. Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Risk Factors for Autism Spectrum Disorder? **Toxics**, v. 8, n. 3, p. 70, 17 set. 2020.

PEKNY, M.; WILHELMSSON, U.; PEKNA, M. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. **Neuroscience Letters**, v. 565, p. 30–38, abr. 2014.

PENTEADO, J. C. P.; VAZ, J. M. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, v. 24, p. 390–398, jun. 2001.

PEREIRA, M. DE S. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCB): main sources, environmental behaviour and risk to man and biota. **Química Nova**, v. 27, p. 934–943, dez. 2004.

PESSAH, I. N. et al. Neurotoxicity of polychlorinated biphenyls and related organohalogens. **Acta Neuropathologica**, v. 138, n. 3, p. 363–387, set. 2019.

PRUT, L. et al. A reduction in hippocampal GABAA receptor alpha5 subunits disrupts the memory for location of objects in mice. **Genes, Brain, and Behavior**, v. 9, n. 5, p. 478–488, jul. 2010.

QIAN, S. et al. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 12 out. 2022.

RAMADASS, P. Dietary Flavonoids Modulate PCB-Induced Oxidative Stress, CYP1A1 Induction, and AhR-DNA Binding Activity in Vascular Endothelial Cells. **Toxicological Sciences**, v. 76, n. 1, p. 212–219, 12 ago. 2003.

RICHARDSON, J. R.; MILLER, G. W. Acute exposure to aroclor 1016 or 1260 differentially affects dopamine transporter and vesicular monoamine transporter 2 levels. **Toxicology Letters**, v. 148, n. 1–2, p. 29–40, 14 mar. 2004.

ROMAN JUNIOR, W. A. et al. Psychopharmacological and antioxidant effects of hydroethanolic extract of Alpinia zerumbet leaves in mice. **Pharmacognosy Journal**, v. 5, n. 3, p. 113–118, maio 2013.

SAIJO, K.; GLASS, C. K. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 11, p. 775–787, nov. 2011.

SASAKI, N. et al. Effects of mixtures of polychlorinated biphenyls (PCBs) and three organochlorine pesticides on cognitive function differ between older Mohawks at Akwesasne and older adults in NHANES. **Environmental Research**, v. 236, p. 116861, 1 nov. 2023.

SATOU, T. et al. Anxiolytic effect and tissue distribution of inhaled Alpinia zerumbet essential oil in mice. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 1, p. 143–146, jan. 2010.

SCHANTZ, S. L. et al. Impairments of memory and learning in older adults exposed to polychlorinated biphenyls via consumption of Great Lakes fish. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 6, p. 605–611, jun. 2001.

SCHANTZ, S. L.; MOSHTAGHIAN, J.; NESS, D. K. Spatial learning deficits in adult rats exposed to ortho-substituted PCB congeners during gestation and lactation. **Fundamental and Applied Toxicology: Official Journal of the Society of Toxicology**, v. 26, n. 1, p. 117–126, jun. 1995.

SEEGAL, R. F. **The Neurochemical Effects of PCB Exposure are Age-Dependent**. (H. M. Bolt, B. Hellman, L. Dencker, Eds.)Use of Mechanistic Information in Risk Assessment. **Anais**...Berlin, Heidelberg: Springer, 1994.

SELVAKUMAR, K. et al. Protective role of quercetin on PCBs-induced oxidative stress and apoptosis in hippocampus of adult rats. **Neurochemical Research**, v. 37, n. 4, p. 708–721, abr. 2012.

SELVAKUMAR, K. et al. Effect of Quercetin on Haematobiochemical and Histological Changes in the Liver of Polychlorined Biphenyls-Induced Adult Male Wistar Rats. **Journal of Biomarkers**, v. 2013, p. 960125, 2013.

SHARPLES, S. A. et al. Dopaminergic modulation of locomotor network activity in the neonatal mouse spinal cord. **Journal of Neurophysiology**, v. 113, n. 7, p. 2500–2510, abr. 2015.

SILVA, C. E. D. A.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. Toxicologia das bifenilas policloradas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 179–187, nov. 2007.

SILVA, M. A. D. et al. **Chemical composition and vasodilator activity of different Alpinia zerumbet leave extracts, a potential source of bioactive flavonoids**. , 8 jul. 2021.

Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-675238/v1>. Acesso em: 23 jul. 2024

SIMON, T.; BRITT, J. K.; JAMES, R. C. Development of a neurotoxic equivalence scheme of relative potency for assessing the risk of PCB mixtures. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 48, n. 2, p. 148–170, jul. 2007.

SOFRONIEW, M. V.; VINTERS, H. V. Astrocytes: biology and pathology. **Acta Neuropathologica**, v. 119, n. 1, p. 7–35, 1 jan. 2010.

SOLARI, N.; HANGYA, B. Cholinergic modulation of spatial learning, memory and navigation. **European Journal of Neuroscience**, v. 48, n. 5, p. 2199–2230, 2018.

SULE, R. O.; CONDON, L.; GOMES, A. V. A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress—The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 5563759, 19 jan. 2022.

TANG, F. et al. Polychlorinated biphenyls disrupt the actin cytoskeleton in hippocampal neurons. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, n. 2, p. 140–146, 1 mar. 2007.

TELEANU, R. I. et al. Neurotransmitters—Key Factors in Neurological and Neurodegenerative Disorders of the Central Nervous System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5954, jan. 2022.

TIAN, H. et al. The molecular pathophysiology of depression and the new therapeutics. **MedComm**, v. 3, n. 3, p. e156, 2022.

TILSON, H. A.; KODAVANTI, P. R. The neurotoxicity of polychlorinated biphenyls. **Neurotoxicology**, v. 19, n. 4–5, p. 517–525, 1998.

UNEP, U. N. **Toward elimination of PCBs**. Disponível em: <http://www.unep.org/topics/chemicals-and-pollution-action/pollution-and-health/persistent-organic-pollutants-pops-5>. Acesso em: 14 jul. 2024.

VOGEL-CIERNIA, A.; WOOD, M. A. Examining Object Location and Object Recognition Memory in Mice. **Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]**, v. 69, p. 8.31.1-8.31.17, 8 out. 2014.

WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature protocols**, v. 2, n. 2, p. 322–328, 2007.

WANG, C. et al. PCB 126 induces monocyte/macrophage polarization and inflammation through AhR and NF-κB pathways. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 367, p. 71–81, 15 mar. 2019.

WANG, J. et al. Epigenetic modulation of inflammation and synaptic plasticity promotes resilience against stress in mice. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 477, 2 fev. 2018.

WEST, A. P. et al. TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. **Nature**, v. 472, n. 7344, p. 476–480, 28 abr. 2011.

WU, X. et al. Polyphenols: Natural Food-Grade Biomolecules for the Treatment of Nervous System Diseases from a Multi-Target Perspective. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 6, p. 775, 13 jun. 2024.

WYSS-CORAY, T.; MUCKE, L. Inflammation in Neurodegenerative Disease—A Double-Edged Sword. **Neuron**, v. 35, n. 3, p. 419–432, 1 ago. 2002.

XIAO, T. et al. ***Alpinia zerumbet*** and Its Potential Use as an Herbal Medication for Atherosclerosis: Mechanistic Insights from Cell and Rodent Studies. **Lifestyle Genomics**, v. 13, n. 5, p. 138–145, 2020.

YANG, D. et al. Lipid metabolism and storage in neuroglia: role in brain development and neurodegenerative diseases. **Cell & Bioscience**, v. 12, p. 106, 12 jul. 2022.

YANG, D.; LEIN, P. J. Polychlorinated biphenyls increase apoptosis in the developing rat brain. **Current neurobiology**, v. 1, n. 1, p. 70–76, mar. 2010.

YANKELEVITCH-YAHAV, R. et al. The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. **Journal of Visualized Experiments : JoVE**, n. 97, p. 52587, 2 mar. 2015.

YUANDANI et al. Immunomodulatory effects and mechanisms of the extracts and secondary compounds of Zingiber and Alpinia species: a review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1222195, 18 jul. 2023.

ZHANG, D. et al. Astrogliosis in CNS Pathologies: Is There A Role for Microglia? **Molecular neurobiology**, v. 41, n. 0, p. 232–241, jun. 2010.

ZHANG, Y. et al. Dioxin-like polychlorinated biphenyl 126 (PCB126) disrupts gut microbiota-host metabolic dysfunction in mice via aryl hydrocarbon receptor activation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 236, p. 113448, 1 maio 2022.