

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISIOLOGIA E
FARMACOLOGIA

GABRIELA LOPES MARTINS

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA DE ALZHEIMER, ALTERAÇÕES
DOS NÍVEIS PERIFÉRICOS DE COLESTEROL E RESPOSTA INFLAMATÓRIA
RELACIONADA AO INFLAMASSOMA NLRP3**

Belo Horizonte – MG

2023

GABRIELA LOPES MARTINS

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA DE ALZHEIMER, ALTERAÇÕES
DOS NÍVEIS PERIFÉRICOS DE COLESTEROL E RESPOSTA INFLAMATÓRIA
RELACIONADA AO INFLAMASSOMA NLRP3**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Doutora, área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Helton José dos Reis

Belo Horizonte – MG

2023

043

Martins, Gabriela Lopes.

Estudo da associação entre Doença de Alzheimer, alterações dos níveis periféricos de colesterol e resposta inflamatória relacionada ao inflamassoma NLRP3 [manuscrito] / Gabriela Lopes Martins. – 2023.

198 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Helton José dos Reis.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Fisiologia. 2. Doença de Alzheimer. 3. Demência. 4. Colesterol. 5. Inflamação. 6. Inflamassomos. I. Reis, Helton José dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612:615



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

ATA DA DEFESA DA TESE DE DOUTORADO N° 376 DE GABRIELA LOPES MARTINS

Às 08:00 horas do dia 27 do mês de outubro de 2023, realizou-se a sessão pública para a defesa da Tese de **Gabriela Lopes Martins**, em formato híbrido. A candidata e os membros da comissão que são da UFMG estavam presentes na sala 93 do bloco G4 do ICB e os membros externos estavam presentes através da Plataforma Microsoft Teams: <https://bit.ly/TeseGabrielaLopesMartins>. A presidência da sessão coube ao **Prof. Dr. Helton José dos Reis**, orientador. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: **Prof. Dr. Helton José dos Reis**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, **Profa. Dra. Érica Leandro Marciano Vieira**, Department of Psychiatry/UofT - Canada, **Prof. Dr. Otávio de Toledo Nóbrega**, FCE/UnB, **Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho**, Faculdade de Farmácia/Universidade Federal de Minas Gerais e **Prof. Dr. Rafael Pinto Vieira**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais. Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua **Tese de Doutorado**, intitulada: "**Estudo da Associação Entre Doença de Alzheimer, Alterações dos Níveis Periféricos de Colesterol e Resposta Inflamatória Relacionada Ao Inflamassoma NLRP3**". Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar **APROVADA** a Tese de Doutorado. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 27 de outubro de 2023.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Helton Jose dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 06/11/2023, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Pinto Vieira, Professor do Magistério Superior**, em 06/11/2023, às 15:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Érica Leandro Marciano Vieira, Usuária Externa**, em 06/11/2023, às 23:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Otávio de Tolêdo Nóbrega, Usuário Externo**, em 07/11/2023, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maria das Gracas Carvalho, Professora Magistério Superior - Voluntária**, em 17/11/2023, às 11:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2769495** e o código CRC **54F5AE65**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO DA TESE DE DOUTORADO Nº 376 DE GABRIELA LOPES MARTINS

"Estudo da Associação Entre Doença de Alzheimer, Alterações dos Níveis Periféricos de Colesterol e Resposta Inflamatória Relacionada Ao Inflamassoma NLRP3"

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **27 de outubro de 2023**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Rafael Pinto Vieira - ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Otávio de Toledo Nóbrega - FCE/UnB - Universidade de Brasília

Prof. Dr. Helton José dos Reis - Orientador - ICB/Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho - Faculdade de Farmácia/Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. Érica Leandro Marciano Vieira - Department of Psychiatry/UofT - University of Toronto - Canadá

Belo Horizonte, 27 de outubro de 2023



Documento assinado eletronicamente por **Helton Jose dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 06/11/2023, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Pinto Vieira, Professor do Magistério Superior**, em 06/11/2023, às 15:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Érica Leandro Marciano Vieira, Usuária Externa**, em 06/11/2023, às 23:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Otávio de Tolêdo Nóbrega, Usuário Externo**, em 07/11/2023, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maria das Graças Carvalho, Professora Magistério Superior - Voluntária**, em 17/11/2023, às 11:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2769500** e o código CRC **D4F318E8**.

Dedico este trabalho aos meus pais e meu irmão, minha base de tudo, e à minha “vó” Maria, cujas memórias se eternizaram no tempo.

AGRADECIMENTOS

Um trabalho como este é feito a muitas mãos. Eu não poderia, portanto, deixar de agradecer àqueles que estiveram envolvidos nesse processo, em especial:

Ao meu orientador, professor Helton José Reis, pelo acolhimento desde o início do mestrado, confiança, amizade e trabalho colaborativo que desenvolvemos ao longo destes anos de convivência;

À professora Cláudia Natália Ferreira, por desde o mestrado me co-orientar, não apenas em assuntos acadêmicos, como também de vida, sempre querida, atenciosa e muito prestativa;

Aos professores Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira e Luciene Bruno Vieira, pelo acolhimento e ótima convivência no Laboratório de Neurofarmacologia – ICB/UFMG;

Aos colegas de pós-graduação e amigos do Laboratório de Neurofarmacologia: Suélyn Koerich, Roberta Ribeiro, Giovanni Gomes, Carla Ribeiro, Anna Luiza Diniz, Maria Carolina Machado e Érica Paulino, com os quais compartilhei momentos de muito aprendizado e crescimento interpessoal, como também de descontração;

A todos os alunos de iniciação científica, tanto da graduação, quanto do Coltec (PIC Jr), que auxiliaram enormemente na elaboração deste trabalho, especialmente: Carolina Ferrari, Maria Luiza Brant, Pedro Emanuel Carvalho, Beatriz Casemiro, Mariana Coelho e Ana Paula Maciel;

À biomédica e amiga Luma Clara, que me auxiliou desde o mestrado e seguiu contribuindo no doutorado, sempre com boa vontade e disposição;

Às biomédicas Alcía Bicalho e Natiely Lopes, que colaboraram imensamente na coleta de sangue dos pacientes;

Ao pessoal do Laboratório do Setor de Patologia Clínica do Coltec/UFMG, pelo acolhimento e auxílio nas atividades laboratoriais;

À professora Fabíola Mara Ribeiro e seus alunos do Laboratório de Neurobioquímica – ICB/UFMG que deram suporte para as análises de expressão gênica;

À professora Dra. Jacqueline Alvarez Leite e ao Wesley Fernandes Braga do Laboratório de Lipídeos, Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABIN) – ICB/UFMG pelo apoio na produção das dietas e análises de lipídios;

À Ramayana Brito e à Luísa Magalhães do Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos (LIGP) – ICB/UFMG pela enorme contribuição nos ensaios de ELISA e CBA;

À professora Aline Miranda e seus alunos do Laboratório de Neurobiologia Conceição Machado – ICB/UFMG pelo apoio na realização dos ensaios de ELISA;

Ao professor Dr. Paulo Caramelli e demais membros do Ambulatório de Neurologia Cognitiva e do Comportamento do Hospital das Clínicas da UFMG, pelo acolhimento, colaboração significativa na coleta de dados dos pacientes e suporte substancial na parte clínica do projeto;

À Kênia Seabra e ao bioquímico André Ferreira do Laboratório Distrital Norte/Venda Nova da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura de Belo Horizonte – SMSA/PBH, pela enorme contribuição nas análises dos parâmetros bioquímicos;

Ao professor Dr. Rodrigo Ribeiro do Hospital das Clínicas da UFMG que contribuiu com valiosas sugestões a respeito da parte clínica do projeto;

À Dra. Paula Bellozi, egressa do Laboratório de Neurofarmacologia e atual professora da Universidade de Brasília, pelo apoio profissional e amizade;

À Dra. Natália Pessoa Rocha, pela enorme colaboração científica e acadêmica;

A todos os participantes, pacientes e controles, que voluntariamente participaram deste projeto, tornando possível a sua realização;

Ao meu pai Adair, minha mãe Vânia, e meu irmão Davi, que são minha fonte primordial de amor, força e inspiração,;

À minha avó Cacilda e minha tia Vanilde e meus familiares, que estão sempre me apoiando e vibrando com as minhas conquistas;

Ao meu namorado Mateus Teixeira, pela parceria e companheirismo;

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram nos diferentes momentos da minha trajetória acadêmica e profissional;

Às agências de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), e Pró-reitoria de Pesquisa da UFMG (PRPq-UFMG), pelo suporte financeiro para a realização deste projeto.

*“What would you do if I sang out of tune?
Would you stand up and walk out on me?
Lend me your ears and I'll sing you a song,
And I'll try not to sing out of key.*

Oh, I get by with a little help from my friends.”

John Lennon & Paul McCartney, 1967

RESUMO

As demências são condições de saúde debilitantes, que afetam consideravelmente os idosos no Brasil e no mundo, causando impactos não apenas nos pacientes acometidos, como também em seus familiares e cuidadores. Dentre estas, destaca-se a doença de Alzheimer (DA) por ser a causa mais frequente de demência entre os indivíduos. A deposição de peptídeo amiloide β ($A\beta$), em conjunto com a formação dos emaranhados neurofibrilares de proteína tau consistem nos principais mecanismos que contribuem para a fisiopatologia da DA. Entretanto, fatores como inflamação e desregulações de lipídios como o colesterol, tanto periféricas quanto centrais, também já foram associadas à doença. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar associações entre três fatores: alterações periféricas de lipídios; respostas inflamatórias; e DA. Para isto, o trabalho foi realizado em duas partes: em modelo animal e em humanos. No estudo *in vivo*, camundongos duplo transgênicos para DA e controles foram submetidos à uma dieta padrão ou com acréscimo de 1,25% de colesterol por 18 semanas. Ao final deste período, realizou-se a dosagem do perfil lipídico sérico e hepático, e de mediadores inflamatórios, incluindo moléculas relacionadas ao inflamassoma NLRP3 – interleucinas (IL)-1 β e 18, e caspase-1 – em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal. Não houve diferença em relação aos níveis de colesterol total (CT) séricos comparando-se os grupos experimentais. No entanto, em amostras de fígado, os valores deste lipídio foram significativamente maiores nos animais alimentados com a dieta enriquecida com colesterol, assim como o índice hepatossomático, comparando-se aos que receberam a dieta padrão, em ambos os genótipos. Em relação às citocinas inflamatórias, os animais que receberam a dieta com adição de colesterol, tanto transgênicos quanto controles, apresentaram maiores níveis de IL-18 hipocampais, em comparação àqueles alimentados com a dieta padrão. Diante disso, estes dados demonstraram que a dieta com acréscimo de colesterol causou alterações hepáticas e neuroinflamação envolvendo a sinalização de IL-18, independente do genótipo, ou seja, não associadas à DA no modelo animal estudado. Na parte do trabalho com humanos, realizou-se um estudo transversal, com coleta de dados clínicos e demográficos, medição de parâmetros antropométricos e coleta de sangue, para obtenção de amostras de soro e plasma. Avaliou-se 23 pacientes com diagnóstico de DA, 9 com demência fronto-temporal (DFT) e 33 controles. Foram feitas dosagens do perfil lipídico e de outros parâmetros bioquímicos, assim como de mediadores inflamatórios, incluindo moléculas relacionadas ao inflamassoma NLRP3. Comparou-se os resultados entre os pacientes com DA, DFT

e os controles, bem como entre os pacientes com demência agrupados (DA+DFT) e os controles. Também realizou-se análise de regressão logística multivariada, para avaliar se alguma variável se apresentava independentemente associada à DA ou à presença de demência (DA+DFT), e correlações entre as variáveis do estudo. Embora a frequência de dislipidemia autorrelatada tenha sido a mesma entre os grupos, pacientes com demência (DA+DFT) apresentaram concentrações séricas do colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade (LDLc) significativamente elevadas em comparação aos controles. Ademais, nos grupos DA+DFT e DA observou-se maiores níveis plasmáticos de IL-1 β , comparando-se aos controles, bem como de outras citocinas, como IL-6, IL-8, IL-12p70 e fator de necrose tumoral (TNF). As análises de regressão logística, no entanto, não revelaram nenhuma variável associada de forma independente a estas condições. Ainda, tanto no grupo DA+DFT, quanto DA, observou-se correlações entre parâmetros do perfil lipídico (CT e LDLc), medidas antropométricas (circunferência abdominal e índice de massa corporal) e moléculas relacionadas ao inflamassoma NLRP3 (IL-18 e caspase-1). Embora os resultados apresentados não permitam fazer associações diretas entre os fatores avaliados no estudo (alterações periféricas do colesterol, inflamassoma NLRP3 e DA), foi possível verificar que há correlações entre eles. Além disso, a associação entre estes três fatores, de forma conjunta, ainda não havia sido avaliada em nenhum estudo. Desta forma, os dados aqui apresentados endossam a realização de estudos posteriores que envolvam maior número amostral e outros desenhos experimentais, para melhor compreensão a respeito dos mecanismos envolvidos entre os objetos deste estudo. Isto, por sua vez, pode contribuir para o direcionamento de potenciais alvos terapêuticos para a DA e outras demências, que ainda seguem sem cura.

Palavras-chave: doença de Alzheimer, demência, colesterol, metabolismo lipídico, inflamação, inflamassoma NLRP3

ABSTRACT

Dementias are debilitating health conditions that significantly affects the elderly in Brazil and around the world, causing impacts not only on affected patients, but also on their families and caregivers. Among these, Alzheimer's disease (AD) is highlighted, as it is the most common cause of dementia among individuals. The deposition of amyloid β peptide ($A\beta$), together with the formation of tau protein neurofibrillary tangles, are the main mechanisms that contribute to the pathophysiology of AD. However, factors such as inflammation and dysregulation of lipids such as cholesterol, both peripheral and central, have also been associated with the disease. Therefore, the objective of this study was to evaluate associations between three factors: peripheral lipid changes; inflammatory responses; and AD. For this, the study was carried out in two parts: in an animal model and in humans. In the in vivo study, double transgenic mice for AD and controls were subjected, at six weeks of age, to a standard diet or a diet with an increase of 1.25% cholesterol for 18 weeks. From the samples collected at the end of this period, serum and hepatic lipid profiles and inflammatory mediators were measured, including molecules related to the NLRP3 inflammasome – interleukins (IL)-1 β and 18, and caspase-1 – in hippocampus and prefrontal cortex samples. After comparing the results between the experimental groups, there was no difference in serum total cholesterol (TC) levels. However, in liver samples, the values of this lipid were significantly higher in animals fed the cholesterol-enriched diet, as well as the hepatosomatic index, compared to those receiving the standard diet, in both genotypes. With regard to inflammatory cytokines, animals that received the diet with added cholesterol, both transgenic and controls, showed higher levels of hippocampal IL-18, compared to those fed the standard diet. Therefore, these data demonstrated that the diet with increased cholesterol caused liver changes and neuroinflammation involving IL-18 signaling, regardless of the genotype, i.e., not associated with AD in the animal model studied. In humans, a cross-sectional study was carried out, in which clinical and demographic data were collected, anthropometric parameters were measured and blood was collected to obtain serum and plasma samples. We evaluated 23 patients diagnosed with AD, 9 with frontotemporal dementia (FTD) and 33 controls. Lipid profile and other biochemical parameters were measured, as well as inflammatory mediators, including molecules related to the NLRP3 inflammasome pathway. Results were compared between patients with AD, FTD, and controls, as well as grouped dementia patients (AD+FTD) and controls. Furthermore, multivariate logistic regression analysis was performed to assess whether any variable

was independently associated with AD or the presence of dementia (AD+FTD), as well as correlations between the study variables. Although the frequency of self-reported dyslipidemia was the same between groups, patients with dementia (AD+FTD) had significantly elevated serum concentrations of low-density lipoprotein cholesterol (LDLc) compared to controls. Furthermore, in the AD+FTD and AD groups, higher plasma levels of IL-1 β were observed, compared to controls, as well as other cytokines, such as IL-6, IL-8, IL-12p70, and tumor necrosis factor (TNF). Logistic regression analyses, however, did not reveal any variables independently associated with these conditions. Furthermore, in both AD+FTD and AD groups, correlations were observed between lipid profile parameters (TC and LDLc), anthropometric measurements (waist circumference and body mass index), and molecules related to the NLRP3 inflammasome (IL-18 and caspase -1). Although the results presented do not allow direct associations between the factors evaluated in the study (peripheral changes in cholesterol, NLRP3 inflammasome, and AD), it was possible to verify that there are correlations between them. Furthermore, the association between these three factors, together, had not yet been evaluated in any study. Thus, the data presented here support the development of further studies involving a larger sample size and other experimental designs, for a better understanding of the mechanisms involved among the objects of this study. This, in turn, may contribute to elucidate potential therapeutic targets for AD and dementia, which remain without a cure.

Keywords: Alzheimer's disease, dementia, cholesterol, lipid metabolism, inflammation, NLRP3 inflammasome

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. <i>Continuum</i> da doença de Alzheimer. Traduzido de Alzheimer's Association, 2023. | 36 |
| Figura 2. Processos inflamatórios possivelmente envolvidos na patogenia da doença de Alzheimer. | 40 |
| Figura 3. Desregulações do colesterol e patologia da DA como potenciais sinalizadores para ativação do inflamassoma NLRP3 | 51 |
| Figura 4. Avaliação da massa corporal dos camundongos C57BL/6 machos utilizados para a padronização da dieta durante dezoito semanas, por ANOVA de duas vias com medidas repetidas. | 62 |
| Figura 5. Avaliação da massa corporal final (A), do índice hepatossômático (B) e do índice de adiposidade (C) nos camundongos C57BL/6 machos utilizados para a padronização da dieta (n = 6 animais por grupo). | 63 |
| Figura 6. Avaliação dos níveis séricos e hepáticos de colesterol total (A e C) e de triglicérides (B e D, respectivamente) em camundongos C57BL/6 machos utilizados para a padronização da dieta (n = 6 animais por grupo). | 64 |
| Figura 7. Variação da massa corporal dos camundongos APP/PS1 ou WT, fêmeas (A) e machos (B), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%, durante dezoito semanas. | 66 |
| Figura 8. Avaliação de massa corporal final (A, D), índice hepatossômático (B, E) e índice de adiposidade (C, F) em camundongos APP/PS1 ou WT, fêmeas e machos, respectivamente, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 14 a 28 para fêmeas e 25 a 35 por grupo para machos). | 68 |
| Figura 9. Avaliação dos níveis séricos de colesterol total (A) e de triglicérides (B) em camundongos WT ou APP/PS1, machos, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 16 animais por grupo). | 69 |
| Figura 10. Avaliação dos níveis hepáticos de colesterol total e de triglicérides em camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A e B) e machos (C e D), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 16 animais por grupo). | 71 |
| Figura 11. Avaliação das concentrações de IL-1 β , IL-18 e caspase-1 em amostras de hipocampo de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e | |

| | |
|--|-----|
| F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo). | 73 |
| Figura 12. Avaliação das concentrações de IL-18 e caspase-1 em amostras de córtex pré-frontal de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A e B) e machos (C e D), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo).. | 74 |
| Figura 13. Avaliação das concentrações de IL-6, IL-10 e TNF em amostras de hipocampo de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo).. | 76 |
| Figura 14. Avaliação das concentrações de IL-6, IL-10 e TNF em amostras de córtex pré-frontal de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo).. | 77 |
| Figura 15. Avaliação das concentrações dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF e NGF em amostras de hipocampo de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo).. | 79 |
| Figura 16. Frequência de pacientes incluídos e excluídos do estudo. | 103 |
| Figura 17. Fatores de não elegibilidade dos pacientes acompanhados no ambulatório, dentre o total de 240 que foram excluídos.. | 104 |
| Figura 18. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle e demência. | 110 |
| Figura 19. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle, DA e DFT..... | 111 |
| Figura 20. Níveis plasmáticos de IL-6 (A), IL-8 (B), IL-10 (C), IL12p10 (D) e TNF (E) comparando-se os grupos controle e demência..... | 112 |
| Figura 21. Níveis plasmáticos de IL-6, IL-8, IL-10, IL12p10 e TNF comparando-se os grupos controle, DA e DFT..... | 114 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| Tabela 1. Composição das dietas..... | 57 |
| Tabela 2. Avaliação do efeito das variáveis tempo, genótipo e dieta sobre a massa corporal dos camundongos APP/PS1 ou WT, fêmeas e machos, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% durante dezoito semanas..... | 65 |
| Tabela 3. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre massa corporal final, índice hepatossomático e índice de adiposidade nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%. | 67 |
| Tabela 4. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre os níveis de CT e TG séricos nos animais APP/PS1 e WT, machos, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%..... | 69 |
| Tabela 5. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre os níveis de CT e TG hepáticos nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%. | 70 |
| Tabela 6. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL1- β , IL-18 e caspase-1 hipocampais nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%. | 72 |
| Tabela 7. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL-18 e caspase-1 em amostras de córtex pré-frontal dos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%. | 74 |
| Tabela 8. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL-6, IL-10 e TNF hipocampais nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%..... | 75 |
| Tabela 9. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL-6, IL-10 e TNF em amostras de córtex pré-frontal dos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%. | 77 |
| Tabela 10. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre os níveis dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF e NGF hipocampais nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%. | 78 |
| Tabela 11. Valores de referência dos parâmetros bioquímicos. | 100 |
| Tabela 12. Características demográficas e clínicas dos grupos controle e demência. | 105 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 13. Características demográficas e clínicas dos grupos controle, DA e DFT. | 106 |
| Tabela 14. Níveis séricos de parâmetros do perfil lipídico comparando-se os grupos controle e demência. | 108 |
| Tabela 15. Níveis séricos de parâmetros do perfil lipídico comparando-se os grupos controle, DA e DFT. | 108 |
| Tabela 16. Níveis séricos de outros parâmetros bioquímicos comparando-se os grupos controle e demência. | 109 |
| Tabela 17. Níveis séricos de outros parâmetros bioquímicos comparando-se os grupos controle, DA e DFT. | 109 |
| Tabela 18. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle e demência. | 110 |
| Tabela 19. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle, DA e DFT. | 111 |
| Tabela 20. Níveis plasmáticos de IL-6, IL-8, IL-10, IL12p10 e TNF comparando-se os grupos controle e demência. | 112 |
| Tabela 21. Níveis plasmáticos de IL-6, IL-8, IL-10, IL12p10 e TNF comparando-se os grupos controle, DA e DFT. | 113 |
| Tabela 22. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à demência por análise univariada. | 115 |
| Tabela 23. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à demência por análise multivariada. | 115 |
| Tabela 24. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à DA por análise univariada. | 116 |
| Tabela 25. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à DA por análise multivariada. | 116 |
| Tabela 26. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com parâmetros do perfil lipídico no grupo controle. | 117 |
| Tabela 27. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com parâmetros do perfil lipídico no grupo de pacientes com demência (DA + DFT). | 118 |
| Tabela 28. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com parâmetros do perfil lipídico no grupo de pacientes com DA. | 119 |
| Tabela 29. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com mediadores inflamatórios no grupo controle. | 120 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 30. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com demência (DA + DFT). | 121 |
| Tabela 31. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com DA. | 122 |
| Tabela 32. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios no grupo controle. | 123 |
| Tabela 33. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com demência..... | 124 |
| Tabela 34. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com DA. | 125 |
| Tabela 35. Correlações entre dados clínicos e medidas antropométricas com os marcadores de LCR em pacientes com DA. | 126 |
| Tabela 36. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico com os marcadores de LCR em pacientes com DA. | 126 |
| Tabela 37. Correlações entre mediadores inflamatórios com os marcadores de LCR em pacientes com DA. | 127 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| Quadro 1. Evidências da associação entre o inflamassoma NLRP3 e a doença de Alzheimer. | 50 |
|--|----|

LISTA DE ABREVIATURAS

24-OHC – 24S-hidroxicolesterol

27-OHC – 27-hidroxicolesterol

AIN – *American Institute of Nutrition*

ALT – alanina aminotransferase

ANOVA – análise de variância

apoB – apolipoproteína B

apoE – apolipoproteína E

APP – proteína precursora amilóide

APP/PS1 – duplo-trâns-gênico que superexpressa a proteína precursora amilóide e a proteína presenilina-1

ASC – *apoptosis-associated-speck-like protein containing a caspase recruitment domain*

AST – aspartato aminotransferase

AVC – acidente vascular cerebral

A β – β amilóide

BHE – barreira hematoencefálica

bvFTD – DFT variante comportamental (*behavior variant fronto-temporal dementia*)

CASP1 – caspase-1

CBA – ensaio de quantificação por microesferas (*Cytometric Bead Array*)

CCL – comprometimento cognitivo leve

cDNAs – ácidos desoxirribonucleicos complementares

CETP – proteína de transferência de colesterol esterificado (*cholesteryl ester transfer protein*)

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CT – colesterol total

DA – doença de Alzheimer

DAMPs – padrões moleculares associados a danos (*danger-associated molecular patterns*)

DCV – doenças cardiovasculares

den – denominador

DFT – demência fronto-temporal

DM – diabetes mellitus

EDTA – ácido etilenodiaminotetraacético

ELISA – ensaio de imunoabsorção enzimática (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*)

EOAD – DA de início precoce (*early-onset Alzheimer's disease*)

FAD – DA familiar (*familial Alzheimer's disease*)

FDA – *Food and Drug Administration*

GBD – estudo sobre a carga global de doenças, lesões e fatores de risco (*Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors*)

GGT – gama-glutamilttransferase

gl – grau de liberdade

HAS – hipertensão arterial sistêmica

HCl – ácido clorídrico

HDLc – colesterol presente na lipoproteína de alta densidade

HFD – dieta rica em gordura (*high fat diet*)

HFHC – dieta rica em gordura e em colesterol (*high fat high cholesterol diet*)

HMG-CoA – hidroximetilglutaril coenzima A redutase

ICB – Instituto de Ciências Biológicas

IL – interleucinas

IMC – índice de massa corporal

LABIN – Laboratório de Lipídeos, Aterosclerose e Bioquímica Nutricional

LCR – líquido cefalorraquidiano

LDLc – colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade

LIGP – Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos

LOAD – DA de início tardio (*late-onset Alzheimer's disease*)

Lp(a) – lipoproteína(a)

LPS – lipopolissacarídeo

LRR – repetição rica em leucina (*leucine-rich repeat*)

LTD – depressão de longa duração (*long-term depression*)

LTP – potenciação de longa duração (*long-term potentiation*)

MAPT – *microtubule-associated protein tau*

MEEM – mini-exame do estado mental

MR – randomização mendeliana (*mendelian randomization*)

não HDLc – colesterol não HDL

NCEP – Programa Nacional de Educação sobre Colesterol (*National Cholesterol Education Program*)

NDMA – N-metil-d-aspartato

NETs – armadilhas extracelulares de neutrófilos (*neutrophil extracellular traps*)

NF-κB – fator de transcrição nuclear kappa B

NFT – emaranhados neurofibrilares (*neurofibrillary tangles*)

NLRP3 – *nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat protein 3*

NLRs – receptores do tipo NOD (*NOD-like receptors*)

NOD – domínio de ligação a nucleotídeos (*nucleotide-binding domain*)

NPCL1 – *Niemann-Pick C1-Like-1*

num – numerador

OMS – Organização Mundial de Saúde

OR – *odds ratio*

PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns*)

PCR – proteína C reativa

PCSK9 – pró-proteína convertase subtilisina kexin tipo 9

PMSF – florido fenilmetilsulfonil

PPA – afasia progressiva primária (*primary progressive aphasia*)

PRRs – receptores de reconhecimento de padrões (*pattern recognition receptors*)

PS1 – presenilina-1

PSEN – gene da proteína presenilina

p-tau – proteína tau hiperfosforilada (*phosphorylated tau*)

RNA – ácido ribonucleico

ROS – espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species*)

RT-qPCR – reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real

SNC – sistema nervoso central

SPRINT MIND – *Systolic Blood Pressure Intervention Trial Memory and Cognition in Decreased Hypertension*

SPSS – *Statistical Package for Social Sciences*

SREBP – proteína de ligação ao elemento regulador de esterol (*sterol regulatory element-binding protein*)

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Tg – transgênico

TG – triglicérides

TGO – transaminase glutâmico-oxalacética

TGP – transaminase pirúvica

TLRs – receptores *toll-like*

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

VLDLc – colesterol presente na lipoproteína de muito baixa densidade

WD – dieta ocidental (*Western diet*)

WT – *wild-type*

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA..... | 30 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 33 |
| 2.1 Demências no Brasil e no mundo | 33 |
| 2.2 Doença de Alzheimer: aspectos clínicos, epidemiológicos e fisiopatológicos .. | 35 |
| 2.3 Envolvimento de processos inflamatórios na doença de Alzheimer | 39 |
| 2.4 Relação da doença de Alzheimer com alterações do colesterol e de outros parâmetros do perfil lipídico..... | 41 |
| 2.5 Inflamassoma NLRP3 como possível <i>link</i> entre doença de Alzheimer e alterações do colesterol..... | 46 |
| 3 OBJETIVO GERAL | 52 |
| PARTE I – ESTUDO EM MODELO ANIMAL | 53 |
| I. 4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 54 |
| I. 5 MATERIAL E MÉTODOS | 55 |
| I. 5.1 Animais | 55 |
| I. 5.1.1 Análise de expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real (RT- qPCR) | 55 |
| I. 5.2 Dieta | 56 |
| I. 5.2.1 Padronização da dieta acrescida de colesterol em animais C57BL/6, determinação de medidas antropométricas/biométricas e coleta de amostras.. | 56 |
| I. 5.2.2 Administração da dieta em animais APP/PS1 e WT, determinação de medidas antropométricas/biométricas e coleta de amostras..... | 58 |
| I. 5.3 Dosagem de colesterol total e triglicérides | 58 |
| I. 5.3.1 Determinação em amostras de soro | 58 |
| I. 5.3.2 Determinação em amostras de fígado | 59 |
| I. 5.4 Dosagem de fatores neurotróficos e mediadores inflamatórios | 59 |
| I. 5.4.1 Quantificação por ensaio imunoenzimático (ELISA) | 60 |

| | | |
|-----------------------------------|--|----|
| I.5.4.2 | Quantificação por microesferas - <i>Cytometric Bead Array</i> (CBA)..... | 60 |
| I. 5.5 | Análises estatísticas | 61 |
| I. 6 | RESULTADOS | 62 |
| I. 6.1 | Padronização da dieta | 62 |
| I. 6.2 | Avaliação dos efeitos da dieta com acréscimo de colesterol em animais transgênicos para doença de Alzheimer..... | 65 |
| I. 6.2.1 | Análise das medidas antropométricas..... | 65 |
| I. 6.2.2 | Avaliação dos níveis de colesterol total e triglicérides..... | 68 |
| I. 6.2.3 | Avaliação de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal | 71 |
| I. 6.2.4 | Avaliação de outras citocinas inflamatórias em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal | 75 |
| I. 6.2.5 | Avaliação de fatores neurotróficos em amostras de hipocampo | 78 |
| I. 7 | DISCUSSÃO | 80 |
| I. 7.1 | Padronização da dieta | 80 |
| I. 7.2 | Avaliação dos efeitos da dieta com acréscimo de colesterol em animais transgênicos para doença de Alzheimer..... | 80 |
| I. 7.2.1 | Análise das medidas antropométricas/biométricas | 80 |
| I. 7.2.2 | Avaliação dos níveis de colesterol total e triglicérides..... | 83 |
| I. 7.2.3 | Avaliação de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 e de outras citocinas em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal..... | 89 |
| I. 7.2.5 | Avaliação de fatores neurotróficos em amostras de hipocampo | 92 |
| PARTE II - ESTUDO EM HUMANOS..... | | 95 |
| II. 4 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 96 |
| II. 5 | MATERIAL E MÉTODOS | 97 |
| II. 5.1 | Aspectos Éticos | 97 |
| II. 5.2 | Desenho do estudo..... | 97 |

| | |
|---|-----|
| II. 5.3 Período e local | 97 |
| II. 5.4 Critérios de inclusão e exclusão | 98 |
| II. 5.5 Coleta de dados clínicos e demográficos | 98 |
| II. 5.6 Coleta e preparo das amostras biológicas | 99 |
| II. 5.7 Determinação do perfil lipídico e outros parâmetros bioquímicos | 99 |
| II. 5.8 Dosagem de mediadores inflamatórios | 100 |
| II. 5.8.1 Quantificação por ensaio imunoenzimático (ELISA) | 101 |
| II. 5.8.2 Quantificação por microesferas - <i>Cytometric Bead Array</i> (CBA) | 101 |
| II. 5.9 Análises estatísticas | 101 |
| II. 6 RESULTADOS | 103 |
| II. 6.1 Seleção dos participantes do grupo caso | 103 |
| II. 6.2 Caracterização demográfica e clínica dos participantes | 104 |
| II. 6.3 Avaliação do perfil lipídico e de outros parâmetros bioquímicos | 107 |
| II. 6.4 Avaliação de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 | 109 |
| II. 6.5 Avaliação de outras citocinas inflamatórias | 111 |
| II. 6.6 Avaliação da associação de mediadores inflamatórios por regressão logística | 114 |
| II. 6.6.1 Associação dos mediadores inflamatórios à demência | 114 |
| II. 6.6.2 Associação de mediadores inflamatórios à DA | 115 |
| II. 6.7 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo | 117 |
| II. 6.7.1 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e parâmetros do perfil lipídico | 117 |
| II. 6.7.2 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e mediadores inflamatórios | 119 |
| II. 6.7.3 Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios | 122 |

| | |
|--|-----|
| II. 6.7.4 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo com os marcadores de LCR em pacientes com DA | 125 |
| II. 7 DISCUSSÃO | 128 |
| II. 7.1 Seleção dos participantes do grupo caso | 128 |
| II. 7.2 Caracterização demográfica e clínica dos participantes | 130 |
| II. 7.3 Avaliação do perfil lipídico e de outros parâmetros bioquímicos | 138 |
| II. 7.4 Avaliação dos níveis periféricos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 e de outras citocinas | 141 |
| II. 7.5 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo | 145 |
| II. 7.5.1 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e parâmetros do perfil lipídico | 145 |
| II. 7.5.2 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e mediadores inflamatórios..... | 146 |
| II. 7.5.3 Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios | 147 |
| II. 7.5.4 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo com os marcadores de LCR em pacientes com DA | 149 |
| 8 LIMITAÇÕES..... | 151 |
| 9 CONCLUSÕES | 152 |
| REFERÊNCIAS..... | 154 |
| APÊNDICE I..... | 188 |
| APÊNDICE II..... | 191 |
| ANEXO I..... | 193 |
| ANEXO II..... | 194 |
| PRODUÇÃO ACADÊMICA RELACIONADA AO TEMA..... | 195 |

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A doença de Alzheimer (DA) é a principal causa de demência no mundo, na qual observa-se uma perda progressiva de memória e declínio de outras funções cognitivas, bem como alterações comportamentais e prejuízo funcional (Cipriani *et al.*, 2020). Embora seja altamente incapacitante, a DA consiste em um grande desafio para a medicina moderna por ainda não existirem estratégias terapêuticas efetivas para o seu tratamento. Além disso, sua prevalência aumenta de forma proporcional à expectativa de vida, e seus impactos são observados não apenas na vida do paciente acometido, como também de seus familiares e cuidadores (Cipriani *et al.*, 2020).

Embora a fisiopatologia da doença ainda apresente inúmeras lacunas, os principais achados patológicos descritos para a DA consistem na deposição cerebral da proteína β amilóide ($A\beta$), proveniente da proteína precursora amilóide (APP), e de emaranhados neurofibrilares compostos pela proteína tau hiperfosforilada (*phosphorylated tau* – p-tau) (Heppner, Ransohoff; Becher, 2015). Contudo, cabe ressaltar que a DA é uma condição clínica complexa e de causas multifatoriais. Nas últimas décadas, o estudo de associações entre a doença e o colesterol recebeu destaque, entretanto, os dados disponíveis ainda são bem conflitantes (Mcfarlane; Kędziora-Kornatowska, 2020).

O colesterol é uma molécula que está presente na constituição das membranas celulares, sendo fundamental para a manutenção de sua estrutura e função, além de também desempenhar outras relevantes funções biológicas (Goedeke; Fernández-Hernando, 2012). No sistema nervoso central (SNC), onde cerca de 20 a 30% de todo o colesterol corporal está presente, ele é essencial para a produção e secreção de neurotransmissores, garantindo a plasticidade sináptica (Anchisi *et al.*, 2013). Nesse sentido, sugeriu-se que alterações na homeostase lipídica no SNC podem estar envolvidas no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. No que se refere à DA, há a hipótese de que o excesso de colesterol na membrana celular pode alterar a atividade das enzimas envolvidas na clivagem da APP, levando à produção aumentada de $A\beta$ (Ortiz *et al.*, 2013). Este mecanismo, por sua vez, pode induzir à hiperfosforilação da proteína tau, acarretando na formação de seus emaranhados protéicos (Ghribi, 2008). Também já foi demonstrado que derivados da oxidação do colesterol em altas

concentrações podem induzir apoptose e excitotoxicidade em células neuronais (Gamba *et al.*, 2015). Ademais, polimorfismos no gene da apolipoproteína E (apoE), a qual possui um papel essencial no metabolismo lipídico relacionado ao transporte e homeostase do colesterol, são considerados fatores de risco para a DA (Safieh, Korczyn; Michaelson, 2019).

Embora todo o colesterol cerebral seja produzido exclusivamente no SNC, elevados níveis de colesterol sistêmicos também foram associados à DA, sugerindo-se que a hipercolesterolemia, principalmente na meia idade, pode aumentar o risco de desenvolvimento de quadros demenciais em idosos (Mcfarlane; Kędziora-Kornatowska, 2020). O colesterol plasmático em altas concentrações está relacionado à maior ativação inflamatória, sendo, inclusive, o principal contribuinte para a aterosclerose. A presença de mediadores inflamatórios circulantes em grande quantidade, por sua vez, pode contribuir para o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), o que também já acontece naturalmente com o processo de envelhecimento (Farrall; Wardlaw, 2009). Com isso, foi proposto que estas substâncias inflamatórias podem ultrapassar a BHE e, assim, também contribuir para a patogênese da DA (Ott *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2020).

O envolvimento de diversos tipos de respostas inflamatórias na DA, assim como em outras doenças neurodegenerativas, é amplamente descrito (Lambracht-Washington *et al.*, 2011; Browne *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Oberstein *et al.*, 2018). Inicialmente, acreditava-se que a ocorrência de processos inflamatórios na DA eram induzidos em decorrência da deposição de A β e p-tau, ou seja, como consequência da doença. Nesse contexto, estes fatores seriam responsáveis pela contínua ativação microglial, levando ao estabelecimento de uma resposta inflamatória crônica no SNC que, por sua vez, acabaria contribuindo para os efeitos neurotóxicos observados na DA (Kinney *et al.*, 2018). Atualmente, porém, há evidências de que os processos inflamatórios não apenas atuam desta maneira, como também podem estar presentes nos estágios iniciais da doença, associando-se ao seu desenvolvimento (Brosseron *et al.*, 2014).

Dentre as respostas inflamatórias relacionadas à DA, a ativação do inflamassoma NLRP3 (*nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat protein 3*) foi reportada na última década (Heneka *et al.*, 2013; Ising *et al.*, 2019; Zhang,

Dong; Song, 2020) e ganhou notoriedade pelo fato de que este complexo inflamatório pode ser ativado por diferentes tipos de substâncias, incluindo fibrilas de A β e cristais de colesterol (Düwell *et al.*, 2010; Rajamäki *et al.*, 2010).

Face à complexidade dos mecanismos envolvendo alterações do metabolismo do colesterol, respostas inflamatórias relacionadas à ativação do inflamassoma NLRP3 e DA/processos neurodegenerativos, justifica-se avaliar de forma conjunta a associação entre estes fatores, o que ainda não foi explorado em estudos anteriores. Além disso, utilizar modelos animais, bem como avaliar esta relação em seres humanos, permite compreendê-la de forma mais ampla, o que, por sua vez, pode contribuir para o delineamento de novos alvos terapêuticos para a DA e as demências.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Demências no Brasil e no mundo

Demência é um termo que abrange diversas doenças que afetam a memória, o pensamento, a linguagem e a capacidade de realizar atividades cotidianas, bem como outras habilidades cognitivas, as quais tendem a piorar ao longo do tempo em indivíduos acometidos por esta condição. Embora a incidência de demência seja maior em pessoas mais idosas, nem todas as pessoas com idade avançada desenvolvem este quadro (World Health Organization, 2023). As demências podem apresentar diversas causas que levam a danos neuronais, promovendo alterações específicas no funcionamento cerebral (Alzheimer's Association, 2023). O comprometimento da função cognitiva frequentemente acompanha e, muitas vezes, é precedido por alterações no humor, controle emocional, comportamento ou motivação. As demências acarretam grandes impactos nos aspectos físicos, psicológicos, sociais e econômicos, não apenas das pessoas que vivem com a doença, como também de seus cuidadores, familiares e a sociedade em geral. Além disso, a falta de conscientização e compreensão em relação às demências resultam em maior estigmatização, obstáculos ao diagnóstico e cuidado inadequado aos indivíduos afetados (World Health Organization, 2023).

Estima-se que, em 2019, aproximadamente 50 milhões de pessoas ao redor do mundo estavam vivendo com algum tipo de demência, e cerca de 60% desses casos ocorriam em países em desenvolvimento (Feter; Leite, 2021). Além disso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) projetou que até 2050 a prevalência estimada de DA e de outras formas de demência poderá atingir 152 milhões de casos (World Health Organization, 2017). Embora a incidência das demências esteja se estabilizando em algumas nações desenvolvidas (Wu *et al.*, 2017), nos países de baixa e média renda, bem como nos países em desenvolvimento, observa-se um aumento na incidência deste quadro. Isto foi atribuído à baixa escolaridade e à elevada prevalência de fatores de risco cardiovasculares observada nestes países (Maestre *et al.*, 2018). Estes, por sua vez, são considerados fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento de demências, e estão associados à cerca de 40% dos casos de quadros

demenciais no mundo (Livingston *et al.*, 2020) e de 56% em países da América Latina (Mukadam *et al.*, 2019).

Em relação ao Brasil, desde 1990, observou-se um aumento significativo na prevalência, morbidade e mortalidade atribuíveis à demência, com incrementos de 2,5, 3,4 e 2,3 vezes, respectivamente (Feter; Leite, 2021). Esses crescimentos contínuos colocaram o país com a segunda maior prevalência de demência padronizada por idade em todo o mundo em 2016, segundo dados do estudo sobre a carga global de doenças, lesões e fatores de risco (*Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors - GBD*). Em 2019, a prevalência estimada de brasileiros com mais de 60 anos vivendo com algum tipo de demência era de 1,7 milhões, ou seja, 1.037 casos a cada 100 mil indivíduos (Bertola *et al.*, 2023). É importante considerar que o Brasil está passando por uma transição demográfica, cuja proporção da população com 60 anos ou mais atingiu 13% em 2018, e espera-se que esse valor dobre nas próximas décadas. De acordo com um estudo recente conduzido por Oliveira *et al.* (2019), cerca de 32,3% dos casos de demência no Brasil podem estar relacionados a sete fatores de risco potencialmente modificáveis, sendo eles: diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade, sedentarismo, depressão, tabagismo e baixo nível de escolaridade. Com base nisso, foi indicado que, caso não ocorra uma redução da prevalência destes fatores, o Brasil poderá enfrentar um aumento de quatro vezes no número de pessoas vivendo com demência, passando de aproximadamente 927.000 em 2010 para 3.728.000 em 2050 (Feter; Leite, 2021). Por outro lado, a redução da prevalência de cada um destes fatores de risco modificáveis em 20%, por década, pode reduzir potencialmente a prevalência de demência no país em 16,2%, até 2050 (Norton *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2019).

Outro ponto importante relacionado às demências diz respeito ao fardo decorrente desta condição, que recai principalmente sobre a família dos pacientes acometidos (Nitrini; Ferri, 2020). Melo *et al.* (2020) apontaram que a sobrecarga é especialmente maior em mulheres jovens, que muitas vezes precisam abandonar o seu emprego formal para trabalhar como cuidadoras não qualificadas de um membro da família com demência. De acordo com Ferreti *et al.* (2018), estima-se que os custos globais com demências sejam de US\$

1.012,35; US\$ 1.683,18 e US\$ 1.372,30 por paciente/mês para os estágios leve, moderado e grave, respectivamente, com custos indiretos variando de US\$ 536,62 a US\$ 545,17, de acordo com a gravidade. Além disso, estes autores apontaram que os custos com a doença são influenciados pelo tratamento medicamentoso, nível de funcionalidade do paciente e nível educacional do cuidador. No Brasil, projeções apontam custos anuais de US\$ 16.548,24 por paciente.

Estudos recentes destacam a necessidade de conscientização por parte dos formuladores de políticas públicas sobre a urgência e a extensão do desafio representado pela demência no Brasil. Também ressaltam a importância de alocar recursos financeiros para viabilizar a criação de um Plano Nacional de Demência, o qual poderia servir como um guia essencial para orientar políticas voltadas à prevenção e ao tratamento da doença, estabelecendo estratégias de assistência e prioridades de pesquisa específicas para o contexto brasileiro. Isso, por sua vez, beneficiaria não apenas os, aproximadamente, 1,5 milhão de idosos que vivem com algum tipo de demência no Brasil, como também seus familiares e cuidadores, podendo reduzir, inclusive, os encargos no sistema de saúde associados à doença (Melo *et al.*, 2020; Nitrini *et al.*, 2020; Nitrini; Ferri, 2020; Feter; Leite, 2021).

2.2 Doença de Alzheimer: aspectos clínicos, epidemiológicos e fisiopatológicos

A DA é o tipo mais comum de demência, sendo responsável por 60 a 80% dos quadros demenciais em todo o mundo. A DA é uma doença neurodegenerativa progressiva caracterizada pela perda progressiva de memória e declínio de outras funções cognitivas, bem como alterações comportamentais e comprometimento funcional (Cipriani *et al.*, 2020). A progressão da doença, que abrange desde as alterações cerebrais inicialmente imperceptíveis para o indivíduo acometido, até as mudanças que irão resultar nos déficits cognitivos e funcionais, é conhecida como *continuum* da DA (Figura 1). Dentro deste, por sua vez, são identificadas três fases amplas da doença: a DA pré-clínica, o comprometimento cognitivo leve (CCL) atribuído à DA, e a demência

propriamente dita, frequentemente referida como “demência de Alzheimer”. Já a fase de demência é subdividida em leve, moderada e grave (Alzheimer’s Association, 2023). Embora o *continuum* da DA se inicie com a fase pré-clínica, na qual os sintomas ainda não são evidentes, e termine na fase de demência grave, é importante considerar que o tempo que os indivíduos passam em cada fase é variável e sofre influência de fatores como idade, genética, sexo biológico, entre outros determinantes (Vermunt *et al.*, 2019).



Figura 1. *Continuum* da doença de Alzheimer. Traduzido de Alzheimer’s Association, 2023.

A DA pode manifestar-se precocemente, antes dos 65 anos, sendo neste caso denominada DA de início precoce (*early-onset Alzheimer’s disease* – EOAD). Esta manifestação da doença também é referida como DA familiar (*familial Alzheimer’s disease* – FAD), uma vez que é decorrente de herança autossômica dominante de mutações que codificam os genes da proteína precursora amiloide (APP) ou da presenilina 1 e 2 (PSEN1 e PSEN2) (Feringa; Van Der Kant, 2021). A EOAD é rara, representando apenas cerca de 5% de todos os casos de DA. A grande maioria dos pacientes com DA desenvolve a forma de início tardio (*late-onset Alzheimer’s disease* – LOAD), na qual o envelhecimento, juntamente com influências genéticas e estilo de vida consistem nos principais fatores de risco (Scheltens *et al.*, 2016).

Em relação aos aspectos fisiopatológicos da DA, apesar das controvérsias recentes (Lowe, 2022; Dickson *et al.*, 2023), os principais achados patológicos descritos para a doença ainda consistem nos depósitos de A β ao redor dos neurônios, e nos emaranhados neurofibrilares (*neurofibrillary tangles* – NFT) de p-tau dentro destas células. Estes marcadores são encontrados especialmente nas regiões do hipocampo e do córtex cerebral e desempenham funções patológicas distintas (Heppner, Ransohoff; Becher, 2015). Placas e agregados menores de A β podem causar danos neuronais, interferindo nas sinapses. Já no

interior dos neurônios, os emaranhados de proteína tau podem agir interrompendo o fluxo de nutrientes e de outras moléculas vitais para o desempenho adequado e a preservação da sobrevivência das células do sistema nervoso (Alzheimer's Association, 2023).

O peptídeo A β é produzido por meio do processamento proteolítico da proteína precursora amiloide (APP) pelas enzimas β e γ -secretases. Inclusive, acredita-se que mutações nos genes *PSEN1* e *PSEN2* associadas à FAD, conforme descrito acima, alteram a clivagem da APP pela γ -secretase, levando ao aumento da produção de formas amiloidogênicas de A β (Seiffert *et al.*, 2000). A APP é uma glicoproteína de membrana que desempenha importantes funções biológicas, as quais abrangem o desenvolvimento neuronal, a sinalização celular, o transporte intracelular, entre outros aspectos da homeostase neuronal. Os monômeros de A β têm a capacidade de se agregar em várias formas de oligômeros, os quais, por sua vez, podem formar fibrilas de estrutura regular. As fibrilas amiloides são maiores e insolúveis e podem se agrupar em placas, ao passo que os oligômeros são solúveis e podem se espalhar por todo o cérebro. O A β abrange um grupo de peptídeos que variam em tamanho de 37 a 49 resíduos de aminoácidos (Chen *et al.*, 2017). As principais isoformas associadas à DA são as que contém 40 a 42 resíduos (A β ₁₋₄₀ e A β ₁₋₄₂, respectivamente) e, embora o primeiro fragmento seja o mais comum, já foi descrito que o segundo, mais hidrofóbico, apresenta maior potencial amiloidogênico. Ambos, no entanto, são capazes de se agregar, formando fibrilas e placas insolúveis (Falco *et al.*, 2016).

No que se refere à proteína tau, esta é encontrada principalmente no axônio dos neurônios, onde desempenha o papel de estabilizar os microtúbulos neuronais em condições fisiológicas (Avila *et al.*, 2004; Long; Holtzman, 2019). No entanto, sob condições anormais, esta proteína pode sofrer alterações, sendo a hiperfosforilação uma das principais. Uma vez hiperfosforilada, a proteína tau tende a formar agregados, que impedem o trânsito intracelular de fatores neurotróficos e outras proteínas funcionais, reduzindo o transporte axonal ou dendrítico dentro dos neurônios (Paula, Guimarães; Forlenza, 2009). Ainda que os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à neurodegeneração na DA não estejam bem elucidados, acredita-se que o acúmulo de A β inicie-se antes da

formação da tau anormal, e o aumento da primeira se correlacione com posteriores aumentos desta última, conforme observado em estudos prévios (Sato *et al.*, 2018; Hanseeuw *et al.*, 2019).

Outras alterações patológicas que ocorrem na DA consistem no aumento da atividade inflamatória no SNC, também referida como neuroinflamação, a qual parece exercer papel importante na perda progressiva dos neurônios, e na atrofia cerebral, resultante da perda neuronal (Alzheimer's Association, 2023). Há evidências de que os neurônios colinérgicos são os mais acometidos na doença, acarretando na redução dos níveis cerebrais de acetilcolina. Essas descobertas levaram à formulação da hipótese colinérgica da DA, que serviu como base para o desenvolvimento de inibidores da colinesterase para o tratamento da doença (Esang; Gupta, 2021). Atualmente, estão disponíveis três moléculas pertencentes a esta classe farmacológica para a terapia medicamentosa da DA: donepezila, indicada para todas as fases da doença, bem como a galantamina e a rivastigmina, para casos de demência leve a moderada. Além destas, também está aprovada para o tratamento da DA a memantina, um antagonista não competitivo do receptor glutamatérgico ionotrópico N-metil-d-aspartato (NDMA), que costuma ser utilizada em monoterapia ou em associação com os agentes anticolinesterásicos nas fases mais avançadas da doença (Scarpini, Scheltens; Feldman, 2003). Entretanto, é importante considerar que estes medicamentos proporcionam alívio temporário dos sintomas (tais como confusão moderada, insônia, agitação, ansiedade e agressão), mas não são capazes de interromper ou reverter a doença (Loveman *et al.*, 2006).

Com base nisso, nas últimas duas décadas, inúmeros esforços foram feitos para desenvolver "medicamentos modificadores da doença" em vez de apenas "medicamentos supressores de sintomas", no contexto da DA. Essas abordagens farmacológicas têm como objetivo interferir nas etapas patogênicas que desencadeiam a manifestação dos sintomas clínicos da doença, como os agregados de A β extracelulares, os emaranhados neurofibrilares de proteína tau no interior dos neurônios, e a neuroinflamação. Neste âmbito, foi proposto o uso de inibidores enzimáticos, anticorpos monoclonais anti-A β e imunoterápicos (Kopec *et al.*, 2020). Em 2021, a agência regulatória norte-americana, a *Food and Drug Administration* (FDA), aprovou o primeiro "medicamento modificador

de doença” para DA por uma via acelerada, o aducanumab, um anticorpo monoclonal que demonstrou reduzir as placas de A β cerebrais. A FDA utiliza esta via regulatória acelerada para aprovar medicamentos que tratam doenças graves ou que apresentam risco à vida, condicionada à demonstração da eficácia destes fármacos sobre um desfecho secundário. Este último consiste em um indicador ou marcador que se acredita prever o benefício clínico, embora não seja uma medida direta do mesmo (Food and Drugs Administration, 2020). No caso do aducanumab, utilizou-se como desfecho secundário a redução das placas de A β no cérebro, prevendo-se que isso possa melhorar a cognição e aspectos globais da doença (Esang; Gupta, 2021). A aprovação deste fármaco foi acompanhada por um misto de esperança e controvérsia (Behl *et al.*, 2022), contudo, até o momento, pode-se considerar que nenhuma terapia medicamentosa obteve êxito substancial no tratamento da DA (Kopec *et al.*, 2020).

2.3 Envolvimento de processos inflamatórios na doença de Alzheimer

Conforme mencionado acima, a neuroinflamação consiste em uma alteração patológica descrita na DA, que parece exercer função importante na perda progressiva neuronal (Alzheimer’s Association). Nesse sentido, ao longo dos últimos anos, diversos estudos reportaram que as micróglia, principais células inflamatórias do SNC, são ativadas em resposta às formas anormais do peptídeo A β e de p-tau. Demonstrou-se, por exemplo, que fibrilas e oligômeros solúveis de A β podem se ligar a receptores expressos por micróglia, promovendo a ativação dessas células. Uma vez ativadas, as micróglia sofrem alterações morfológicas que promovem a fagocitose de A β e a liberação de diferentes citocinas e mediadores inflamatórios, na tentativa de prevenir danos adicionais causados por depósitos deste peptídeo (Kinney *et al.*, 2018). No entanto, embora a micróglia seja uma célula imune do SNC, que desempenha ações neuroprotetoras no cérebro em condições fisiológicas, ela também pode ser neurotóxica, levando ao dano ou morte neuronal. Este estado é possivelmente promovido por uma ativação microglial contínua, levando a uma "hiperatividade" desta célula. Assim, a micróglia se torna incapaz de fagocitar os depósitos de A β , mas mantém a secreção de citocinas inflamatórias, contribuindo para a

morte dos neurônios e, portanto, para a neurodegeneração (Wyss-Coray; Rogers, 2012). O papel da micróglia nos processos neuroinflamatórios que ocorrem na DA é um dos mais descritos, mas o envolvimento de diferentes padrões de células do SNC também é relatado, como os astrócitos. Nesse contexto, há evidências de que estas células circundam as placas de A β , tornando-se ativados e secretando mediadores inflamatórios da mesma maneira que as células microgliais (Heppner, Ransohoff; Becher, 2015).

Face ao exposto, acreditava-se, inicialmente, que os depósitos proteicos de A β e proteína tau seriam responsáveis pela ativação contínua das células da glia, levando ao estabelecimento de uma resposta inflamatória crônica no SNC, que, por sua vez, contribuiria para os efeitos neurotóxicos observados na DA (Kinney *et al.*, 2018). No entanto, há evidências de que processos inflamatórios também estão presentes nas fases iniciais da doença, estando associados ao seu desenvolvimento. Dessa forma, sugeriu-se que um desequilíbrio nos níveis dos mediadores inflamatórios periféricos pode estar envolvido na patogênese da DA (Wyss-Coray; Rogers, 2012; Ott *et al.*, 2018), conforme demonstrado na Figura 2.

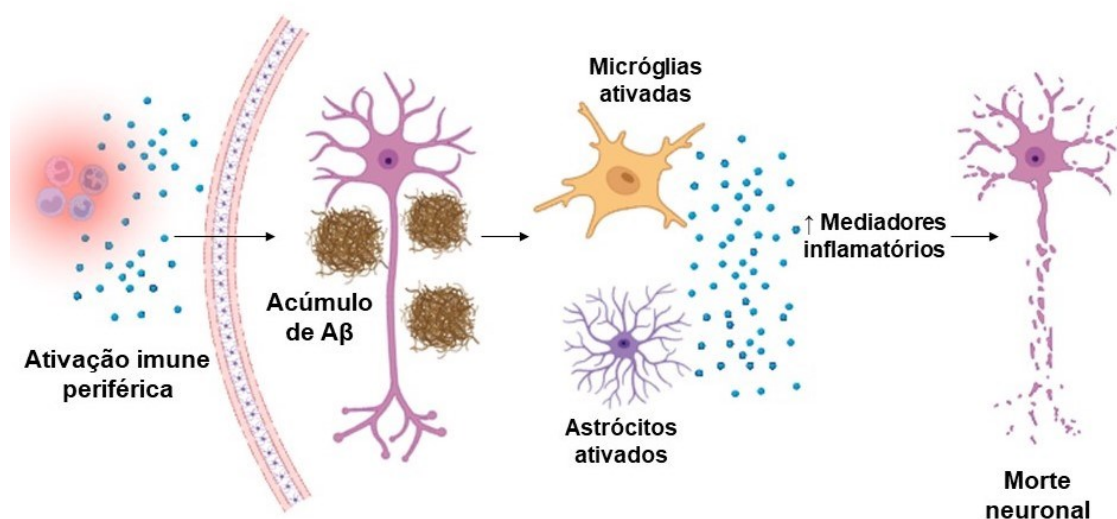


Figura 2. Processos inflamatórios possivelmente envolvidos na patogênese da doença de Alzheimer. Ilustração elaborada pela autora a partir das fontes Wyss-Coray; Rogers (2012) e Ott *et al.* (2018), utilizando-se o *software* BioRender.

Um possível fator que pode contribuir para isso é o aumento da permeabilidade da BHE, que ocorre naturalmente com o envelhecimento (Farrall; Wardlaw,

2009). Em um estudo transversal, observou-se que pacientes com DA apresentaram alteração na permeabilidade da BHE, o que pode afetar os processos de transporte passivo e ativo (Johanson *et al.*, 2018). Vale ressaltar que, com o envelhecimento, também há o estabelecimento de um processo inflamatório sistêmico crônico, devido à desregulação do sistema imunológico (Chung *et al.*, 2019), e que isso é outro fator que pode contribuir para o aumento da permeabilidade da BHE. Desta forma, é possível associar o estado inflamatório exacerbado em idosos com a alteração da função desta barreira (Elwood *et al.*, 2017). Com a permeabilidade da BHE alterada, por sua vez, a passagem de moléculas inflamatórias presentes na circulação sanguínea para o líquido cefalorraquidiano (LCR) também pode ocorrer (Jefferson *et al.*, 2015; Shah, Merchant; Delurgio, 2016; Ott *et al.*, 2018), contribuindo para a neuroinflamação na DA (Takeda, Sato; Morishita, 2014). Estes fatores também podem explicar porque condições clínicas nas quais ocorrem uma resposta inflamatória sistêmica crônica foram associadas à DA, incluindo fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV), como hipertensão arterial, diabetes mellitus, obesidade, tabagismo e hipercolesterolemia (Choi, Choi; Park, 2018; Kivimäki *et al.*, 2018; Mcfarlane; Kędziora-Kornatowska, 2020; Park, Han; Mook-Jung, 2020).

2.4 Relação da doença de Alzheimer com alterações do colesterol e de outros parâmetros do perfil lipídico

A associação entre DA e colesterol foi reportada de forma extensa nas últimas décadas, mas os dados disponíveis ainda são consideravelmente conflitantes (Mcfarlane; Kędziora-Kornatowska, 2020). O colesterol é uma molécula presente na constituição das membranas celulares, sendo essencial para a manutenção da estrutura e função das células, além de desempenhar outras funções biológicas relevantes (Goedeke; Fernández-Hernando, 2012). Cerca de 20 a 30% de todo o colesterol corporal está presente no SNC, onde essa molécula é essencial para a produção e secreção de neurotransmissores, garantindo a plasticidade sináptica (Anchisi *et al.*, 2013). Nesse sentido, sugeriu-se que alterações na homeostase lipídica do SNC podem estar envolvidas no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Em relação à DA, acredita-se

que o excesso de colesterol na membrana plasmática altera a atividade das enzimas envolvidas na clivagem da APP, levando ao aumento da produção de A β (Ortiz *et al.*, 2013). Este mecanismo, por sua vez, pode induzir a hiperfosforilação da tau, resultando na formação dos emaranhados neurofibrilares (Ghribi, 2008). Além disso, níveis elevados de derivados da oxidação do colesterol cerebral podem desencadear a apoptose e a excitotoxicidade em células neurais (Trousson *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2010). Inclusive, já foi proposto que os níveis plasmáticos de metabólitos do colesterol que, ao contrário deste, são capazes de cruzar a BHE, poderiam ser indicadores da demência. Os principais oxisteróis relacionados à DA em estudos anteriores são o 24S-hidroxicolesterol (24-OHC) e o 27-hidroxicolesterol (27-OHC) (Martins *et al.*, 2023). O primeiro, também conhecido como cerebrosterol, é produzido somente no cérebro, ao passo que o segundo é o oxisterol mais abundante na corrente sanguínea, produzido principalmente no fígado, embora também possa ser metabolizado no cérebro (Gamba *et al.*, 2019). Em condições fisiológicas, ocorre um fluxo de 27-OHC para o cérebro, que é metabolizado pelos neurônios e depois retorna ao fígado para produzir ácidos biliares (Saint-Pol; Gosselet, 2019). No sentido oposto, o 24-OHC migra do cérebro para a periferia, atuando, assim, na depuração do colesterol cerebral (Weigel, Kulas; Ferris, 2019). Pacientes com DA, contudo, apresentaram níveis anormais destes oxisteróis, que foram associados ao grau de produção de A β , à perda de substância cinzenta ativa, ao acúmulo de p-tau e à atrofia cerebral (Wang *et al.*, 2016; Agarwal; Khan, 2020).

Outro aspecto importante que associa as alterações do colesterol à DA consiste no fato de polimorfismos no gene da apoE serem considerados fatores de risco para DA (Safieh, Korczyn; Michaelson, 2019). A apoE é uma glicoproteína que atua como um transportador lipídico, sendo responsável pela distribuição de colesterol e fosfolípidios por todo o corpo, desempenhando papel essencial na homeostase destas moléculas. Na periferia, a apoE é produzida principalmente no fígado, por hepatócitos e macrófagos (Huang *et al.*, 2004). Embora não possa atravessar a BHE, esta apolipoproteína também é amplamente expressa no SNC por células como astrócitos, micróglia ativada e, em menor grau, por neurônios em condições de estresse (Boyles *et al.*, 1985; Aoki *et al.*, 2003). Existem três

principais isoformas da apoE humana: apoE2, apoE3 e apoE4. Essas isoformas se distinguem pelas posições de seus aminoácidos, causando impacto significativo na funcionalidade da apoE. Isto ocorre pois levam à variações específicas na sua estrutura, afetando a ligação aos lipídios, a interação com os receptores, a propensão à oligomerização e a estabilidade da glicoproteína (Raulin *et al.*, 2022). Cada indivíduo herda uma das três formas (alelos) do gene *APOE* de cada progenitor, resultando em seis possíveis combinações: $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ e $\epsilon 4/\epsilon 4$ (Alzheimer's Association, 2023). Apresentar a isoforma E4 do gene *APOE*, em comparação à E3, aumenta o risco de desenvolver DA, embora não seja uma garantia de que a pessoa desenvolverá a doença. Já a presença da isoforma E2 pode reduzir o risco, em comparação à E3, embora acredita-se que esta última não tenha impacto significativo no risco da DA. Quando comparados as pessoas que possuem duas cópias do alelo $\epsilon 3$, os indivíduos que herdam uma cópia do alelo $\epsilon 4$ possuem, aproximadamente, três vezes mais risco de desenvolver DA, enquanto que, para aqueles que herdam duas cópias do alelo $\epsilon 4$, o risco chega a ser entre oito e doze vezes maior (Loy *et al.*, 2014; Michaelson, 2014). Além disso, em indivíduos que possuem o alelo $\epsilon 4$ há maior probabilidade de acumular A β e desenvolver DA em uma idade mais precoce, do que naqueles com os alelos $\epsilon 2$ ou $\epsilon 3$ do gene *APOE* (Jansen *et al.*, 2015).

Embora todo o colesterol cerebral seja produzido exclusivamente no SNC, níveis elevados de colesterol sistêmico também foram associados à DA, sugerindo que a hipercolesterolemia, especialmente na meia-idade, pode aumentar o risco de desenvolvimento de demência em idosos (McFarlane; Kędziora-Kornatowska, 2020). Cabe acrescentar que elevadas concentrações periféricas de colesterol estão relacionadas com maior ativação inflamatória, sendo, de fato, o principal contribuinte para a aterosclerose. Inclusive, como o colesterol elevado circulante induz dano vascular, antes de serem propostas associações entre as alterações do colesterol e as características patológicas da DA, a conexão principal entre estes estava relacionada ao efeito do colesterol sobre o desenvolvimento de aterosclerose e DCVs (Wang *et al.*, 2020).

A aterosclerose, principal causa de acidente vascular cerebral (AVC) e infarto agudo do miocárdio, é uma condição inflamatória crônica de origem multifatorial,

que afeta principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre (Ross, 1999). As placas ateroscleróticas se formam em resposta a danos no revestimento do endotélio arterial, que podem ser desencadeados por fatores como dislipidemias (níveis alterados de lipídios no sangue), hipertensão arterial e tabagismo. O processo aterogênico começa com a agressão ao revestimento interno das artérias, levando à maior permeabilidade da camada íntima às lipoproteínas plasmáticas, facilitando a retenção destas no espaço subendotelial. As partículas de colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade (LDLc), responsáveis pelo transporte do colesterol plasmático às células periféricas e ao fígado, sofrem oxidação ao serem retidas, tornando-se imunogênicas. Além da LDLc, outra lipoproteína considerada aterogênica é o colesterol da lipoproteína(a) – Lp(a) – que consiste em uma partícula de LDL com uma apolipoproteína adicional, a apo(a). Ambas LDLc e Lp(a) apresentam em sua constituição a apolipoproteína B (apoB), que atua no transporte do colesterol produzido no fígado para as células periféricas. Ressalta-se que no processo aterogênico, o depósito de lipoproteínas na parede arterial é um evento crucial no início da aterogênese, e está diretamente relacionado à concentração dessas lipoproteínas no sangue. Além do aumento da permeabilidade às lipoproteínas, a disfunção endotelial também promove o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial, estimuladas pela presença de LDLc oxidada. Essas moléculas de adesão são responsáveis por atrair monócitos e linfócitos para a camada íntima da parede arterial. Os monócitos, em resposta a proteínas quimiotáticas, migram para o espaço subendotelial, onde se transformam em macrófagos que, por sua vez, capturam as LDLc oxidadas. Os macrófagos carregados de lipídios são conhecidos como células espumosas e representam o principal componente das lesões iniciais da aterosclerose, chamadas de estrias gordurosas. Ao serem ativados, os macrófagos desempenham um papel significativo na progressão da placa aterosclerótica ao secretar citocinas que amplificam o processo inflamatório (Faludi *et al.*, 2017).

Com base nisso, níveis periféricos de colesterol e de outras frações do perfil lipídico são considerados marcadores preditivos de DCVs. Considerando a capacidade de se acumularem e obstruírem as artérias que irrigam o coração, um mecanismo semelhante foi sugerido para a DA. Nesse sentido, acreditava-

se que a demência poderia decorrer da má oxigenação do cérebro devido à obstrução dos vasos pelos lipídios circulantes (Agarwal; Khan, 2020). Alguns estudos chegaram a avaliar se a relação entre os parâmetros lipídicos e a DA seria semelhante ao perfil de risco cardíaco. Contudo, apesar de alterações dos níveis destas moléculas se associarem à DA e a outras DCVs (Helzner *et al.*, 2009), a avaliação cognitiva não foi afetada pelos parâmetros lipídicos, não permitindo inferir como o perfil de risco cardíaco afetaria a cognição (Sabbagh *et al.*, 2004). De qualquer maneira, interessantemente, o aumento do número de placas de A β cerebrais foi associado a elevados valores plasmáticos de colesterol total (CT), LDLc e triglicérides (TG), e a níveis reduzidos do colesterol presente na lipoproteína de alta densidade (HDLc) (Pappolla *et al.*, 2003; Iqbal, Braidy; Ahmed, 2020). Em relação à esta última, cabe contextualizar que a HDLc realiza o transporte do colesterol da corrente sanguínea para o fígado, processo conhecido como transporte reverso do colesterol. Além disso, também desempenha outras funções protetivas contra a formação de placas ateroscleróticas, tais como: remoção de lipídios oxidados da LDLc, inibição da fixação de moléculas de adesão e monócitos às células endoteliais, e estímulo à liberação de óxido nítrico (Faludi *et al.*, 2017).

Há estudos que consideram que, dentre os parâmetros do perfil lipídico, apenas o CT se associaria com a DA, uma vez que níveis circulantes elevados deste foram observados em pacientes com a demência, em comparação a controles, enquanto as outras moléculas lipídicas permaneceram inalteradas comparando-se os dois grupos (He *et al.*, 2016; Anstey, Ashby-Mitchell; Peters, 2017). Sugeriu-se, também, que o CT poderia exercer uma associação bidirecional com a DA pois, em pacientes com a demência, observou-se valores elevados de CT até a meia-idade, que posteriormente reduziram na idade avançada (Solomon *et al.*, 2009). Por outro lado, há estudos que encontraram associações somente entre os níveis de LDLc e a DA (Wu *et al.*, 2019), os quais observaram valores desta fração lipídica elevados nos pacientes com 60 a 70 anos de idade, que reduziram com o envelhecimento (Zhou *et al.*, 2020).

De qualquer maneira, diante dessas associações, também já foi proposto que a utilização de estatinas, que são os medicamentos de escolha para o tratamento da hipercolesterolemia, poderiam apresentar efeitos protetores em relação à DA

(Mejías-Trueba, Pérez-Moreno; Fernández-Arche, 2018). Esta classe farmacológica compreende os fármacos inibidores da hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA), enzima responsável pela síntese de colesterol. Desta forma, as estatinas atuam reduzindo a produção deste lipídio, além de aumentarem o número de receptores de LDLc nas membranas dos hepatócitos, possibilitando maior depuração do LDLc sanguíneo e redução do nível de lipoproteínas circulantes (Sizar *et al.*, 2017). Em relação à DA, os efeitos benéficos da utilização destes fármacos estariam associados à sua ação na redução dos níveis de colesterol circulantes, que, por sua vez, também seria potencialmente anti-inflamatória (Kim *et al.*, 2019). Estudos observacionais demonstraram menor incidência de DA e outras demências em idosos que faziam tratamento crônico com estatinas (Chu *et al.*, 2018; Sinyavskaya *et al.*, 2018). Por outro lado, também já foi sugerido que o uso extensivo e prolongado destes fármacos pode causar prejuízo nas funções cognitivas em indivíduos saudáveis e nos próprios pacientes com demência (Alsubaie *et al.*, 2022). Em ensaios clínicos randomizados e controlados envolvendo pacientes com DA leve a moderada, o uso de estatinas tanto demonstrou efeitos benéficos na cognição (Simons *et al.*, 2002; Sparks *et al.*, 2006), como também não apresentou nenhum benefício significativo (Feldman *et al.*, 2010; Sano *et al.*, 2011). Diante destas inconsistências, ainda não é possível inferir o papel destes medicamentos na função cognitiva, bem como os seus potenciais benefícios aos pacientes com DA (Mejías-Trueba, Pérez-Moreno; Fernández-Arche, 2018).

Diante do que foi apresentado neste tópico, é possível observar que existem relações complexas entre a DA, colesterol e processos inflamatórios. Nesse cenário, um importante componente da resposta inflamatória que pode estar associado a estes fatores é o inflamassoma NLRP3, que será abordado no tópico seguinte.

2.5 Inflamassoma NLRP3 como possível *link* entre doença de Alzheimer e alterações do colesterol

O inflamassoma NLRP3 (*nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat protein 3*) é um importante componente da resposta imune inata. Embora possa

ser expresso por diferentes tipos de células, é produzido principalmente por macrófagos, atuando como sensor-chave na manutenção celular em resposta a patógenos ou sinais estressores (Duez; Pourcet, 2021). Já no SNC, as micróglia parecem ser as células que possuem a maquinaria mais robusta para a sua produção (Gustin *et al.*, 2015). O inflamassoma NLRP3 atua reconhecendo padrões moleculares associados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns* – PAMPs) e padrões moleculares associados a danos (*danger-associated molecular patterns* – DAMPs) (Pourcet; Duez, 2020). Os inflamassomas são complexos citoplasmáticos tipicamente compostos por uma molécula sensorial, uma proteína adaptadora e uma proteína efetora. A proteína sensorial consiste em um receptor de reconhecimento de padrões (*pattern recognition receptors* – PRRs), que é responsável pelo reconhecimento dos PAMPs e DAMPs. No caso do inflamassoma NLRP3, a molécula sensorial é o NLRP3, um receptor do tipo NOD (*NOD-like receptors* – NLRs), ou seja, que apresenta um domínio de ligação a nucleotídeos (*nucleotide-binding domain* – NOD), com repetição rica em leucina (*leucine-rich repeat* – LRR) e domínio de pirina contendo proteína 3. Acoplado a este receptor, encontra-se a molécula adaptadora ASC (*apoptosis-associated-speck-like protein containing a caspase recruitment domain*). Já a molécula efetora é a caspase-1 que, ao ser ativada, após o acoplamento junto à ASC e à proteína NLRP3, resultante do reconhecimento de um sinal danoso, é responsável pela maturação das interleucinas (IL)-1 β e IL-18, que consistem em citocinas pró-inflamatórias (Duez; Pourcet, 2021). Assim, inicia-se uma resposta imune inata, que acaba por influenciar na subsequente indução da resposta imune adquirida (Inohara *et al.*, 2005).

A ativação do inflamassoma NLRP3 geralmente ocorre em duas etapas (ativação canônica), embora um processo alternativo também possa ativar esse complexo, no qual não é necessário um segundo sinal (via não canônica). Na ativação canônica, um primeiro sinal leva ao *priming*, ou seja, à indução de componentes transcricionais do inflamassoma. Após isso, um segundo sinal promove a montagem do inflamassoma, levando à atividade auto catalítica da caspase-1 que, por sua vez, induz a posterior maturação e secreção de IL-1 β e IL-18 (Hanslik; Ulland, 2020). No *priming*, que geralmente ocorre através do

reconhecimento de diferentes PAMPs e DAMPs por PRRs como os receptores *toll-like* (TLRs) e NLRs, ocorre a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) e a subsequente indução da transcrição dos genes das estruturas que compõem o inflamassoma (Duez; Pourcet, 2021). Uma vez iniciada esta etapa, diferentes mecanismos podem desencadear o segundo sinal, como: efluxo de íons de potássio; fagocitose de material particulado (cristais) que levam à liberação de proteases como as catepsinas causando danos lisossomais; e disfunção mitocondrial que causam a produção de espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species* – ROS) (Shao *et al.*, 2015; Parsamanesh *et al.*, 2019). No entanto, além de estar envolvido na maturação dessas citocinas pró-inflamatórias, o inflamassoma NLRP3 também contribui para o controle da piroptose, um tipo de morte celular programada rápida e inflamatória (Duez; Pourcet, 2021).

Considerando estes mecanismos, uma das moléculas que está intimamente associada à ativação do inflamassoma NLRP3 é o colesterol. Já foi demonstrado, por exemplo, que a LDLc oxidada pode levar ao *priming* de NLRP3 ao induzir os genes *Nlrp3* e *Il1b* em macrófagos derivados da medula óssea (Sheedy *et al.*, 2013). Além disso, demonstrou-se que os cristais de colesterol podem induzir a liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (*neutrophil extracellular traps*: NETs) e promover o *priming* de NLRP3 pela ativação de TLRs em macrófagos (Warnatsch *et al.*, 2015; Duez; Pourcet, 2021). Além de estarem envolvidos nesta fase, os cristais de colesterol podem atuar como um segundo sinal na ativação do inflamassoma, pois podem ser fagocitados por macrófagos, levando à ruptura lisossomal (Dewell *et al.*, 2010). Com base nesses fatores, vários estudos demonstraram associação entre inflamassoma NLRP3 e aterosclerose (Rajamäki *et al.*, 2010; Usui *et al.*, 2012; Hendrikx *et al.*, 2015; Karasawa; Takahashi, 2017).

Paralelamente, a ativação do inflamassoma NLRP3 na DA também foi reportada nos últimos anos (Heneka *et al.*, 2013; Ising *et al.*, 2019; Zhang, Dong; Song, 2020). Demonstrou-se que o peptídeo A β ₁₋₄₂ pode estar envolvido na iniciação (*priming*) do NLRP3 (Sheedy *et al.*, 2013; Duez; Pourcet, 2021), bem como pode atuar na segunda sinalização para ativação deste complexo proteico, uma vez que podem ser fagocitados pela micróglia, levando a danos lisossomais (Halle

et al., 2008; Heneka *et al.*, 2013). Mais recentemente, também foram relatadas associações entre o inflamassoma NLRP3 e os processos patológicos relacionados à proteína tau (Ising *et al.*, 2019; Stancu *et al.*, 2019). O Quadro 1 mostra alguns estudos nos quais foi demonstrado o envolvimento do inflamassoma NLRP3 com a DA.

Quadro 1. Evidências da associação entre o inflamassoma NLRP3 e a doença de Alzheimer.

| Principais achados | Referências |
|---|-------------------------------|
| Aumento substancial na expressão da caspase-1 ativada foi observado em cérebros de indivíduos com DA em comparação com controles. | |
| Em modelo de camundongos transgênicos para DA e <i>knockout</i> para NLRP3 ou caspase-1, observou-se menor ativação de caspase-1 e IL-1 β cerebral, além de aumento da depuração de A β e melhor desempenho relacionado à memória espacial. | Heneka <i>et al.</i> (2013) |
| Em camundongos transgênicos para DA e <i>knockout</i> para NLRP3, a deficiência do inflamassoma NLRP3 levou à polarização da microglia para um fenótipo M2 (que produz citocinas anti-inflamatórias), causando redução da deposição de placa A β nesses animais. | |
| Camundongos duplo transgênicos para DA que superexpressam a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1 (APP/PS1) e <i>knockout</i> para NLRP3 (Nlrp3 ^{-/-}) não apresentaram alterações relacionadas à morfologia da micróglia e aumento de placas de A β após injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo. Assim, foi proposto que a inflamação sistêmica prejudica a depuração microglial de A β através da atividade do inflamassoma NLRP3. | Tejera <i>et al.</i> (2019) |
| Em modelo murino para DA e <i>knockout</i> para NLRP3 (camundongos Tau22/Nlrp3 ^{-/-}), a deficiência de NLRP3 diminuiu a hiperfosforilação e agregação de tau em diversas regiões cerebrais, além de prevenir o declínio cognitivo. Além disso, a proteína tau ativou o inflamassoma NLRP3 e, após injeção intracerebral de homogeneizados de β -amilóide, a indução de p-tau ocorreu de maneira dependente do NLRP3. | Ising <i>et al.</i> (2019) |
| Observou-se aumento de IL-18 e caspase-1 no lobo frontal cerebral em amostras <i>post-mortem</i> de indivíduos com DA. Além disso, microglias, astrócitos e neurônios foram co-localizados aos depósitos amilóides e emaranhados neurofibrilares de proteína tau. | Ojala <i>et al.</i> (2009) |
| Em pessoas com comprometimento cognitivo leve, os níveis de IL-18 livre no plasma foram significativamente mais elevados em comparação com pacientes com DA e controles. Sugeriu-se que os níveis circulantes de citocinas e receptores da família IL-1 poderiam ser marcadores potenciais da progressão da DA. | Italiani <i>et al.</i> (2018) |

Adaptado de: Martins *et al.* (2023).

Diante do exposto, é plausível sugerir que perturbações do metabolismo do colesterol e processos patológicos envolvidos na DA podem se relacionar à ativação do inflamassoma NLRP3, conforme esquema disposto na Figura 3. Nesse âmbito, já foi sugerido, inclusive, que os oxisteróis podem também estar envolvidos na ativação deste complexo inflamatório implicada à DA (Martins *et al.*, 2023).

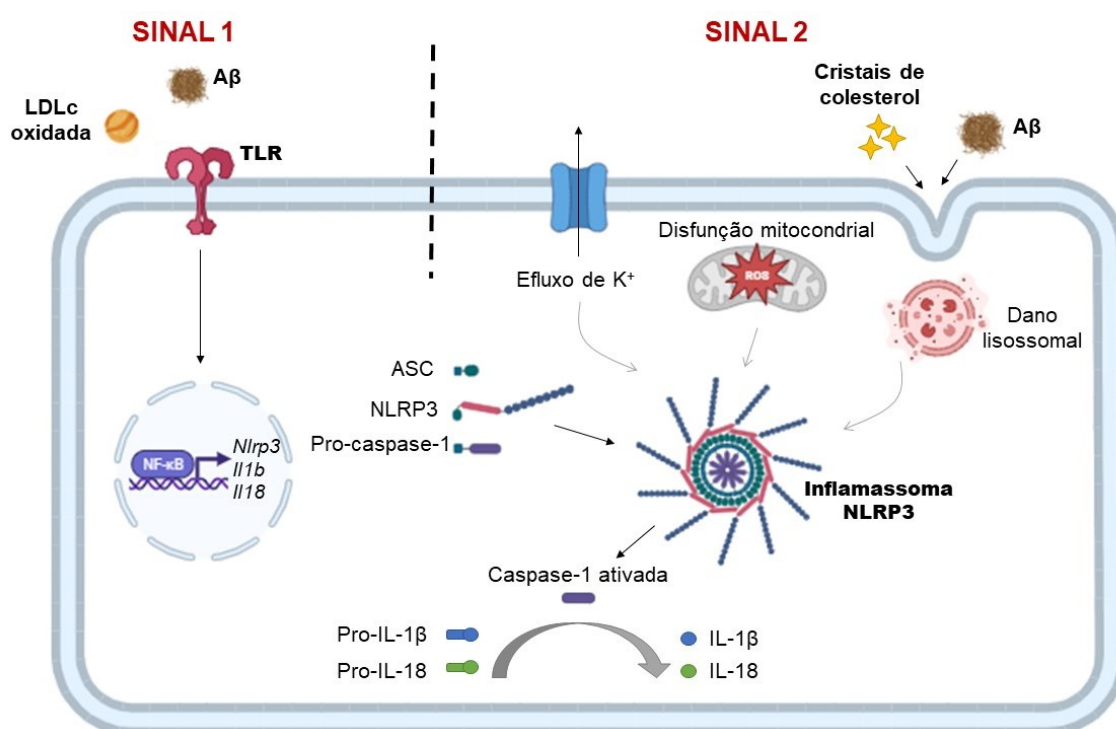


Figura 3. Desregulações do colesterol e patologia da DA como potenciais sinalizadores para ativação do inflamassoma NLRP3. Ilustração elaborada pela autora a partir das fontes Heneka *et al.* (2013); Sheedy *et al.* (2013); Warnatsch *et al.* (2015); Duez; Pourcet, (2021), utilizando-se o *software* BioRender.

Em conjunto, os dados apresentados permitem propor que uma desregulação dos níveis de lipídios podem estar associados aos processos patológicos e neurodegenerativos na DA por meio de mecanismos inflamatórios mediados pela atividade do inflamassoma NLRP3. Dentre os lipídios, o colesterol se destaca por ser um dos membros mais abundantes, presente em quantidades consideráveis tanto no cérebro quanto em órgãos periféricos. Desta forma, este estudo teve como proposta avaliar as associações entre estes fatores.

3 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo foi avaliar associações entre alterações periféricas do colesterol, respostas inflamatórias (com ênfase no inflamassoma NLRP3) e DA/processos neurodegenerativos, considerando a hipótese de que um melhor entendimento a respeito dos mecanismos envolvidos nesta relação pode possibilitar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas futuras. Para este fim, o trabalho foi dividido em duas partes: estudo em modelo animal (PARTE I) e estudo em humanos (PARTE II), as quais serão apresentadas separadamente.

PARTE I – ESTUDO EM MODELO ANIMAL

I. 4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar uma dieta com acréscimo de colesterol em camundongos C57BL/6, capaz de causar aumento nos níveis séricos de CT destes animais;
- Administrar em camundongos duplo-trânsrgênicos que superexpressam a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1 (APP/PS1) e em *wild type* (WT), dieta acrescida de colesterol padronizada e dieta padrão (controle);
- Avaliar, nos animais APP/PS1 e WT, que receberam a dieta acrescida de colesterol padronizada e a dieta padrão (controle) por dezoito semanas, as variáveis abaixo, comparando-se os valores entre os grupos experimentais:
 - Parâmetros antropométricos/biométricos (massa corporal, índice hepatossomático e índice de adiposidade);
 - Níveis de CT e TG, séricos e hepáticos;
 - Níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), do fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), do fator de crescimento neural (NGF) em amostras de hipocampo;
 - Níveis de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 (IL-1 β , IL-18 e caspase-1) e de outras citocinas inflamatórias classicamente estudadas (IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral – TNF) em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal.

I. 5 MATERIAL E MÉTODOS

I. 5.1 Animais

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), número de protocolo CEUA: 374/2018 (**Anexo I**). Para a padronização da dieta, utilizou-se camundongos da linhagem C57BL/6 provenientes do Biotério Central da UFMG. Já para os demais experimentos, foram utilizados camundongos duplo-transgênicos para DA, APP/PS1 [B6C3-Tg (APP^{swe}, PSEN1^{dE9}) 85Dbo/Mmjax], que superexpressam a proteína precursora amiloide (APP) quimérica humano/camundongo (Mo/HuAPP695^{swe}) e a proteína presenilina 1 (PS1) mutante de humano (PS1-dE9), entre a 7^a e 11^a geração. *Littermates* WT foram utilizados como controle. Esses animais foram obtidos do *The Jackson Laboratory* e reproduzidos no biotério do Departamento de Farmacologia da UFMG. O genótipo foi diferenciado a partir da técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real (RT-qPCR). Todos os animais utilizados foram mantidos sob temperatura ambiente (24°C) e ciclo de 12:12 horas de luz e escuro, com acesso livre à água e alimentação.

I. 5.1.1 Análise de expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR)

A diferenciação dos genótipos foi realizada no Laboratório de Neurobioquímica do Instituto de Ciências Biológicas (ICB)/UFMG. Inicialmente, isolou-se o ácido ribonucleico (RNA) das amostras do hipocampo de animais APP/PS1 ou WT, utilizando-se o reagente TRIzol™, conforme as instruções do fabricante (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA). Em 20 µL de água livre de nuclease, ressuspendeu-se o RNA, cuja concentração foi analisada pelo espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA). Foi feita a preparação dos ácidos desoxirribonucleicos complementares (cDNAs) a partir de 2 µg de RNA total extraído em uma reação final de transcrição reversa de 20 µL, e realizou-se o RT-qPCR pelo *Power SYBR® Green PCR Master Mix*, na plataforma do sistema de PCR em tempo real QuantStudio™ 7 Flex (Applied Biosystems, MA, EUA). Realizou-se todos os ensaios de RT-qPCR para quantificar os níveis de RNA

mensageiro dos seguintes genes: proteína de densidade pós-sináptica (*PSD-95-Dgl4*) e syntaxina (*Mm-Stx1a*). Utilizando o programa Primer3Plus, foi feita a projeção dos *primers*: PSD-95 (5'-TCTGTGCGAGAGGTAGCAGA-3';5'-AAGCACTCCGTGAACTCCTG-3'), syntaxina (5'-GAACAAAGTTTCGCTCCAAGC-3';5'-TGGCGTTGTAICTCGGACAT-3') e rpl32 (5'-GCTGCCATCTGTTTTACGG-3'; 5'TGACTGGTGCCTGATGAACT-3'). Verificou-se previamente a presença de formações secundárias indesejadas ou dímeros entre os primers por meio da ferramenta "OligoAnalyser 3.1" (Integrated DNA Technologies®, IA, EUA). Validou-se todos os *primers* utilizados neste trabalho por ensaio de diluição em série e foi realizado o cálculo da eficiência da reação, compreendendo 90-110%. Todos os RT-qPCRs apresentaram boa qualidade de amplificação e determinou-se as alterações na expressão gênica pelo método $2^{-\Delta Ct}$, utilizando Rpl32 para normalização.

I. 5.2 Dieta

I. 5.2.1 Padronização da dieta acrescida de colesterol em animais C57BL/6, determinação de medidas antropométricas/biométricas e coleta de amostras

A fim de se padronizar a concentração de colesterol a ser utilizada na dieta, camundongos C57BL/6 machos, com oito semanas de idade, foram divididos em três grupos (n = 6). Cada grupo foi submetido, durante dezoito semanas, à dieta padrão AIN-93M, conforme a *American Institute of Nutrition* (Reeves, Nielsen; Fahey Jr, 1993), ou à mesma dieta acrescida de 1,25% ou 2,5% de colesterol, *ad libitum*. As rações, cuja composição nutricional está apresentada na **Tabela 1** foram produzidas no Laboratório de Neurofarmacologia do ICB/UFMG.

Tabela 1. Composição das dietas.

| Dieta padrão (AIN-93M) | | Dieta acrescida com colesterol (AIN-93M modificada) | |
|---------------------------------|---------|--|-----------|
| Quantidade (g) / kg de ração | | Quantidade (g) / kg de ração | |
| Carboidratos – 77,06% | | Carboidratos – 77,06% | |
| Amido de milho | 465,692 | Amido de milho | 465,692 |
| Amido dextrinizado | 155 | Amido dextrinizado | 155 |
| Celulose | 50 | Celulose | 50 |
| Sacarose | 100 | Sacarose | 100 |
| Proteínas – 14,43% | | Proteínas – 14,43% | |
| Bitartarato de colina | 2,5 | Bitartarato de colina | 2,5 |
| Metionina | 1,8 | Metionina | 1,8 |
| Caseína | 140 | Caseína | 140 |
| Gorduras – 4% | | Gorduras – 5,25% / 6,5% | |
| Óleo de soja | 40 | Óleo de soja | 40 |
| | | Colesterol (1,25%) / (2,5%) | 12,5 / 25 |
| Minerais – 3,5% | | Minerais – 3,5% | |
| Mix de minerais | 35 | Mix de minerais | 35 |
| Vitaminas – 1% | | Vitaminas – 1% | |
| Mix de vitaminas | 10 | Mix de vitaminas | 10 |

A medida da massa corporal foi determinada semanalmente e, ao término do período da dieta, submeteu-se os camundongos à indução anestésica com quetamina (80 mg/kg) e xilazina (8 mg/kg) via intraperitoneal. Em seguida, coletou-se amostras de sangue do coração e, enfim, os animais foram perfundidos e eutanasiados para obtenção das amostras de fígado e gordura total (composta pelas gorduras mesentérica, retroperitoneal e epididimal). A partir da medida da massa da gordura total, calculou-se o índice de adiposidade para cada animal (Taylor; Phillips, 1996), conforme a seguinte equação:

$$\text{Índice de adiposidade (\%)} = \text{massa da gordura total (g)} \div \text{massa corporal (g)} \times 100$$

Com base na medida da massa do fígado, por sua vez, calculou-se o índice hepatossomático (Grønnestad *et al.*, 2021), de acordo com a fórmula a seguir:

$$\text{Índice hepatossomático (\%)} = \text{massa do fígado (g)} \div \text{massa corporal (g)} \times 100$$

As amostras de sangue foram centrifugadas a 6500 rpm por 10 minutos para obtenção do soro, o qual foi armazenado a -80°C, assim como o fígado, para serem utilizados para determinação posterior dos níveis de CT e TG, conforme descrito no item I. 5.3.

I. 5.2.2 Administração da dieta em animais APP/PS1 e WT, determinação de medidas antropométricas/biométricas e coleta de amostras

Após a padronização da dieta, cujos resultados estão apresentados no item 6.1, camundongos APP/PS1 e WT, de ambos os sexos e com seis meses de idade, foram submetidos à dieta padrão ou à dieta acrescida com 1,25% de colesterol, por dezoito semanas. Estes animais foram divididos em quatro grupos: WT + dieta padrão, WT + dieta colesterol 1,25%, APP/PS1 + dieta padrão e APP/PS1 + dieta colesterol 1,25% (n = 25 a 40 animais por grupo para machos, e 14 a 30 para fêmeas).

A massa corporal dos animais foi medida semanalmente e, ao final deste período, os animais foram submetidos à anestesia, coleta de sangue do coração, perfusão e eutanásia, conforme detalhado no tópico anterior. Além de fígado e gordura total, também coletou-se amostras de cérebro (córtex e hipocampo), as quais foram armazenadas a -80°C para avaliação de fatores neurotróficos e inflamatórios. O soro, obtido conforme descrito no item 3.2.1, e o fígado também foram armazenados a -80°C para determinação dos níveis de CT e TG. Realizou-se o cálculo dos índices hepatossomático e de adiposidade para todos os animais e, em relação às fêmeas, considerou-se como gordura total o conjunto das gorduras mesentérica, retroperitoneal e periuterina.

I. 5.3 Dosagem de colesterol total e triglicérides

I. 5.3.1 Determinação em amostras de soro

A determinação dos níveis séricos de CT e de TG foi realizada no Laboratório do setor de Patologia Clínica do Colégio Técnico da UFMG, utilizando-se os *kits* diagnósticos Colesterol monoreagente K083-2 e Triglicérides monoreagente K117-1 (Bioclin®, MG, Brasil), respectivamente, cujos princípios analíticos

consistem no método enzimático colorimétrico. As análises foram feitas conforme as instruções do fabricante e realizou-se a leitura das amostras no analisador semiautomático Bioclin 100 - R729 (Bioclin®, MG, Brasil).

I. 5.3.2 Determinação em amostras de fígado

A dosagem dos níveis hepáticos de CT e TG foi realizada no LABIN (Laboratório de Lipídeos, Aterosclerose e Bioquímica Nutricional) do ICB/UFMG. Para isto, primeiramente, realizou-se a extração dos lipídios do fígado conforme o método descrito por Folch *et al.* (1957). De forma resumida, realizou-se o procedimento a seguir: homogeneizou-se 100 mg de tecido hepático, em tubo de vidro, com 1900 µL de solução clorofórmio: metanol (2:1). Adicionou-se 400 µL de metanol e os tubos foram centrifugados a 3000 rpm, por 5 minutos. Transferiu-se o sobrenadante para um tubo previamente pesado, no qual foram adicionados 800 µL de clorofórmio e 640 µL de cloreto de sódio (NaCl) 0,73%, jato forte. Após homogeneização lenta, centrifugou-se os homogenatos durante 5 minutos, a 3000 rpm. Em seguida, desprezou-se a fase superior e a parede do tubo foi lavada 3 vezes com 600 µL de solução de Folch (3% de clorofórmio, 48% de metanol, 47% de água destilada e 2% de NaCl). Por fim, os tubos foram colocados para secar em estufa, a 60 °C. Calculou-se a quantidade de lipídios extraída considerando-se a diferença de peso entre o tubo após secagem (com lipídios) e o tubo vazio.

Suspendeu-se os extratos lipídicos novamente em 500 µL de isopropanol para a determinação do teor de CT e TG, a qual foi realizada utilizando-se *kits* comerciais (Labtest®, MG, Brasil) baseados em método enzimático colorimétrico, seguindo as instruções do fabricante.

I. 5.4 Dosagem de fatores neurotróficos e mediadores inflamatórios

Estas dosagens foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos (LIGP) e no Laboratório de Neurobiologia Conceição Machado, ambos do ICB/UFMG. Primeiramente, realizou-se o processamento das amostras de hipocampo e córtex pré-frontal obtidas dos animais APP/PS1 ou WT, machos e fêmeas, submetidos à dieta padrão ou com acréscimo de colesterol. Para isto,

estas amostras foram homogeneizadas em tampão de extração de citocinas [Tris-ácido clorídrico (HCl) 0,5 M pH 8,0; NaCl 5 M; 1% NP40; glicerol 10%; florido fenilmetilsulfonil (PMSF) 200 mM; pepstatina A 1 μ M; ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) 0,5 M; E-64 1 mM e vanadato de sódio 1 mM diluídos em água destilada] e centrifugadas a 16.000 rpm a 4°C por 20 minutos. Em seguida, para a quantificação dos analitos, procedeu-se ao ensaio de imunoabsorção enzimática (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – ELISA) ou ao ensaio de quantificação por microesferas (*Cytometric Bead Array* – CBA), conforme descrito nos subtópicos I.5.4.1 e I.5.4.2 a seguir.

I. 5.4.1 Quantificação por ensaio imunoenzimático (ELISA)

Para detectar a concentração dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF e NGF e da citocina IL-1 β nas amostras de hipocampo, procedeu-se ao ensaio de ELISA *sandwich*, utilizando kits da R&D Systems (DuoSet, Minneapolis, MN, EUA). Já para a dosagem de IL-18 e caspase-1, os quais foram determinados tanto em amostras de hipocampo, quanto de córtex pré-frontal, utilizou-se os kits comerciais *Mouse IL-18* (MyBioSource, San Diego, CA, EUA) e *Mouse Caspase-1 (CASP1)* (MyBioSource, San Diego, CA, EUA), respectivamente. Em todos os ensaios, a quantificação foi realizada com base em curva padrão, conforme as instruções de cada fabricante. Os dados foram expressos em pg/mL em 100 mg de tecido.

I.5.4.2 Quantificação por microesferas - *Cytometric Bead Array* (CBA)

Os níveis das citocinas IL-6, IL-10 e TNF, presentes nas amostras de hipocampo e córtex pré-frontal dos animais, foram determinados utilizando o kit *BD Cytometric Bead Array (CBA) Mouse Th1/Th2/Th17 Cytokine* (BD Bioscience, San Diego, CA, EUA). Esse ensaio utiliza microesferas (“*beads*”) de captura para detecção das citocinas nas amostras analisadas. Os procedimentos foram realizados conforme as instruções do fabricante. A aquisição das amostras foi realizada no citômetro BD FACS Calibur e o processamento dos dados, no *software* FlowJo (Tree Star, Ashlan, OR).

I. 5.5 Análises estatísticas

Nos animais C57BL/6, utilizados para a padronização da dieta, realizou-se a análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas para avaliar o efeito das variáveis dieta e tempo sobre a massa corporal. Para as demais análises, realizou-se o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, e comparações entre os grupos foram feitas por ANOVA de uma via com pós-teste de *Bonferroni* (distribuição normal), ou pelo teste de *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn* (distribuição não normal). Já nos animais APP/PS1 e WT, para avaliação do efeito das variáveis dieta, genótipo e tempo sobre a massa corporal, utilizou-se um modelo linear de efeitos mistos ajustado por máxima verossimilhança restrita. Nas demais situações em que avaliou-se o efeito da dieta e do genótipo sobre as variáveis independentes, utilizou-se ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. Todos os testes estatísticos foram bicaudais, e considerou-se estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$. As análises foram feitas utilizando-se o software GraphPad Prism® versão 6.07 (*GraphPad Software*, La Jolla, CA, EUA).

I. 6 RESULTADOS

I. 6.1 Padronização da dieta

Durante as dezoito semanas em que os animais C57BL/6 foram submetidos às dietas padrão ou com acréscimo de colesterol, observou-se aumento de massa corporal em todos os grupos, com efeito da variável tempo [F (3,261, 48,92) = 21,26, $p < 0,001$] e da interação entre as variáveis tempo e dieta administrada [F (34, 255) = 2,464, $p < 0,001$]. Entretanto, não houve efeito da variável dieta, de forma isolada [F (2, 15) = 3,351, $p = 0,063$], indicando que, entre os grupos que receberam as diferentes dietas, não houve diferença em relação à massa corporal no decorrer das semanas (**Figura 4**).

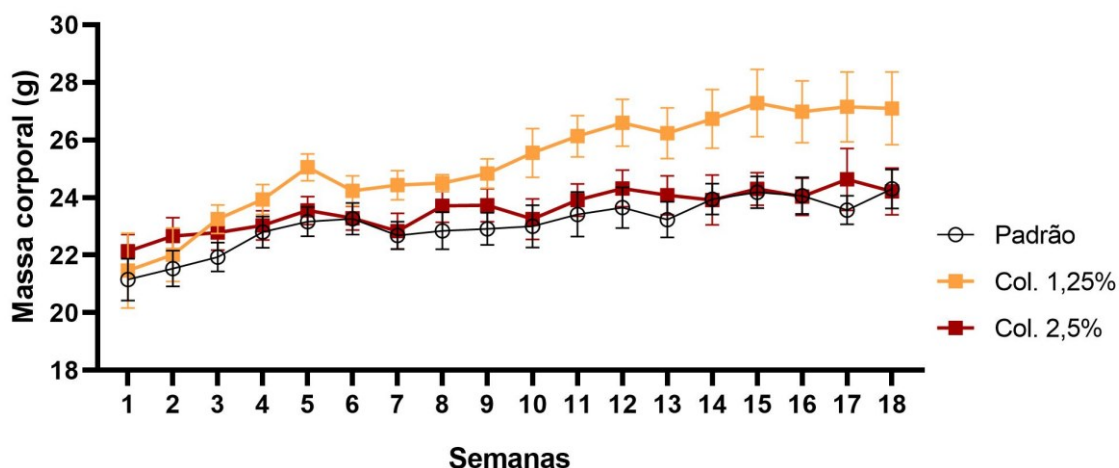


Figura 4. Avaliação da massa corporal dos camundongos C57BL/6 machos utilizados para a padronização da dieta durante dezoito semanas, por ANOVA de duas vias com medidas repetidas.

Em relação à massa corporal final, observou-se diferença significativa [F = 3,91, $p = 0,043$, **Figura 5A**], porém, após a realização dos testes *a posteriori*, esta não foi diferente entre os grupos. O índice hepatossomático [F = 2,5, $p = 0,116$, **Figura 5B**] e o índice de adiposidade [F = 2,375, $p = 0,127$, **Figura 5C**] também não diferiram entre os grupos avaliados.

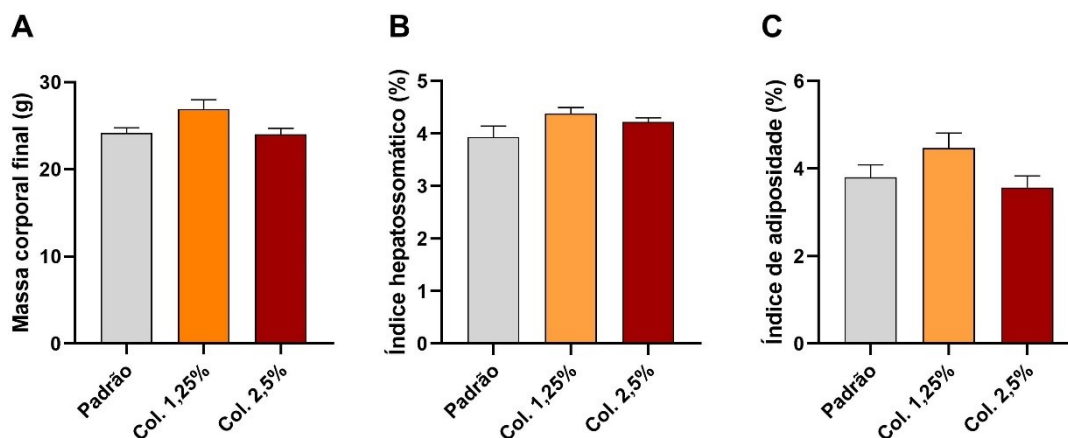


Figura 5. Avaliação da massa corporal final (A), do índice hepatossomático (B) e do índice de adiposidade (C) nos camundongos C57BL/6 machos utilizados para a padronização da dieta (n = 6 animais por grupo). Comparações entre os grupos foram feitas por ANOVA de uma via, com pós-teste de *Bonferroni*.

No que se refere à dosagem de lipídios, os animais que receberam a dieta com acréscimo de 1,25% de colesterol apresentaram níveis mais elevados de CT séricos, quando comparados aos das dietas padrão e colesterol 2,5% [F = 13,34, $p < 0,001$, **Figura 6A**]. Já para os níveis de TG no soro, não houve diferença entre os grupos [F = 1,828, $p = 0,030$, **Figura 6B**]. Adicionalmente, observou-se níveis elevados de CT [F = 19,06, $p < 0,001$, **Figura 6C**] e de TG [F = 8,646, $p = 0,003$, **Figura 6D**] no fígado dos animais que receberam ambas as dietas com adição de colesterol, em comparação àqueles da dieta padrão.

Como o objetivo desta fase era padronizar uma dieta com acréscimo de colesterol que fosse capaz de promover hipercolesterolemia, em comparação à padrão, a dieta com acréscimo de 1,25% de colesterol foi escolhida para a realização dos experimentos com os animais transgênicos, cujos resultados serão apresentados nos tópicos a seguir.

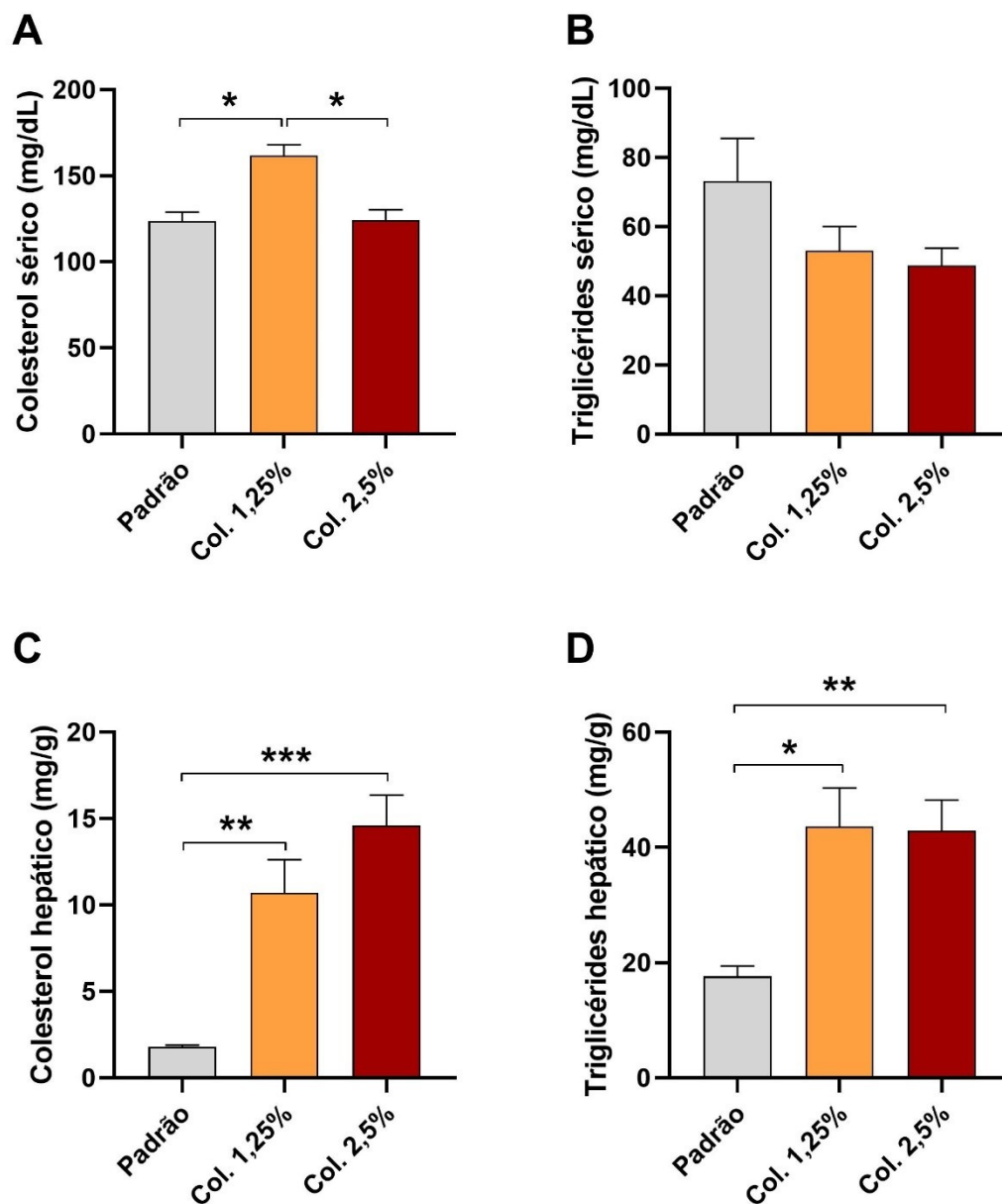


Figura 6. Avaliação dos níveis séricos e hepáticos de colesterol total (A e C) e de triglicérides (B e D, respectivamente) em camundongos C57BL/6 machos utilizados para a padronização da dieta (n = 6 animais por grupo). Comparações entre os grupos foram feitas por ANOVA de uma via, com pós-teste de *Bonferroni*. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

I. 6.2 Avaliação dos efeitos da dieta com acréscimo de colesterol em animais transgênicos para doença de Alzheimer

I. 6.2.1 Análise das medidas antropométricas

Na **Tabela 2** estão apresentados os resultados da avaliação do efeito das variáveis: tempo, genótipo e dieta sobre a massa corporal dos camundongos APP/PS1 ou WT, durante as dezoito semanas de experimento. Observou-se que o tempo levou ao aumento de massa tanto nas fêmeas (**Figura 7A**), quanto nos machos (**Figura 7B**). Além disso, a dieta exerceu influência sobre o tempo para este desfecho em ambos os sexos, embora, isoladamente, não tenha se associado à elevação da massa corporal. Nas fêmeas, observou-se também efeito do genótipo, ou seja, o fato do animal ser transgênico contribuiu para o ganho ponderal.

Tabela 2. Avaliação do efeito das variáveis tempo, genótipo e dieta sobre a massa corporal dos camundongos APP/PS1 ou WT, fêmeas e machos, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% durante dezoito semanas.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|--------------------------|---------------------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|
| | F (gl num, gl den) | <i>p</i> | F (gl num, gl den) | <i>p</i> |
| Tempo (semanas) | F (1,556, 91,21) = 113,4 | < 0,001 | F (1,288, 113,8) = 190,1 | < 0,001 |
| Genótipo | F (1, 65) = 7,024 | 0,010 | F (1, 93) = 0,670 | 0,438 |
| Dieta | F (1, 65) = 0,550 | 0,461 | F (1, 93) = 2,438 | 0,122 |
| Tempo × genótipo | F (18, 1055) = 0,587 | 0,911 | F (18, 1590) = 1,008 | 0,446 |
| Tempo × dieta | F (18, 1055) = 1,863 | 0,012 | F (18, 1590) = 3,700 | < 0,001 |
| Genótipo × dieta | F (1, 65) = 0,415 | 0,523 | F (1, 93) = 0,012 | 0,914 |
| Tempo × genótipo × dieta | F (18, 1055) = 1,063 | 0,386 | F (18, 1590) = 0,340 | 0,996 |

Modelo linear de efeitos mistos ajustado por máxima verossimilhança restrita. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. gl = grau de liberdade, num = numerador, den = denominador.

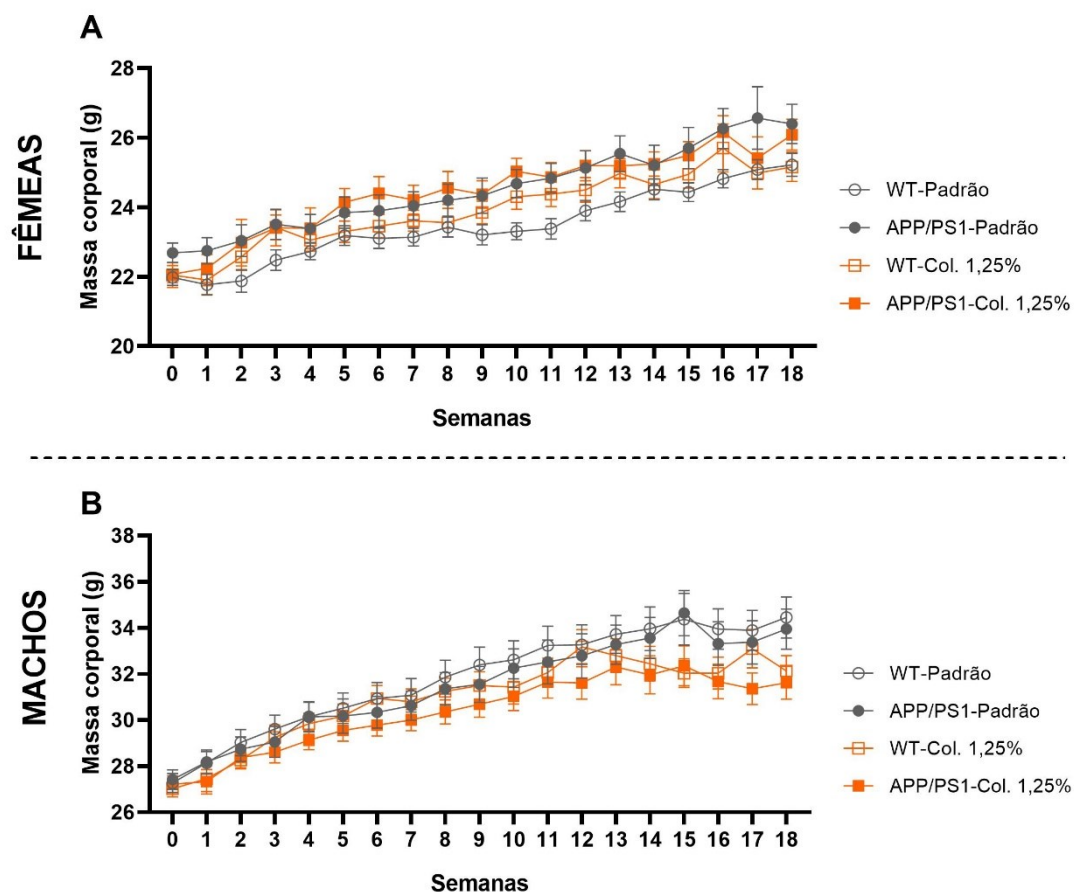


Figura 7. Variação da massa corporal dos camundongos APP/PS1 ou WT, fêmeas (A) e machos (B), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%, durante dezoito semanas. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; WT = *wild-type*.

Os resultados da avaliação do efeito do genótipo e da dieta sobre massa corporal final, índice hepatossômico e índice de adiposidade estão apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre massa corporal final, índice hepatossomático e índice de adiposidade nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|------------------------------|---------------------------|-------------------|--------------------------------------|-------------------|
| | F (gl num, gl den) | <i>p</i> | F (gl num, gl den) | <i>p</i> |
| Massa corporal final | | | | |
| Genótipo | F (1, 64) = 5,804 | 0,019 | F (1, 93) = 0,405 | 0,526 |
| Dieta | F (1, 64) = 0,176 | 0,676 | F (1, 93) = 8,391 | 0,005 |
| Genótipo × dieta | F (1, 64) = 0,080 | 0,778 | F (1, 93) = 5,094 × 10 ⁻⁵ | 0,994 |
| Índice | | | | |
| hepatossomático | | | | |
| Genótipo | F (1, 54) = 0,007 | 0,934 | F (1, 66) = 0,059 | 0,808 |
| Dieta | F (1, 54) = 30,630 | < 0,001 | F (1, 66) = 79,740 | < 0,001 |
| Genótipo × dieta | F (1, 54) = 0,692 | 0,409 | F (1, 66) = 0,434 | 0,512 |
| Índice de adiposidade | | | | |
| Genótipo | F (1, 54) = 0,661 | 0,420 | F (1, 66) = 2,520 | 0,117 |
| Dieta | F (1, 54) = 0,001 | 0,971 | F (1, 66) = 11,380 | 0,001 |
| Genótipo × dieta | F (1, 54) = 3,895 | 0,054 | F (1, 66) = 2,899 × 10 ⁻⁴ | 0,987 |

ANOVA de duas vias. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. gl = grau de liberdade, num = numerador, den = denominador.

Em relação à massa corporal final (na 18^a semana), apesar de ter sido observado efeito do genótipo nas fêmeas [F (1, 64) = 5,804, $p = 0,019$], no pós-teste não encontrou-se diferença significativa entre os grupos experimentais (**Figura 8A e D**). Nos machos, a massa corporal final também não foi diferente. O índice hepatossomático, por sua vez, teve efeito da dieta e foi maior nos camundongos que receberam a suplementação com colesterol comparando-se à dieta padrão, tanto nas fêmeas [F (1, 54) = 30,63, $p < 0,001$, **Figura 8B**], quanto nos machos [F (1, 66) = 79,74, $p < 0,001$, **Figura 8E**]. Já o índice de adiposidade não foi significativamente diferente entre as fêmeas (**Figura 8C**), mas sofreu efeito da dieta nos machos, tendo sido maior naqueles que receberam a dieta padrão, comparando-se aos da dieta com colesterol [F (1, 66) = 11,38, $p = 0,001$, **Figura 8F**].

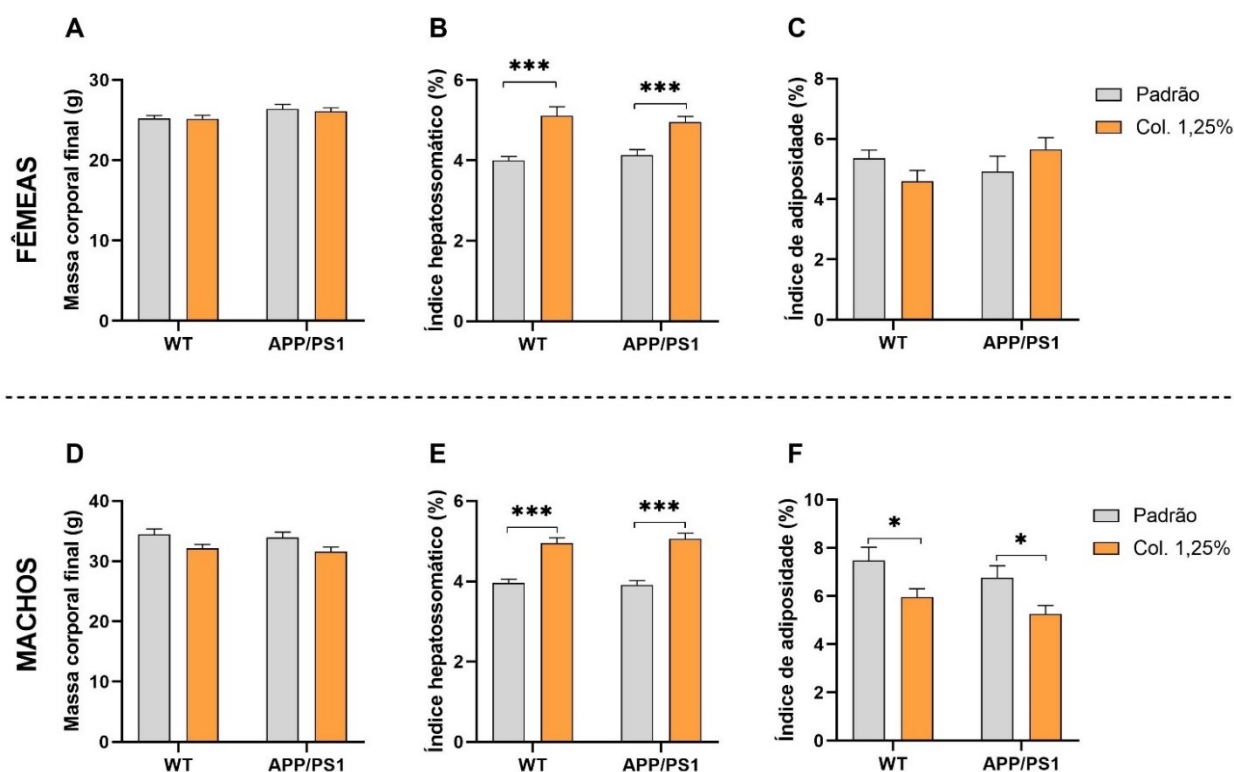


Figura 8. Avaliação de massa corporal final (A, D), índice hepatossomático (B, E) e índice de adiposidade (C, F) em camundongos APP/PS1 ou WT, fêmeas e machos, respectivamente, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 14 a 28 para fêmeas e 25 a 35 por grupo para machos). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ para dieta padrão × dieta colesterol 1,25%. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; WT = *wild-type*.

I. 6.2.2 Avaliação dos níveis de colesterol total e triglicérides

As dosagens de CT e TG foram realizadas em amostras de soro e tecido hepático, em animais de ambos os sexos. Entretanto, devido a questões experimentais (número amostral de fêmeas disponível insuficiente), obteve-se somente os resultados das dosagens séricas nos camundongos machos. Na **Tabela 4** estão apresentados os resultados das análises estatísticas realizadas para avaliar o efeito do genótipo e dieta sobre o CT e TG séricos nestes animais, os quais não foram diferentes entre os grupos experimentais (**Figura 9A e B**).

Tabela 4. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre os níveis de CT e TG séricos nos animais APP/PS1 e WT, machos, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Machos | |
|--------------------------------|--------------------|-------|
| | F (gl num, gl den) | p |
| Colesterol total sérico | | |
| Genótipo | F (1, 43) = 0,187 | 0,668 |
| Dieta | F (1, 43) = 3,012 | 0,090 |
| Genótipo × dieta | F (1, 43) = 1,411 | 0,241 |
| Triglicérides sérico | | |
| Genótipo | F (1, 42) = 0,177 | 0,676 |
| Dieta | F (1, 42) = 1,846 | 0,182 |
| Genótipo × dieta | F (1, 42) = 2,296 | 0,137 |

ANOVA de duas vias. gl = grau de liberdade, num = numerador, den = denominador.

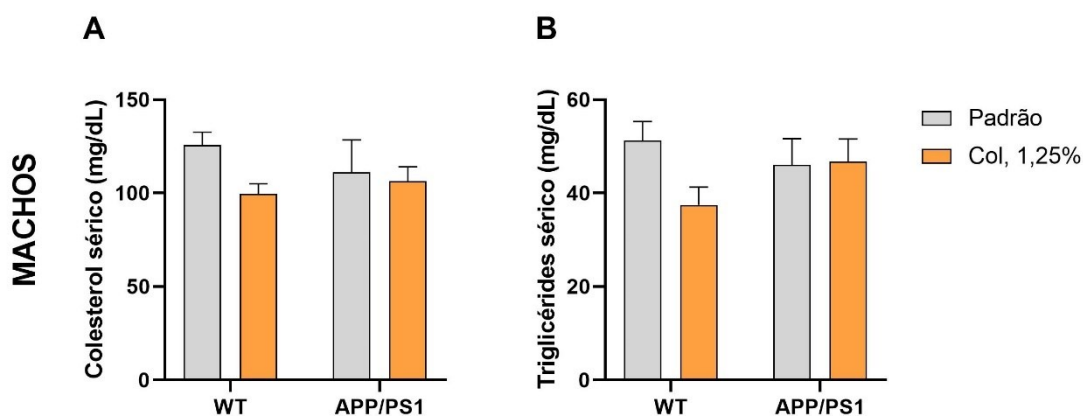


Figura 9. Avaliação dos níveis séricos de colesterol total (A) e de triglicérides (B) em camundongos WT ou APP/PS1, machos, submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 16 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; WT = *wild-type*.

Em relação à dosagem destes lipídios no tecido hepático, os resultados das análises estatísticas realizadas para avaliar o efeito das variáveis estão dispostos na **Tabela 5**.

Tabela 5. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre os níveis de CT e TG hepáticos nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|----------------------------------|--------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| | F (gl num, gl den) | <i>p</i> | F (gl num, gl den) | <i>p</i> |
| Colesterol total hepático | | | | |
| Genótipo | F (1, 20) = 3,230 | 0,087 | F (1, 19) = 1,096 | 0,308 |
| Dieta | F (1, 20) = 105,0 | < 0,001 | F (1, 19) = 55,260 | < 0,001 |
| Genótipo × dieta | F (1, 20) = 1,093 | 0,308 | F (1, 19) = 0,676 | 0,421 |
| Triglicérides hepático | | | | |
| Genótipo | F (1, 20) = 9,722 | 0,005 | F (1, 20) = 7,320 | 0,014 |
| Dieta | F (1, 20) = 68,03 | < 0,001 | F (1, 20) = 2,406 | 0,137 |
| Genótipo × dieta | F (1, 20) = 0,478 | 0,497 | F (1, 20) = 0,841 | 0,370 |

ANOVA de duas vias. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. gl = grau de liberdade, num = numerador, den = denominador.

Os camundongos que receberam a dieta com incremento de colesterol apresentaram níveis mais elevados de CT hepático, comparando-se aos da dieta padrão. Observou-se efeito da dieta sobre este parâmetro, tanto em fêmeas [F (1, 20) = 105, $p < 0,001$, **Figura 10A**], quanto em machos [F (1, 19) = 55,26, $p < 0,001$, **Figura 10C**].

Já os níveis de TG hepáticos sofreram influência da dieta [F (1, 20) = 68,03, $p < 0,001$] e do genótipo [F (1, 20) = 9,722, $p = 0,005$] nas fêmeas. Além de terem sido mais elevados nos animais que receberam a dieta com colesterol, comparando-se à padrão, para ambos os genótipos, dentre aqueles que receberam a dieta com colesterol, os níveis deste lipídeo no fígado foram maiores nos animais WT em comparação aos APP/PS1 (**Figura 10B**). Nos camundongos machos, por sua vez, observou-se efeito somente do genótipo sobre os níveis de TG hepáticos [F (1, 20) = 7,320, $p = 0,013$], os quais também foram maiores nos animais WT em comparação aos APP/PS1, dentre aqueles que receberam a dieta com incremento de colesterol (**Figura 10D**).

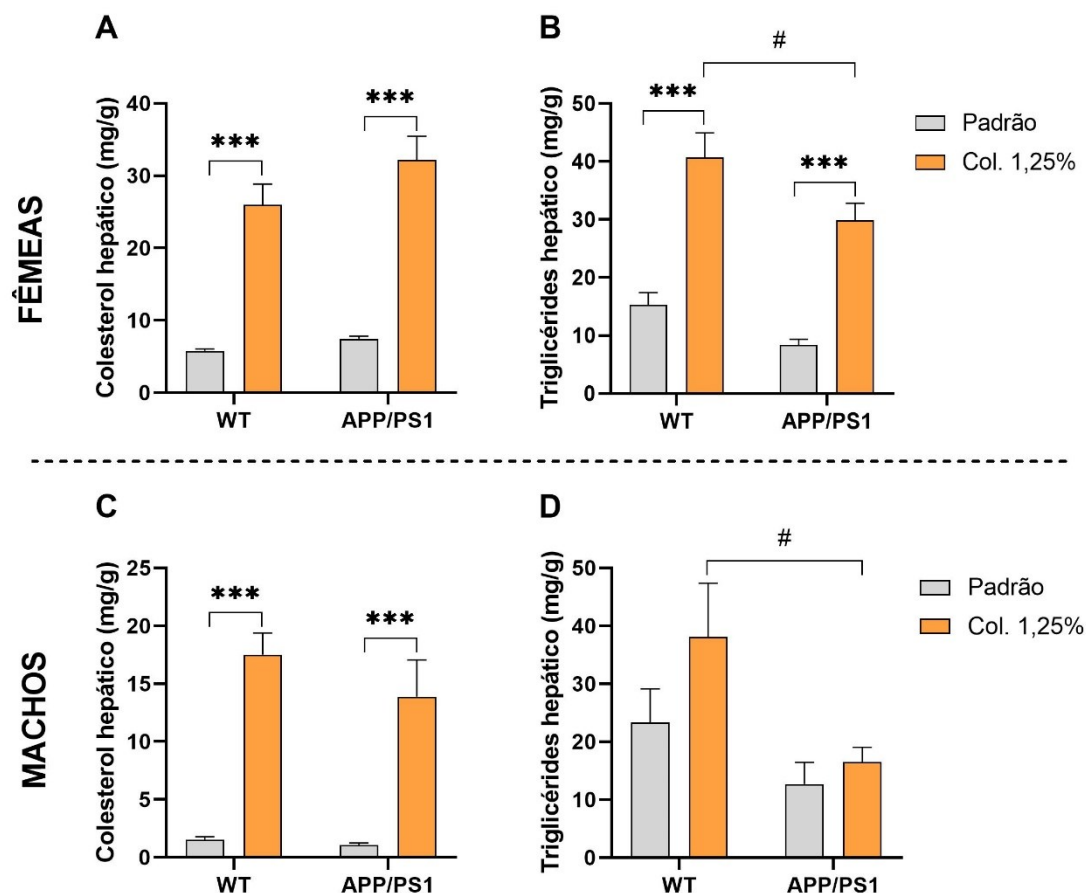


Figura 10. Avaliação dos níveis hepáticos de colesterol total e de triglicérides em camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A e B) e machos (C e D), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 16 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. *** $p < 0,001$ para dieta padrão \times dieta colesterol 1,25%; # $p < 0,05$ para WT \times APP/PS1. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; WT = *wild-type*.

I. 6.2.3 Avaliação de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal

Na **Tabela 6** estão apresentados os resultados das análises estatísticas realizadas para avaliar o efeito do genótipo e da dieta sobre os níveis dos mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3: IL- 1β , IL-18 e caspase-1, dosados em amostras de hipocampo.

Tabela 6. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL1- β , IL-18 e caspase-1 hipocampais nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|---|--------------------|-------|---------------------------|--------------|
| | F (gl num, gl den) | p | F (gl num, gl den) | p |
| IL1-β (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 22) = 0,271 | 0,608 | F (1, 24) = 0,246 | 0,624 |
| Dieta | F (1, 22) = 0,081 | 0,778 | F (1, 24) = 2,721 | 0,112 |
| Genótipo \times dieta | F (1, 22) = 1,424 | 0,246 | F (1, 24) = 0,849 | 0,366 |
| IL-18 (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 12) = 1,462 | 0,250 | F (1, 20) = 0,012 | 0,912 |
| Dieta | F (1, 12) = 0,015 | 0,905 | F (1, 20) = 14,730 | 0,001 |
| Genótipo \times dieta | F (1, 12) = 0,030 | 0,866 | F (1, 20) = 0,002 | 0,966 |
| Caspase-1 (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 14) = 0,077 | 0,785 | F (1, 21) = 0,292 | 0,595 |
| Dieta | F (1, 14) = 0,736 | 0,406 | F (1, 21) = 2,697 | 0,115 |
| Genótipo \times dieta | F (1, 14) = 0,358 | 0,559 | F (1, 21) = 0,155 | 0,698 |

ANOVA de duas vias. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL = interleucina; gl = grau de liberdade, num = numerador, den = denominador.

Para estes analitos, houve diferença significativa apenas em relação à concentração de IL-18 nos machos, a qual teve efeito da dieta [F (1, 20) = 14,73, $p = 0,001$]. Observou-se, em ambos os animais WT e APP/PS1 que receberam a dieta com adição de colesterol, que os níveis deste mediador inflamatório foram mais elevados, em comparação aos que foram submetidos à dieta padrão (**Figura 11E**).

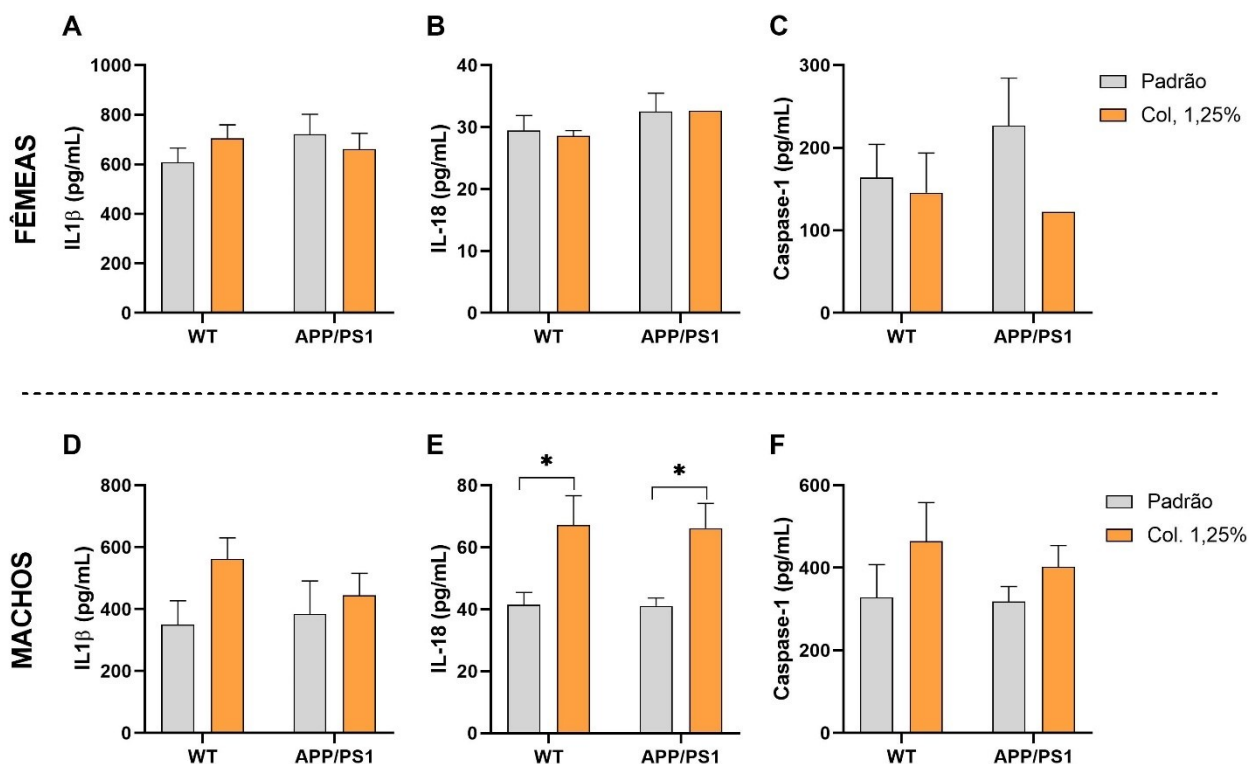


Figura 11. Avaliação das concentrações de IL-1 β , IL-18 e caspase-1 em amostras de hipocampo de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. * $p < 0,05$ para dieta padrão \times dieta colesterol 1,25%. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; IL= interleucina; WT = *wild-type*.

Em amostras de córtex pré-frontal, por outro lado, não foi obtida a dosagem de IL-1 β , devido a questões experimentais. Para os mediadores inflamatórios que foram, portanto, dosados nestas amostras (IL-18 e caspase-1), não observou-se diferença significativa entre os grupos experimentais, em ambos os sexos (Tabela 7, Figura 12).

Tabela 7. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL-18 e caspase-1 em amostras de córtex pré-frontal dos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|---------------------------------------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| | F (gl num, gl den) | p | F (gl num, gl den) | p |
| IL-18 (córtex pré-frontal) | | | | |
| Genótipo | F (1, 14) = 0,036 | 0,853 | F (1, 15) = 0,346 | 0,565 |
| Dieta | F (1, 14) = 1,183 | 0,295 | F (1, 15) = 0,018 | 0,896 |
| Genótipo × dieta | F (1, 14) = 0,426 | 0,525 | F (1, 15) = 0,737 | 0,404 |
| Caspase-1 (córtex pré-frontal) | | | | |
| Genótipo | F (1, 13) = 2,632 | 0,129 | F (1, 15) = 0,036 | 0,852 |
| Dieta | F (1, 13) = 0,094 | 0,764 | F (1, 15) = 0,089 | 0,770 |
| Genótipo × dieta | F (1, 13) = 0,517 | 0,485 | F (1, 15) = 0,005 | 0,945 |

ANOVA de duas vias. IL = interleucina; gl = grau de liberdade; num = numerador; den = denominador.

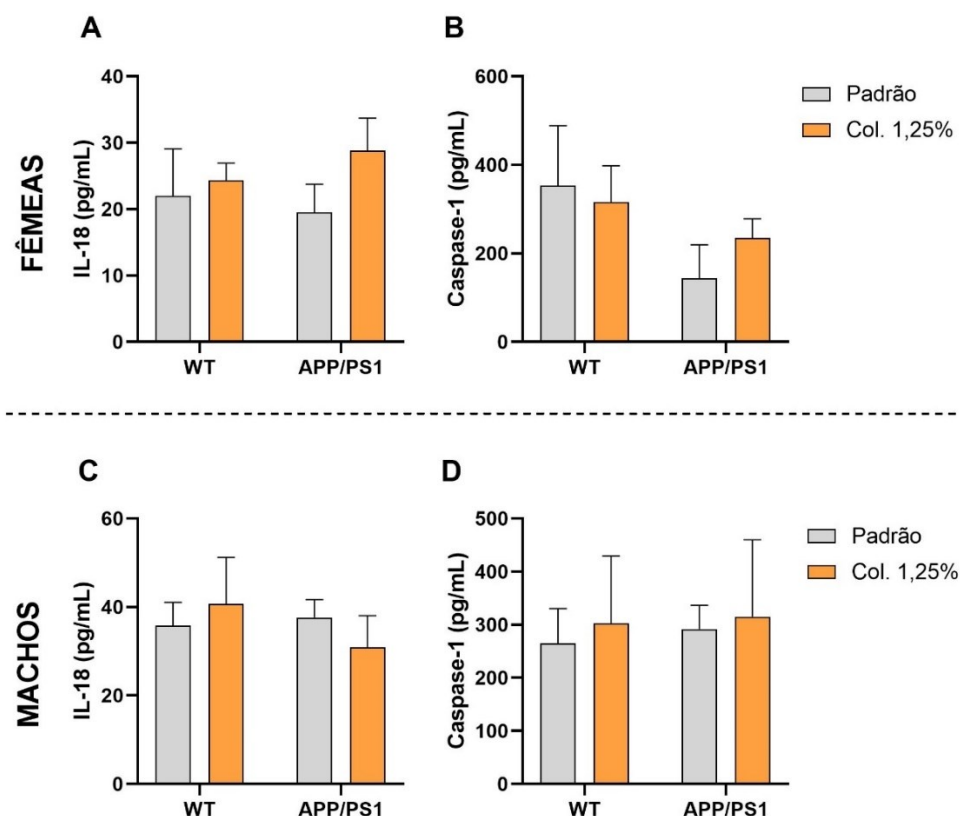


Figura 12. Avaliação das concentrações de IL-18 e caspase-1 em amostras de córtex pré-frontal de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A e B) e machos (C e D), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; IL= interleucina; WT = *wild-type*.

I. 6.2.4 Avaliação de outras citocinas inflamatórias em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal

Os resultados da avaliação do efeito do genótipo e da dieta sobre a concentração das citocinas IL-6, IL-10 e TNF, determinadas em amostras de hipocampo, estão dispostos na **Tabela 8**.

Tabela 8. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL-6, IL-10 e TNF hipocampais nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|--------------------------|--------------------|----------|--------------------------|--------------|
| | F (gl num, gl den) | <i>p</i> | F (gl num, gl den) | <i>p</i> |
| IL-6 (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 20) = 0,009 | 0,925 | F (1, 17) = 1,656 | 0,215 |
| Dieta | F (1, 20) = 0,124 | 0,729 | F (1, 17) = 1,403 | 0,253 |
| Genótipo × dieta | F (1, 20) = 0,467 | 0,502 | F (1, 17) = 2,160 | 0,159 |
| IL-10 (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 22) = 1,456 | 0,240 | F (1, 16) = 0,924 | 0,351 |
| Dieta | F (1, 22) = 0,314 | 0,581 | F (1, 16) = 3,159 | 0,095 |
| Genótipo × dieta | F (1, 22) = 0,080 | 0,780 | F (1, 16) = 0,620 | 0,443 |
| TNF (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 22) = 0,160 | 0,693 | F (1, 17) = 1,764 | 0,202 |
| Dieta | F (1, 22) = 0,020 | 0,889 | F (1, 17) = 0,085 | 0,775 |
| Genótipo × dieta | F (1, 22) = 1,417 | 0,247 | F (1, 17) = 5,070 | 0,038 |

ANOVA de duas vias. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; gl = grau de liberdade; num = numerador; den = denominador.

Para estes analitos, houve diferença significativa somente em relação ao TNF em machos, no qual observou-se efeito da interação entre as variáveis dieta e genótipo [$F (1, 17) = 5,070, p = 0,038$]. Neste caso, dentre os animais que receberam a dieta padrão, a concentração deste mediador inflamatório foi maior no grupo WT, em comparação ao APP/PS1 (**Figura 13F**).

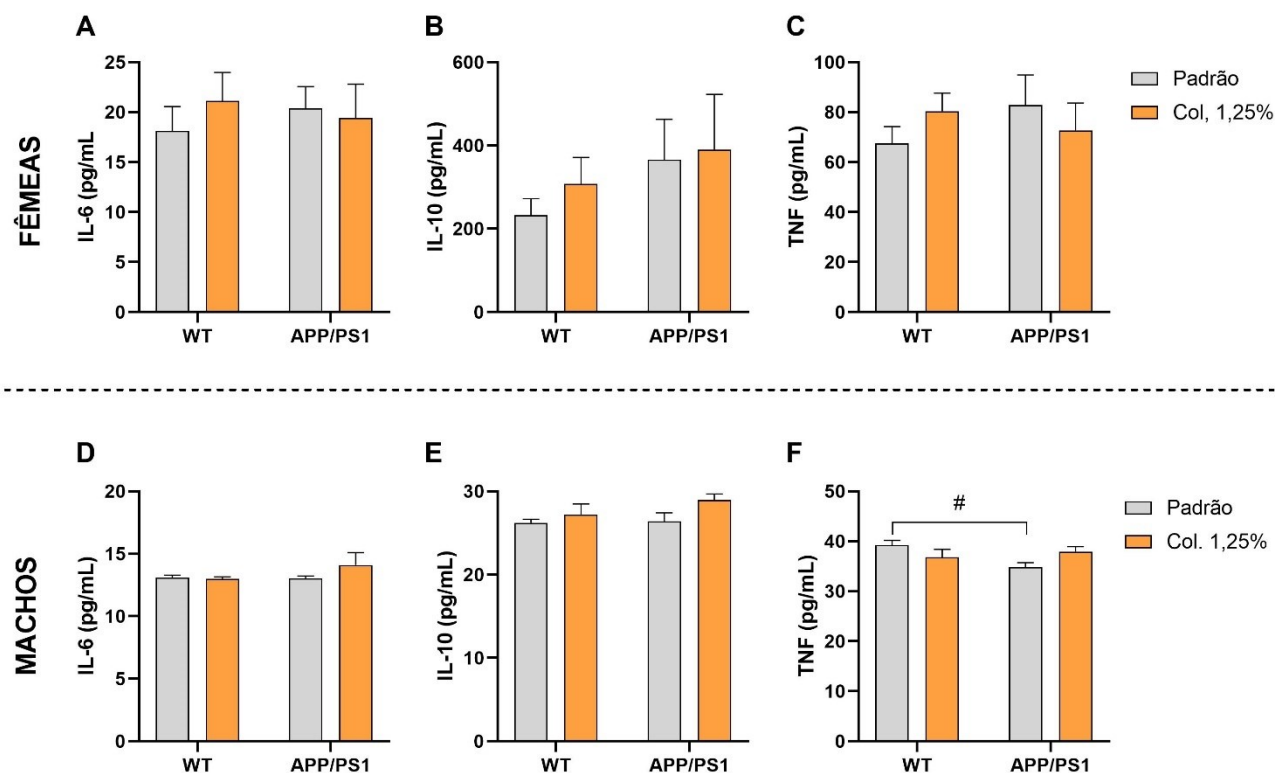


Figura 13. Avaliação das concentrações de IL-6, IL-10 e TNF em amostras de hipocampo de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. #*p* < 0,05 para WT × APP/PS1. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; IL= interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; WT = *wild-type*.

No que concerne à dosagem destas mesmas citocinas em amostras de córtex pré-frontal, por sua vez, não observou-se diferença significativa entre os grupos experimentais, em ambos os sexos (**Tabela 9, Figura 14**).

Tabela 9. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre a concentração de IL-6, IL-10 e TNF em amostras de córtex pré-frontal dos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|-----------------------------------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| | F (gl num, gl den) | p | F (gl num, gl den) | p |
| IL-6 (córtex pré-frontal) | | | | |
| Genótipo | F (1, 20) = 0,090 | 0,768 | F (1, 17) = 0,323 | 0,578 |
| Dieta | F (1, 20) = 1,201 | 0,286 | F (1, 17) = 3,951 | 0,063 |
| Genótipo × dieta | F (1, 20) = 0,115 | 0,738 | F (1, 17) = 0,818 | 0,379 |
| IL-10 (córtex pré-frontal) | | | | |
| Genótipo | F (1, 20) = 0,827 | 0,374 | F (1, 17) = 0,925 | 0,350 |
| Dieta | F (1, 20) = 3,184 | 0,090 | F (1, 17) = 0,903 | 0,355 |
| Genótipo × dieta | F (1, 20) = 0,042 | 0,839 | F (1, 17) = 0,284 | 0,601 |
| TNF (córtex pré-frontal) | | | | |
| Genótipo | F (1, 20) = 0,033 | 0,858 | F (1, 17) = 2,446 | 0,136 |
| Dieta | F (1, 20) = 2,707 | 0,116 | F (1, 17) = 1,127 | 0,303 |
| Genótipo × dieta | F (1, 20) = 0,311 | 0,583 | F (1, 17) = 0,144 | 0,709 |

ANOVA de duas vias. IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; gl = grau de liberdade; num = numerador; den = denominador.

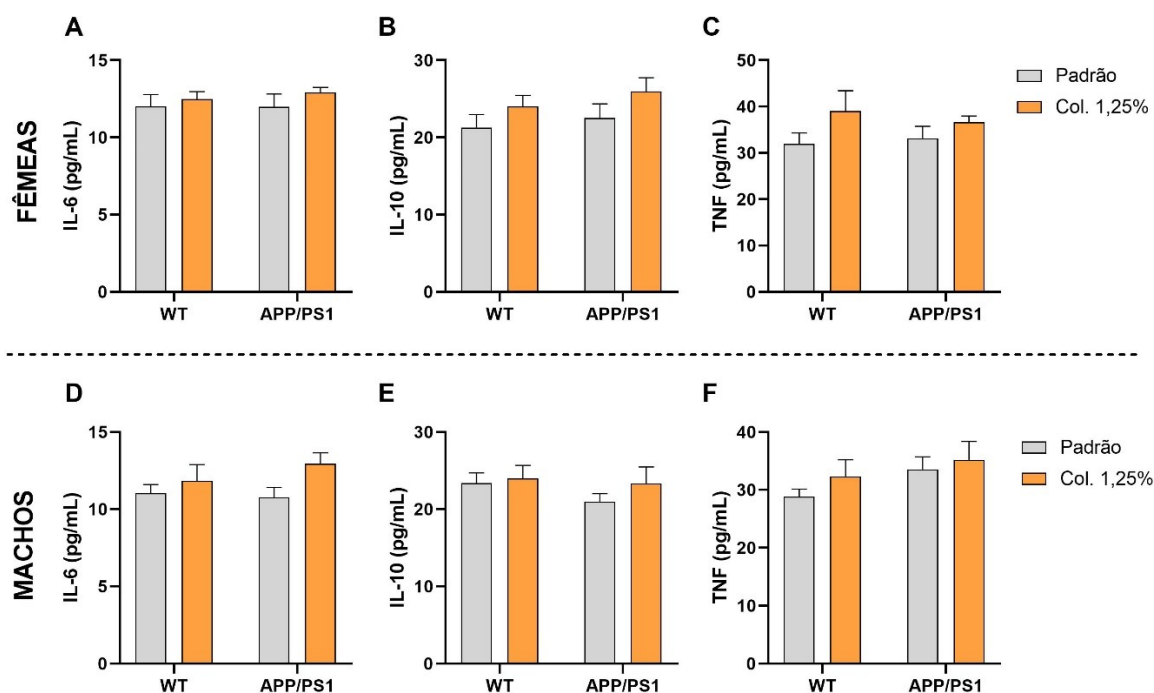


Figura 14. Avaliação das concentrações de IL-6, IL-10 e TNF em amostras de córtex pré-frontal de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de *Bonferroni*. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; IL= interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; WT = *wild-type*.

I. 6.2.5 Avaliação de fatores neurotróficos em amostras de hipocampo

Os resultados da avaliação do efeito do genótipo e da dieta sobre os níveis dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF e NGF dosados em amostras de hipocampo estão apresentados na **Tabela 10**.

Tabela 10. Avaliação do efeito das variáveis genótipo e dieta sobre os níveis dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF e NGF hipocampais nos animais APP/PS1 ou WT submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25%.

| Variáveis | Fêmeas | | Machos | |
|-------------------------|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|
| | F (gl num, gl den) | <i>p</i> | F (gl num, gl den) | <i>p</i> |
| BDNF (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 22) = 8,176 | 0,009 | F (1, 24) = 1,262 | 0,272 |
| Dieta | F (1, 22) = 1,291 | 0,268 | F (1, 24) = 1,753 | 0,198 |
| Genótipo × dieta | F (1, 22) = 0,0480 | 0,829 | F (1, 24) = 0,016 | 0,900 |
| GDNF (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 21) = 0,398 | 0,535 | F (1, 24) = 0,343 | 0,564 |
| Dieta | F (1, 21) = 2,004 | 0,172 | F (1, 24) = 6,490 | 0,018 |
| Genótipo × dieta | F (1, 21) = 0,395 | 0,536 | F (1, 24) = 0,300 | 0,589 |
| NGF (hipocampo) | | | | |
| Genótipo | F (1, 22) = 5,880 | 0,024 | F (1, 23) = 0,102 | 0,753 |
| Dieta | F (1, 22) = 0,096 | 0,759 | F (1, 23) = 3,172 | 0,088 |
| Genótipo × dieta | F (1, 22) = 0,256 | 0,618 | F (1, 23) = 2,053 | 0,165 |

ANOVA de duas vias. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. BDNF = fator neurotrófico derivado do cérebro; GDNF = fator neurotrófico derivado da glia; NGF = fator de crescimento neural; gl = grau de liberdade, num = numerador, den = denominador.

Houve diferença significativa em relação ao nível de BDNF nas fêmeas, em que observou-se efeito do genótipo [$F (1, 22) = 8,176, p = 0,009$]. Neste caso, os níveis deste fator neurotrófico estavam mais elevados nos animais APP/PS1 que receberam a dieta padrão, comparando-se com os WT que receberam a dieta com colesterol (**Figura 15A**). Embora tenha sido observado efeito da dieta em relação aos níveis de GDNF em machos [$F (1, 24) = 6,490, p = 0,018$], e do genótipo sobre a concentração de NGF em fêmeas [$F (1, 22) = 5,880, p = 0,024$], nos testes *a posteriori* não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais.

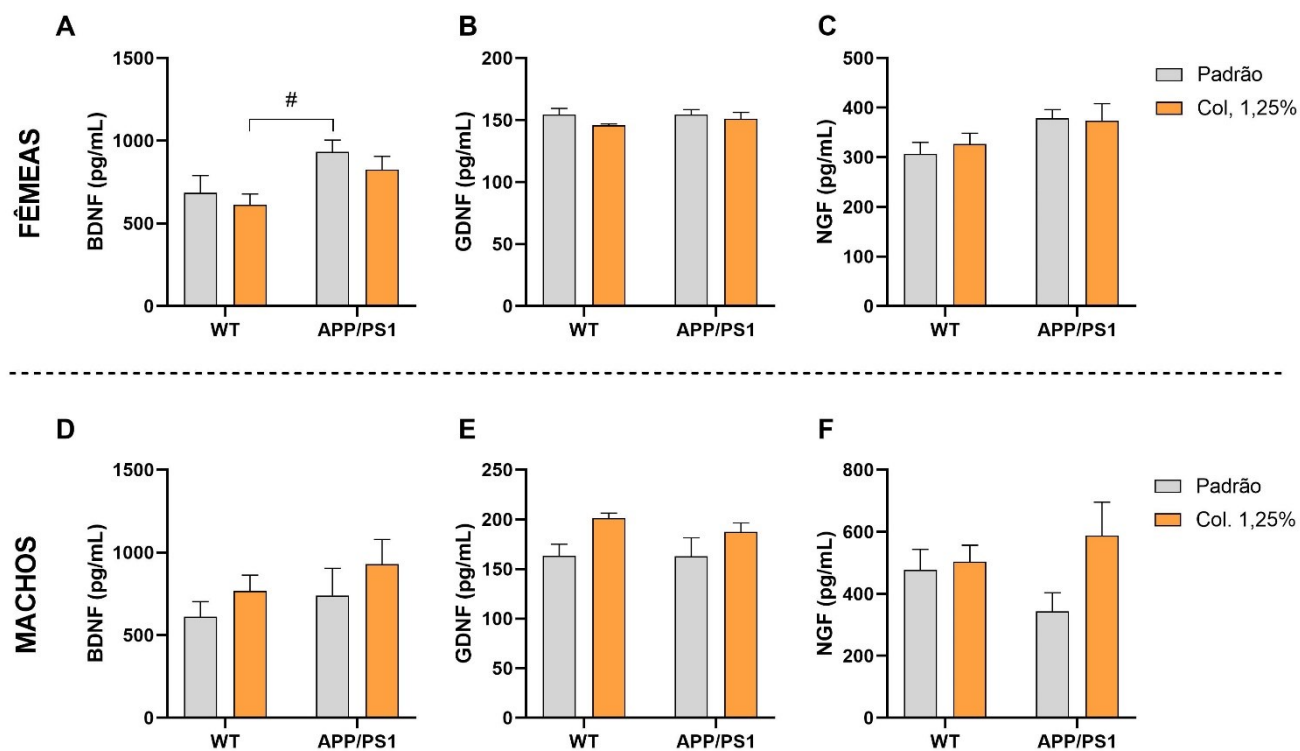


Figura 15. Avaliação das concentrações dos fatores neurotróficos BDNF, GDNF e NGF em amostras de hipocampo de camundongos WT ou APP/PS1, fêmeas (A, B e C) e machos (D, E e F), submetidos às dietas padrão ou colesterol 1,25% (n = 6 a 7 animais por grupo). O efeito das variáveis foi analisado por ANOVA de duas vias, com pós-teste de Bonferroni. #p < 0,05 para WT × APP/PS1. APP/PS1 = duplo-transgênico que superexpressa a proteína precursora amiloide e a proteína presenilina-1; BDNF = fator neurotrófico derivado do cérebro; GDNF = fator neurotrófico derivado da glia; NGF = fator de crescimento neural; WT = wild-type.

I. 7 DISCUSSÃO

I. 7.1 Padronização da dieta

Na fase de padronização da dieta, os parâmetros avaliados foram: massa corporal longitudinal e final, índices de adiposidade e hepatossomático, níveis séricos e hepáticos de CT e TG. As dietas com adição de colesterol (tanto 1,25% quanto 2,5%) não levaram ao aumento da massa corporal e dos índices de adiposidade e hepatossomático, nos animais C57BL/6 (**Figura 5**). No entanto, a ingestão da dieta acrescida com 1,25% de colesterol por dezoito semanas foi eficaz em causar aumento dos níveis séricos de CT nestes animais, enquanto não promoveu hipertrigliceridemia (**Figura 6A e B**). Em relação aos níveis hepáticos, ambos CT e TG foram elevados nos animais que receberam ambas as dietas com adição de colesterol, em comparação à padrão (**Figura 6C e D**). Apesar disso, considerou-se a dieta com acréscimo de 1,25% a mais adequada a ser utilizada nos experimentos subsequentes, devido ao efeito hipercolesterolêmico observado.

Uma possível explicação para a dieta com adição de 2,5% de colesterol não ter aumentado os níveis séricos de CT pode ser atribuída a uma redução da absorção da quantidade de colesterol ingerida nos animais que receberam esta dieta. Este efeito já foi citado anteriormente em um estudo com seres humanos. McNamara *et al.* (1987) observaram que um aumento na ingestão de colesterol de 200 para 800 mg/dia apresentou um efeito mínimo sobre os níveis de colesterol plasmáticos. Isso foi atribuído à redução da absorção do colesterol exógeno, o que também levou à diminuição da síntese de colesterol endógeno, sendo estes efeitos considerados mecanismos compensatórios pelo aumento da quantidade de colesterol proveniente da dieta (Afonso *et al.*, 2018).

I. 7.2 Avaliação dos efeitos da dieta com acréscimo de colesterol em animais transgênicos para doença de Alzheimer

I. 7.2.1 Análise das medidas antropométricas/biométricas

Foi possível observar alterações em diversos parâmetros avaliados nos animais APP/PS1 e WT submetidos às dietas padrão e com adição de 1,25% de colesterol. Dentre estas, inclui-se a influência da dieta sobre o tempo, em relação

ao ganho ponderal em ambos os sexos, embora, isoladamente, a dieta não tenha exercido efeito direto sobre o aumento da massa corporal. Além disso, nas fêmeas, também foram observados efeitos do genótipo sobre o ganho de massa corporal longitudinal, que foi maior nas transgênicas, comparando-se aos controles (**Tabela 2** **Tabela 3**). Em um estudo que utilizou camundongos 3xTg-AD, outro modelo transgênico de DA, administrou-se dieta controle ou rica em gorduras (*high fat diet*) por 4 meses em fêmeas, e as transgênicas também apresentaram maior massa corporal, em relação às WT (Robison *et al.*, 2020). Estes dados sugerem, portanto, que animais modelos para DA, do sexo feminino, podem apresentar certa propensão ao ganho ponderal com o tempo. Ressalta-se, porém, que em relação à massa corporal final, no presente estudo não foi observada diferença entre os grupos, em nenhum dos sexos (**Figura 8A e D**).

Em ambos os genótipos e sexos, o índice hepatossomático foi maior nos animais alimentados com a dieta enriquecida com colesterol, em comparação àqueles que receberam a ração padrão (**Figura 8B e E**). Este índice representa o percentual de massa do fígado em relação ao peso corporal, e consiste em uma medida biométrica muito utilizada em estudos na área de aquacultura para quantificar o estoque de energia (glicogênio) do animal (Silva, 2015). Embora não tenha sido objetivo do estudo presente avaliar o metabolismo energético dos camundongos, o índice hepatossomático foi calculado para se ter um parâmetro a respeito da massa do fígado destes animais, uma vez que este órgão possui papel central no metabolismo do colesterol. Nesse sentido, em outro estudo que administrou em camundongos machos da linhagem *Kunming* uma dieta hiperlipídica (com adição de aproximadamente 10% de colesterol) por 28 dias, também observou-se maior índice hepatossomático, em comparação aos animais alimentados com dieta padrão comercial (Zhang *et al.*, 2017). De forma semelhante, ratos *Wistar* machos que receberam uma dieta com acréscimo de 1% de colesterol e 0,5% de ácido cólico por 28 dias apresentaram maior índice hepatossomático, quando comparados aos animais submetidos à dieta padrão (Ferreira *et al.*, 2011). Já em camundongos APP/PS1 que receberam dieta enriquecida com 1,25% de colesterol e 0,5% de ácido cólico por 18 semanas, embora este índice não tenha sido calculado, a massa hepática foi maior, em

comparação aos animais alimentados com dieta padrão (Pinçon *et al.*, 2019). Com base nisso, pode-se considerar que a ingestão em maior quantidade de colesterol pode levar ao aumento da massa do fígado em roedores.

No que se refere ao índice de adiposidade, o qual avalia a gordura corporal, e é considerado um parâmetro de obesidade central (Della Vedova *et al.*, 2016), este índice foi menor nos machos que receberam a ração acrescida de colesterol, em comparação àqueles alimentados com a dieta padrão (**Figura 8F**). Nas fêmeas, todavia, nenhum efeito foi observado (**Figura 8C**). A adiposidade central, definida como o acúmulo de gordura na parte inferior do tronco ao redor da área abdominal (Bacon, 2013), é uma das condições que está associada ao desenvolvimento de síndrome metabólica, a qual, não necessariamente, é acompanhada por aumento da massa corporal (Bosomworth, 2019). De fato, não obstante a diferença em relação ao índice de adiposidade nos machos, a massa corporal destes animais não foi diferente (**Figura 8D**).

A síndrome metabólica, por sua vez, consiste em um grupo de condições clínicas e bioquímicas que, em conjunto, aumentam o risco de doença arterial coronariana, diabetes, acidente vascular cerebral, entre outros problemas graves de saúde (Della Vedova *et al.*, 2016). Esta síndrome é caracterizada quando, além de adiposidade central, observa-se também uma ou mais das seguintes condições: hipertensão arterial, hiperglicemia, hipertrigliceridemia, e baixos níveis de colesterol HDL (Nilsson, Tuomilehto; Rydén, 2020). Como não foi objeto deste estudo a avaliação de síndrome metabólica, com exceção dos níveis séricos de TG (que não foram diferentes entre os grupos experimentais, conforme disposto na **Figura 9B**), os demais fatores não foram mensurados nos animais. Cabe mencionar, também, que ainda não existem critérios padronizados para definir sobrepeso e obesidade em animais de laboratório, nem mesmo um valor de referência para o índice de adiposidade (Leopoldo *et al.*, 2016). Os resultados do estudo presente, portanto, permitem inferir apenas que a adição de 1,25% de colesterol na dieta destes animais não promoveu aumento da gordura corporal, observando-se, inclusive, o contrário, nos camundongos do sexo masculino.

I. 7.2.2 Avaliação dos níveis de colesterol total e triglicérides

I. 7.2.2.1 Concentração sérica

Em relação à dosagem de lipídios no sangue, a dieta com acréscimo de colesterol não induziu hipercolesterolemia nos camundongos avaliados (**Figura 9A**), ao contrário do que foi observado na fase de padronização. Os animais APP/PS1 utilizados possuem *background* da linhagem C57BL/6 (Finnie *et al.*, 2017), no entanto, a sua obtenção e reprodução são limitadas. Com isso, optou-se pela utilização de camundongos C57BL/6 para a padronização da dieta, e esperava-se que resultados semelhantes fossem observados nos animais transgênicos, uma vez que se reproduziu o mesmo tempo de dieta e concentração de colesterol adicionada. Por outro lado, este resultado pode também estar associado ao fato de camundongos selvagens apresentarem maior resistência a desenvolverem hipercolesterolemia por meio da dieta (Chan *et al.*, 2015). Fisiologicamente, estes animais apresentam níveis séricos de HDL mais elevados, em comparação a humanos, o que é atribuído à deficiência da proteína de transferência de colesterol esterificado (*cholesteryl ester transfer protein* – CETP) em murinos (Shrestha *et al.*, 2018). Em humanos, por sua vez, esta proteína transporta ésteres de colesterol e TG entre diferentes frações de lipoproteínas no plasma. Mais especificamente, a CETP transfere ésteres de colesterol do HDL para o LDL ou para o colesterol presente na lipoproteína de muito baixa densidade (VLDLc), em troca de TG (Chirasani; Senapati, 2017). Com base nisso, a inibição de CETP em humanos tem sido associada à atividade ateroprotetora, embora haja controvérsias (Shrestha *et al.*, 2018). Em camundongos, onde tal proteína não é sintetizada, cerca de 80% do colesterol plasmático é transportado na forma de HDL. Assim, esses animais são mais resistentes a desenvolverem um estado hipercolesterolêmico por meio da dieta (Chan *et al.*, 2015). Isto, por sua vez, pode justificar porque camundongos do estudo vigente não apresentaram concentrações séricas elevadas de CT, embora tenham recebido uma quantidade exorbitante de colesterol na dieta (1,25%), que equivale a cerca de 10.000 mg/dia da ingestão de colesterol em humanos (Fernandez; Murillo, 2022).

Apesar disso, em diferentes estudos, que tem como objetivo avaliar doenças cardiovasculares em roedores, são empregadas dietas hiperlipídicas, as quais

são capazes de induzir hipercolesterolemia nestes animais. Entretanto, geralmente também levam ao desenvolvimento de outras condições, motivo pelo qual são utilizadas em modelos murinos para estudo de aterosclerose, obesidade ou síndrome metabólica, por exemplo (Getz; Reardon, 2006). Estas dietas, comumente denominadas de “ricas em gordura” (*high fat diet* – HFD), apresentam variações, mas geralmente são compostas por 20 a 35% de gorduras totais (Estadella *et al.*, 2004; Pakiet *et al.*, 2020). Além disso, algumas HFD também são complementadas com colesterol, em concentrações variáveis, sendo denominadas neste caso como “dietas ricas em gordura e em colesterol” (*high fat high cholesterol diet* – HFHC) (Getz; Reardon, 2006). Outros modelos de HFD utilizados em estudos na área cardiovascular são a dieta ocidental (*Western diet* – WD), normalmente composta por 21% de gorduras (Teklad, s.d.), e a dieta de Paigen (1995), cuja composição apresenta 15% de gorduras, 1,25% de colesterol e 0,5% de ácido fólico (Getz; Reardon, 2006). Quando estes esquemas dietéticos são administrados a camundongos que possuem maior susceptibilidade a desenvolver um quadro hiperlipidêmico, tais como animais transgênicos com expressão deficiente de ApoE (*ApoE*^{-/-}) ou do receptor de LDL (*ldlr*^{-/-}), o incremento nos níveis de CT séricos são ainda mais acentuados (Chan *et al.*, 2015). Entretanto, mesmo em animais selvagens das linhagens C57BL/6, *Kunming*, ou BALB/c, a administração de diferentes tipos de HFD também foi eficaz em induzir dislipidemia, caracterizada principalmente pelos elevados níveis de colesterol séricos (Getz; Reardon, 2006; Li *et al.*, 2020).

Pinçon *et al.* (2019) induziram hipercolesterolemia em camundongos APP/PS1 e WT utilizando a dieta de Paigen, que possui a mesma concentração de colesterol na dieta empregada no estudo presente (1,25%), e pelo mesmo período, de 18 semanas. Ressalta-se, porém, que o objetivo destes autores era estudar os efeitos da doença hepática gordurosa não alcoólica nestes animais. No estudo atual, por outro lado, o objetivo inicial era avaliar os efeitos dos níveis elevados de CT séricos, de forma isolada, nos animais modelo para DA, o que motivou a não utilização das HFD já utilizadas em estudos prévios. Como a dieta empregada tinha quantidade de colesterol considerada relativamente alta, mas apenas 4% de gorduras em sua composição, este também pode ser outro fator

relacionado ao não desenvolvimento de hipercolesterolemia nos animais deste estudo.

É importante acrescentar a esta discussão que, não obstante diferenças fisiológicas entre roedores e humanos, nestes últimos, estudos epidemiológicos e meta-análises demonstraram ausência de correlação entre o colesterol dietético e o sanguíneo (Fernandez; Murillo, 2022). A ingestão de colesterol tem sido discutida desde a década de 1960, quando foram definidas, nos Estados Unidos, as primeiras diretrizes dietéticas que limitavam a ingestão deste lipídio a não mais que 300 mg/dia (American Heart Association, 1968). Tais recomendações foram seguidas nos anos subseqüentes, e somente começaram a ser contestadas na década de 1990, a partir dos estudos realizados na época. No entanto, foi em 2015 que os limites máximos de colesterol dietético foram finalmente retirados das diretrizes alimentares norte americanas (U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture, 2015).

Além de ter sido demonstrada a falta de associação entre a ingestão de colesterol e os níveis sanguíneos deste (Fernandez; Murillo, 2022), também sugeriu-se que o corpo humano possui mecanismos específicos para controlar o excesso de colesterol na dieta. Dentre estes, inclui-se a redução da absorção ou a supressão da síntese deste lipídio (Mcnamara *et al.*, 1987), conforme mencionado no tópico 1.7.1.

A taxa de absorção do colesterol proveniente da dieta é variável em cada pessoa, e engloba o colesterol presente nos próprios alimentos ingeridos, o derivado da bile e, até certa medida, a descamação epitelial do intestino (Betters; Yu, 2010). Já o processo de transporte do colesterol em direção ao fígado compreende uma sequência de etapas, abrangendo sua dissolução em micelas, o transporte para as células intestinais, a incorporação em quilomícrons e a subseqüente transferência pelos sistemas linfático e sanguíneo até o fígado e outros tecidos corporais (Fernandez; Murillo, 2022). A porcentagem de colesterol absorvido pode variar entre 29% e 80%, com uma média aproximada de 60%, e o receptor Niemann-Pick C1-Like-1 (NPCL1), localizado nas células intestinais, desempenha importante função no processo de absorção deste lipídio (Bosner *et al.*, 1999).

No que diz respeito à sua síntese, o colesterol presente dentro das células exerce um controle de retroalimentação negativo sobre a HMG-CoA redutase, enzima que limita a sua taxa de produção. Desta forma, quando há excesso de colesterol intracelular, há redução da atividade desta enzima (Altmann *et al.*, 2004). A HMG-CoA redutase pode ser regulada por mudanças na sua estrutura através da fosforilação, mas ocorre principalmente por alterações na sua transcrição (Chambers; Ness, 1998), envolvendo a interação entre a proteína de ligação ao elemento regulador de esterol (*sterol regulatory element-binding protein* – SREBP) e os segmentos de resposta ao colesterol, localizados na porção 5' do gene que codifica a enzima (Brown; Goldstein, 1997).

Diante disto, propõe-se os mecanismos envolvidos na redução da absorção ou na supressão da síntese do colesterol, os quais garantem que, mesmo que haja um grande consumo de colesterol dietético, os níveis de colesterol sanguíneos são mantidos (Fernandez; Murillo, 2022).

I. 7.2.2.1 Concentração hepática

Ao contrário do que foi observado em relação aos níveis séricos dos lipídios dosados, a dieta com acréscimo de colesterol promoveu aumento na quantidade de CT no fígado, em ambos os sexos e genótipos (**Figura 10A e C**). Nos animais C57BL/6 utilizados para a padronização da dieta, o mesmo foi observado (**Figura 6C**). Efeito semelhante ocorreu no estudo conduzido por Ferreira e colaboradores (2011), no qual ratos *Wistar* machos que receberam dieta com acréscimo de 1% de colesterol e 0,5% de ácido cólico, por 28 dias, apresentaram concentrações significativamente mais elevadas de CT e TG no fígado, e maior índice hepatossomático, em comparação aos animais que foram alimentados com dieta padrão. Em outro estudo, Wouters *et al.* (2008) também observaram maiores níveis de CT e TG no fígado de camundongos C57BL6/J e *knockout* para o receptor de LDL (*ldlr^{-/-}*), machos e fêmeas, que receberam dieta hiperlipídica com adição de 0,1% de colesterol por 7 dias, comparando-se àqueles que receberam a ração padrão. Adicionalmente, os animais alimentados com a ração hiperlipídica apresentaram inflamação hepática grave, caracterizada por infiltração de macrófagos e aumento da sinalização do NF-κB.

No que se refere aos níveis de TG hepáticos no presente estudo, estes foram maiores nas fêmeas que receberam a dieta com acréscimo de 1,25% colesterol, comparando-se à dieta padrão, em ambos os genótipos (**Figura 10B**). Além disso, dentre as fêmeas submetidas à ração acrescida de colesterol, a concentração de TG no fígado foi menor nos animais APP/PS1, comparando-se aos WT. Nos machos, por sua vez, houve diferença em relação aos níveis de TG somente dentre os camundongos que receberam a dieta colesterol 1,25%, observando-se também menor concentração nos transgênicos, em comparação aos controles (**Figura 10D**).

Estes resultados demonstram o efeito do genótipo sobre este parâmetro, indicando que, neste estudo, animais modelo para DA, alimentados com a ração enriquecida com colesterol, foram resistentes à elevação da concentração de TG no fígado mediada pela dieta. Entretanto, não há relatos de achados semelhantes na literatura. Kim *et al.* (2016) induziram doença hepática gordurosa não alcoólica em camundongos APP-transgênicos (Tg) e WT, de ambos os sexos, ao submeter estes animais à dieta rica em gordura com acréscimo de 1% de colesterol, 0,5% de ácido cólico e 18% de TG, por 2, 5 ou 12 meses. Observou-se anormalidade hepática significativa, evidenciada por hepatomegalia grave, acúmulo de gordura e aumento significativo no tamanho e peso do fígado, após 2 e 5 meses, tanto nos animais transgênicos, quanto nos WT, que receberam a dieta hiperlipídica. Além disso, esta dieta também induziu um estado inflamatório no fígado destes animais, caracterizado por aumento nas células CD4+, CD8+, B220+ e F4/80+ e da expressão de TNF, IL-6 e IL-17. Adicionalmente, no cérebro dos animais APP-Tg alimentados com a dieta rica em gorduras observou-se aumento do número de placas de A β , após 2 e 5 meses, e de p-tau, após 12 meses, em comparação aos que receberam a ração padrão. Com base nisso, estes autores consideraram que a dieta hiperlipídica induziu um quadro inflamatório sistêmico que, por sua vez, foi associado à maior neurodegeneração nestes animais.

Em outro estudo, Pinçon e colaboradores (2019) induziram doença hepática gordurosa não alcoólica em camundongos APP/PS1, pela administração de dieta enriquecida com 1,25% de colesterol e 0,5% de ácido cólico por 18 semanas. No fígado destes animais, observou-se maiores níveis de CT e TG,

bem como maior expressão gênica de IL-1 β e TNF, em comparação aos que receberam a ração padrão, enquanto no cérebro, somente a expressão de TNF estava aumentada. Além disso, observou-se anormalidades vasculares nos animais APP/PS1 que receberam a dieta com adição de colesterol, uma vez que apresentaram hipoperfusão cerebral. Embora não tenha ocorrido alterações cerebrais nos depósitos de A β destes camundongos, em conjunto, estes resultados sugerem que a indução de doença hepática gordurosa não alcoólica pode contribuir para a patogênese da DA.

Nesse contexto, cabe elucidar que a doença hepática não alcoólica, também denominada de esteatose hepática não alcoólica, consiste em uma condição clínica na qual há um acúmulo de mais de 5% de gordura nos hepatócitos, mais especificamente de TG, que não foi provocada pelo consumo excessivo de álcool (Nassir *et al.*, 2015; Ress; Kaser, 2016). O armazenamento prolongado de lipídios no fígado, por sua vez, pode levar a maior comprometimento hepático pelo desenvolvimento de esteato-hepatite não alcoólica, situação na qual há uma exacerbação da resposta inflamatória que pode causar fibrose avançada, cirrose e hepatocarcinoma (Sociedade Brasileira de Hepatologia, s.d.).

Embora no estudo atual tenha se observado elevados níveis de CT e TG no fígado dos camundongos alimentados com a dieta enriquecida com colesterol, não foram realizadas análises histológicas que permitam caracterizar um quadro de esteatose hepática nestes animais. Além disso, mediadores inflamatórios não foram dosados nas amostras de fígado. Contudo, considerando as alterações hepáticas observadas, e os dados da literatura que relacionam tais alterações ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória sistêmica, que pode contribuir para neuroinflamação na DA, esperava-se que os marcadores inflamatórios dosados nas amostras de hipocampo e córtex pré-frontal pudessem estar alterados. Estes resultados serão discutidos nos tópicos a seguir.

I. 7.2.3 Avaliação de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 e de outras citocinas em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal

Neste trabalho, quantificou-se os níveis de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 (IL-1 β , IL-18 e caspase-1) e de outras citocinas inflamatórias (IL-6, IL-10 e TNF) em amostras de hipocampo e córtex pré-frontal de todos os grupos experimentais. Contudo, diferenças significativas foram observadas somente em relação à concentração de IL-18 e TNF no hipocampo dos animais do sexo masculino (**Figura 11E** e **Figura 13F**, respectivamente).

Considerando as evidências de que o colesterol pode ativar o inflamassoma NLRP3, induzindo à maior secreção de IL-1 β e IL-18 (Duez; Pourcet, 2021), no presente estudo, esperava-se que a dieta com acréscimo deste esterol pudesse estimular a produção destas citocinas, especialmente no cérebro dos animais APP/PS1. No entanto, a dieta suplementada com colesterol exerceu efeito somente em relação aos níveis de IL-18 hipocampais, que foram maiores em ambos os genótipos. Já em relação à caspase-1, por não ser uma citocina inflamatória *per se*, mas sim uma enzima que atua na maturação de IL-1 β e IL-18, não surpreende o fato de não estar aumentada nas amostras analisadas, pois quantificou-se os seus níveis nos homogenatos dos tecidos coletados, e não a sua atividade. Entretanto, a associação desta proteína à DA já foi reportada em estudos anteriores. Flores e colaboradores (2018) avaliaram o efeito de VX-765, um inibidor de caspase-1, em camundongos J20. Estes animais consistem em um modelo transgênico para DA que superexpressa a APP humana com duas mutações ligadas à DA familiar (suíça e indiana) e que, desta forma, apresentam mais A β do que camundongos que expressam quantidades equivalentes de APP humana do tipo selvagem. Os autores demonstraram que a droga reverteu, de forma dose-dependente, a inflamação cerebral e o comprometimento da memória episódica e espacial, além de ter evitado a deposição progressiva de A β no hipocampo destes animais.

Heneka *et al.* (2013) detectaram maior clivagem de caspase-1 e níveis aumentados de IL-1 β no parênquima cerebral de camundongos APP/PS1 com 16 meses, em comparação a animais WT. Estes autores também observaram

que, em animais APP/PS1 *knockout* para caspase-1 (APP/PS1/*Casp1*^{-/-}) e NLRP3 (APP/PS1/*Nlrp3*^{-/-}), houve redução da ativação de caspase-1 e IL-1 β cerebrais, aumento da depuração de A β , e efeito protetor em relação aos déficits de aprendizado e memória espacial. Com base nestes dados, Tzeng *et al.* (2018) imaginaram que camundongos APP/PS1 com expressão deficiente de IL-18 também pudessem ser prevenidos dos sintomas da DA. No entanto, observaram que estes animais desenvolveram um distúrbio convulsivo letal, que foi associado à maior transmissão da rede neuronal. Assim, sugeriram que, embora o direcionamento do inflamassoma NLRP3 possa ser uma abordagem potencial para interromper a neuroprogressão na DA, é importante considerar que a inibição de citocinas específicas no cérebro pode acarretar em efeitos deletérios não intencionais.

Corroborando as evidências a respeito da associação entre os mediadores inflamatórios avaliados neste estudo e a DA, em estudos prévios *in vivo*, níveis elevados de IL-1 β e TNF foram detectados no cérebro de camundongos transgênicos para DA (APP_{sw}/Tg2576) com 12 e 18 meses, em comparação ao grupo controle (Benzing *et al.*, 1999). No córtex cerebral de animais APP/PS1, machos, com 12, 20 e 22 meses, houve aumento da expressão de IL-1 β e IL-10, comparando-se a camundongos transgênicos mais jovens (López-González *et al.*, 2015). Também em animais APP/PS1, com 7 e 8 meses de idade, observou-se maior expressão de A β ₁₋₄₂ e elevados níveis de IL-6 e IL-10 em amostras de hipocampo, quando comparados aos WT (Hashiguchi, 2019). Em outro estudo que utilizou dois modelos transgênicos para DA (TgAPP_{sw} e PS1/APP_{sw}), com 15 meses de idade, maiores níveis de IL-1 β , IL-6, IL-12p40 e TNF em fatias de cérebro foram encontrados, comparando-se aos animais controle (Patel *et al.*, 2005). Ainda, no hipocampo de animais APP/PS1, de ambos os sexos e com aproximadamente 20 meses, observou-se ativação de micróglia e astrócitos. Após estímulo com lipopolissacarídeo (LPS), a micróglia demonstrou produção aumentada de IL-1 β , e os astrócitos, uma resposta exacerbada a quimiocinas e IL-6. Desta forma, sugeriu-se que estímulos agudos no cérebro destes camundongos podem levar à amplificação das respostas inflamatórias em *loop* (Lopez-Rodriguez *et al.*, 2021).

No que concerne às alterações dos níveis cerebrais dos mediadores inflamatórios avaliados no estudo em tela em decorrência da administração de dietas ricas em gordura e colesterol, evidências também já foram reportadas em estudos anteriores. Thirumangalakudi *et al.* (2008) induziram hipercolesterolemia em camundongos com expressão deficiente do receptor de LDL (*ldlr*^{-/-}) alimentados com uma dieta rica em gordura (21%) e colesterol (1,25%), por um período de 8 semanas, a qual foi demonstrada por níveis de CT séricos e LDL elevados, em comparação aos animais que receberam a ração padrão. Aos 6 meses, estes camundongos também apresentaram prejuízo na memória de trabalho, após avaliação comportamental, e expressão aumentada de IL-1 β , IL-6 e TNF hipocampais. Com base nisso, sugeriu-se uma relação entre a hipercolesterolemia e a disfunção cognitiva observada, potencialmente mediada pelo aumento da neuroinflamação nestes animais. Em outro estudo, ratos machos *Sprague Dawley*, com 6 meses de idade, foram submetidos à dieta padrão ou hipercolesterolêmica (suplementada com 5% de colesterol) por 5 meses. Após esse período, estes animais apresentaram maiores níveis plasmáticos de CT, quando comparados aos animais da dieta controle. Adicionalmente, apresentaram prejuízos na aprendizagem e na memória a longo prazo, bem como níveis aumentados de A β , proteína tau hiperfosforilada e das citocinas IL-6, IL-10 e TNF no córtex cerebral. Desta forma, propôs-se que a hipercolesterolemia pode induzir alterações patológicas semelhantes às que ocorrem na DA (Ullrich, Pirchl; Humpel, 2010). Por fim, em estudo que empregou, por 6 meses, dieta suplementada com 1,2% de colesterol em camundongos APP/PS1 machos com 4 meses de idade, estes animais desenvolveram hipercolesterolemia. Além disso, também apresentaram elevados níveis séricos de IL-1 β e, de forma inesperada, menores concentrações desta mesma citocina no tecido cerebral, comparando-se aos WT e transgênicos que receberam a ração padrão. Desta forma, estes autores atribuíram a atenuação da neuroinflamação observada à dieta enriquecida com colesterol (Fan *et al.*, 2021). Apesar das controvérsias, os estudos supramencionados apresentam um ponto em comum: a maioria dos animais experimentais eram mais velhos. No estudo atual, todavia, os camundongos avaliados estavam com aproximadamente 10 meses de idade. Assim, embora já fossem considerados adultos, ainda não

apresentavam idade avançada. Este fator, por sua vez, pode estar associado ao fato de não ter sido observado aumento da maioria dos mediadores inflamatórios cerebrais, em especial nos animais APP/PS1.

I. 7.2.5 Avaliação de fatores neurotróficos em amostras de hipocampo

Neste estudo, determinou-se os níveis de BDNF, GDNF e NGF em amostras de hipocampo em todos os grupos experimentais. No entanto, diferença significativa foi observada somente em relação aos níveis de BDNF nas fêmeas (**Figura 15A**), os quais estavam elevados nos animais APP/PS1 que receberam a dieta padrão, comparando-se com os WT que receberam a dieta com adição de colesterol.

Os fatores neurotróficos são proteínas que desempenham um papel importante no crescimento sináptico e neuronal, bem como na poda neural, mielinização, diferenciação e sobrevivência dos neurônios. Eles agem como mensageiros químicos que auxiliam no desenvolvimento, manutenção e plasticidade do sistema nervoso (Skaper, 2012). Nesse contexto, reduções nos níveis de fatores neurotróficos, como o BDNF, GDNF e NGF, foram associadas aos déficits cognitivos, consequências comuns do processo de envelhecimento. Na DA, condição na qual os pacientes apresentam declínio cognitivo progressivo, também tem sido reportada diminuição da concentração destes fatores (Budni *et al.*, 2015).

Neste âmbito, um dos principais fatores neurotróficos cuja associação com DA foi amplamente reportada consiste no BDNF. Este fator é expresso em todo o SNC, incluindo as regiões cortical, hipocampal, nigral, amígdala e talâmica, e maiores concentrações são encontradas no hipocampo (Gao *et al.*, 2022). O BDNF é crucial para o aprendizado e a memória, uma vez que regula os processos de potenciação de longa duração (*long-term potentiation* – LTP) e depressão de longa duração (*long-term depression* – LTD), envolvidos na aquisição e consolidação da memória (Trombetta *et al.*, 2020). Além disso, também atua na regulação da plasticidade sináptica, brotamento axonal, proliferação da árvore dendrítica e diferenciação neuronal (Tyler *et al.*, 2002; Budni *et al.*, 2015).

De volta ao cenário da DA, a depleção de BDNF foi associada ao acúmulo de A β , hiperfosforilação da proteína tau, neuroinflamação e apoptose neuronal, tanto *in vivo*, quanto em humanos (Wang *et al.*, 2019). Em um estudo com camundongos APP/PS1, déficits de memória e prejuízos na neurogênese hipocampal em animais adultos (6 meses) foi demonstrada, e a superexpressão de BDNF pareceu reverter este quadro (Hsiao *et al.*, 2014). Maior expressão deste fator neurotrófico também demonstrou aumentar LTP hipocampal e inibir o efeito de A β e da proteína tau na perda neuronal em roedores (Nagahara *et al.*, 2009; Nagahara *et al.*, 2013; Jiao *et al.*, 2016).

Em estudos clínicos, pacientes com DA apresentaram níveis séricos de BDNF reduzidos, em comparação a controles (Laske *et al.*, 2007; Forlenza *et al.*, 2010; Pláteník *et al.*, 2014). Em avaliação *post-mortem* também observou-se níveis diminuídos de BDNF em amostras de hipocampo e córtex parietal de pacientes com DA, comparando-se a indivíduos controle (Hock *et al.*, 2000). Em contrapartida, concentração elevada de BDNF plasmático também já foi reportada em pacientes com DA, comparando-se a controles ou indivíduos com CCL (Faria *et al.*, 2014). Nesse sentido, foi proposto que estas alterações nos níveis de BDNF podem estar relacionadas aos diferentes estágios da DA, uma vez que menores concentrações foram observadas, principalmente em fases mais avançadas da doença, ao passo que níveis maiores foram detectados especialmente nos estágios iniciais. Isto, por sua vez, pode estar relacionado a um mecanismo orgânico de regulação da perda de memória (Budni *et al.*, 2015).

Em relação aos demais fatores neurotróficos avaliados, embora não tenham apresentado diferença significativa neste trabalho, estudos prévios já demonstraram associações destes com a DA. Neste cenário, níveis mais elevados de GDNF, importante fator de crescimento para o desenvolvimento, sobrevivência e manutenção dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo (Deister; Schmidt, 2006), foi detectado no LCR de pacientes em estágios iniciais de DA, comparando-se a controles. Por outro lado, em amostras de soro, este fator neurotrófico apresentou-se reduzido nos pacientes avaliados, sugerindo-se que estas diferenças podem estar associadas a um processo de adaptação cerebral em decorrência da doença (Straten *et al.*, 2011). Em estudos *in vivo*, animais APP/PS1 apresentaram níveis mais baixos de GDNF em amostras de

hipocampo, comparando-se aos WT (Xiao *et al.*, 2021). Em camundongos triplo transgênicos para DA (3xTgAD), observou-se baixa expressão de GDNF hipocampal (Revilla *et al.*, 2014a) e, ao serem tratados com terapia gênica para superexpressão deste fator neurotrófico na região do hipocampo, por 6 meses, estes animais apresentaram melhoras no aprendizado e memória. Este efeito neuroprotetor do GDNF foi acompanhando por maior regulação de BDNF, tendo sido proposto que, em conjunto, estes fatores neurotróficos podem apresentar função importante contra atrofia e degeneração neuronal (Revilla *et al.*, 2014b).

No que se refere ao NGF, este fator neurotrófico desempenha importante função na plasticidade neuronal e sobrevivência de neurônios colinérgicos do prosencéfalo (córtex cerebral, hipocampo, prosencéfalo basal e hipotálamo), os quais estão relacionados à memória e cognição (Budni *et al.*, 2015). Na DA, foi reportado que o NGF pode exercer efeitos neuroprotetores, como manutenção do crescimento neurítico e inibição de apoptose (Calissano, Matrone; Amadoro, 2010; Matrone *et al.*, 2011). Além disso, em camundongos APP/PS1, a expressão de NGF no hipocampo foi menor, em comparação a animais WT, sugerindo-se que sua baixa expressão pode contribuir para a deposição de A β (Liu *et al.*, 2014). Em estudos clínicos, todavia, há resultados conflitantes. Alguns trabalhos não encontraram diferenças entre os níveis de NGF no soro, LCR e no tecido encefálico (hipocampo e córtex parietal) de pacientes com DA, em comparação a controles (Murase *et al.*, 1993; Faria *et al.*, 2014). No entanto, níveis séricos reduzidos de NGF já foram reportados tanto em pacientes com DA, quanto com CCL, comparando-se a indivíduos sem prejuízo cognitivo (Forlenza *et al.*, 2015). Assim, propôs-se que diminuições nos níveis de NGF nestes pacientes podem ser atribuídas à redução da atividade colinérgica, característica da DA (Hellweg *et al.*, 1998).

PARTE II - ESTUDO EM HUMANOS

II. 4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar pacientes com diagnóstico de DA (provável ou possível) e demência fronto-temporal (DFT), para compor o grupo caso (pacientes com demência), assim como um grupo controle;
- Realizar a caracterização demográfica e clínica da população do estudo;
- Realizar medidas antropométricas e coleta de sangue dos participantes;
- Proceder à determinação do perfil lipídico e de outros parâmetros bioquímicos em amostras de soro;
- Quantificar os níveis de mediadores inflamatórios relacionados ao inflamassoma NLRP3 (IL-1 β , IL-18 e caspase-1) e de outras citocinas inflamatórias classicamente descritas na literatura (IL-6, IL-8, IL-10, IL12p70 e TNF) em amostras de plasma;
- Comparar as variáveis analisadas (dados clínicos, medidas antropométricas, perfil lipídico e mediadores inflamatórios) entre dois grupos: controles *versus* pacientes com demência, e entre três grupos: controles *versus* DA *versus* DFT;
- Avaliar se os mediadores inflamatórios estão associados de forma independente à demência ou à DA, corrigindo-se para os fatores de confusão;
- Avaliar correlações entre as variáveis estudadas dentro de cada grupo.

II. 5 MATERIAL E MÉTODOS

II. 5.1 Aspectos Éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CAAE – 68081416.8.0000.5149, **Anexo II**). Antes da realização de qualquer procedimento do estudo, os participantes foram convidados e esclarecidos sobre a pesquisa com a apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – **Apêndice 1**), na presença ou não de um acompanhante, a depender do seu estado de funcionalidade e cognição. Aqueles que concordaram em participar (ou os seus responsáveis, quando aplicável) assinaram o presente termo e receberam uma via do documento.

II. 5.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional, analítico e transversal envolvendo a participação de indivíduos com diagnóstico de DA (provável ou possível) e DFT, assim como um grupo controle.

II. 5.3 Período e local

Os pacientes foram selecionados, durante o período de maio de 2019 a março de 2020, no Ambulatório de Neurologia Cognitiva e do Comportamento do Hospital das Clínicas da UFMG, e o grupo controle, na comunidade, consistindo, em uma amostragem por conveniência. Cabe ressaltar que a seleção de participantes foi interrompida em março de 2020, em decorrência da pandemia de covid-19. O projeto sofreu grande impacto no seu desenvolvimento devido a essa situação, pois, além do distanciamento social, o público-alvo da pesquisa compreendia idosos, considerados grupo de risco para a covid-19, dificultando ainda mais o contato com essa população. Desta forma, a coleta dos controles somente foi concluída em março de 2022.

II. 5.4 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos pacientes diagnosticados, por médicos neurologistas e geriatras, com DA provável ou possível, após avaliação de exame de imagem (tomografia computadorizada de crânio ou ressonância magnética com indicativo de atrofia hipocampal) ou dosagem em LCR de $A\beta_{1-42}$, proteína tau total e p-tau. Também foram incluídos pacientes com DFT, diagnosticados de acordo com os critérios do consenso internacional publicado por Rascovsky *et al.* (2011). Pacientes com diagnóstico de qualquer outra síndrome demencial ou que ainda estavam sob investigação diagnóstica foram excluídos. Também excluiu-se participantes com qualquer quadro clinicamente relevante de: doença hepática; doença renal crônica; doenças auto-imunes e inflamatórias (lúpus, doença de Crohn, etc.); doença pulmonar obstrutiva crônica e asma; doenças infecciosas; neoplasias; histórico de doenças psiquiátricas (esquizofrenia, transtorno afetivo bipolar, transtorno por uso de álcool, etc); epilepsia; neuroinfecção; traumatismo cranioencefálico e outros antecedentes neurológicos (esclerose múltipla, aneurisma cerebral, etc.). Uso de recente de anti-inflamatórios não-esteroidais, corticosteroides, imunossupressores, antirretrovirais e terapia hormonal também foram considerados como critérios de exclusão.

Em relação ao grupo controle, foram adotados os mesmos critérios descritos acima, admitindo-se indivíduos com as mesmas comorbidades clínicas observadas nos pacientes.

II. 5.5 Coleta de dados clínicos e demográficos

Durante entrevista, os participantes responderam às perguntas dispostas na ficha clínica (**Apêndice 2**). Em seguida, realizou-se a coleta de sangue, conforme descrito no item 5.6 e, ao final, foram obtidas as medidas antropométricas peso e altura, para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), e circunferência abdominal. Em relação ao grupo controle, também foi aplicado o mini-exame do estado mental (MEEM), teste de rastreio cognitivo realizado nos pacientes durante as consultas ambulatoriais pela equipe médica. No caso dos pacientes, demais dados clínicos também foram obtidos a partir dos prontuários.

II. 5.6 Coleta e preparo das amostras biológicas

Coletou-se, de cada participante do estudo, 20 mL de sangue venoso em tubos do sistema Vacutainer[®], sem jejum, sendo: 10 mL em tubos sem anticoagulante e 10 mL em tubos contendo EDTA. Centrifugou-se as amostras a 1100 g por 15 minutos e, tanto o plasma quanto o soro, foram aliquotados e transferidos para tubos tipo *ependorfs*[®], os quais foram estocados a -80°C para determinação posterior dos parâmetros bioquímicos e inflamatórios.

II. 5.7 Determinação do perfil lipídico e outros parâmetros bioquímicos

A partir das amostras de soro obtidas, realizou-se a determinação do perfil lipídico, compreendendo os valores de CT, HDLc e TG. Calculou-se os valores do colesterol não HDL (não HDLc) conforme abaixo:

$$\text{não HDLc} = \text{CT} - \text{HDLc}$$

Os valores do VLDLc e do LDLc foram calculados de acordo com a fórmula de Martin *et al.*(2013), em que:

$$\text{VLDLc} = \text{TG} \div x$$

e

$$\text{LDLc} = \text{CT} - \text{HDLc} - \text{VLDL}$$

Nesta fórmula, x corresponde aos divisores de TG, que variam conforme os valores deste e do não HDLc. Estes divisores são tabelados e foram obtidos por meio de cálculos estatísticos que permitem estimar com maior fidedignidade os valores de VLDLc, conforme o método proposto por Martin *et al.* (2013), que tem como referência a ultracentrifugação para o cálculo do LDLc (Faludi *et al.*, 2017).

Adicionalmente, também foram determinados outros parâmetros bioquímicos, tais como: proteína C reativa (PCR); enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT)/ transaminase pirúvica (TGP), aspartato aminotransferase (AST)/ transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), gama-glutamil transferase (GGT); e o marcador renal creatinina. Estas dosagens foram realizadas no Laboratório Distrital Norte/Venda Nova da Secretaria Municipal de

Saúde da Prefeitura de Belo Horizonte (SMSA-PBH) no analisador automático AU480 Beckman Coulter®, seguindo as orientações do fabricante.

Os valores de referência para estes analitos estão descritos na **Tabela 11**.

Tabela 11. Valores de referência dos parâmetros bioquímicos.

| Analito | Valor de referência |
|----------------|---|
| CT | Acima de 20 anos: <ul style="list-style-type: none"> • Desejável: < 200 mg/dL • Limítrofe: 200 - 239 mg/dL • Aumentado: > 240 mg/dL |
| HDLc | Acima de 20 anos: 40 - 60 mg/dL Desejável: > 60 mg/dL |
| LDLc | Acima de 20 anos: <ul style="list-style-type: none"> • Ótimo: < 100 mg/dL • Desejável: 100 - 129 mg/dL • Limítrofe: de 130 a 159 mg/dL • Aumentado: > 160 mg/dL |
| TG | Acima de 20 anos: <ul style="list-style-type: none"> • Desejável: < 150 mg/dL • Limítrofe: 150 - 200 mg/dL • Aumentado: 200 - 499 mg/dL |
| PCR | < 5 mg/L |
| ALT | Homens: < 50 U/L Mulheres: < 35 U/L |
| AST | Homens: <50 U/L Mulheres: < 35 U/L |
| GGT | Mulheres: < 38 U/L Homens: < 55 U/L |
| Creatinina | Mulheres: 0,51 - 0,95 mg/dL Homens: 0,67 - 1,17 mg/dL |

II. 5.8 Dosagem de mediadores inflamatórios

A partir das amostras de plasma obtidas, foram feitas dosagens de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 (IL-1 β , IL-18 e caspase-1), e de outras citocinas inflamatórias (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF), conforme detalhado nos subtópicos II. 5.8.1 e II. 5.8.2 a seguir.

II. 5.8.1 Quantificação por ensaio imunoenzimático (ELISA)

Os níveis de IL-18 e caspase-1 foram determinados, no plasma de pacientes, por meio da técnica de ELISA *sandwich*, utilizando os kits comerciais *Human IL18* (Sigma-Aldrich, EUA) e *Human Caspase-1* (Sigma-Aldrich, EUA). Em todos os ensaios, a quantificação dos níveis destes analitos foi realizada com base em curva padrão, conforme as instruções de cada fabricante.

II. 5.8.2 Quantificação por microesferas - *Cytometric Bead Array* (CBA)

Os níveis das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF, presentes no plasma de pacientes, foram determinados utilizando o kit *BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammatory Cytokines* (BD Bioscience, San Diego, CA, EUA). Esse ensaio utiliza microesferas (“*beads*”) de captura para detecção das citocinas nas amostras analisadas. Os procedimentos foram realizados seguindo as instruções do fabricante. A aquisição das amostras foi feita no citômetro BD FACS Calibur e o processamento dos dados, no *software* FlowJo (Tree Star, Ashlan, OR).

II. 5.9 Análises estatísticas

Variáveis categóricas foram expressas em frequência absoluta (N) e relativa (%), e associações entre estas variáveis foram avaliadas pelo teste Qui-Quadrado de *Pearson*. Variáveis contínuas foram submetidas ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*. Aquelas que apresentaram distribuição normal foram expressas em média e desvio padrão, e as com distribuição não normal, em mediana e intervalo interquartil [quartil 3 – quartil 1(Q3-Q1)].

Comparações entre os dois grupos (controles *versus* pacientes com demência) foram feitas usando o teste *t* de *Student*, quando os dados se mostraram com distribuição normal, ou *Mann–Whitney*, para dados com distribuição não normal. Já comparações entre os três grupos (controles *versus* DA *versus* DFT) foram realizadas por ANOVA de uma via ou pelo teste de *Kruskall-Wallis* (para dados normais e não normais, respectivamente).

Para avaliar a associação de mediadores inflamatórios, de forma independente, à demência ou à DA, realizou-se análises de regressão logística. Para isto,

primeiramente, foi feita análise univariada, tendo os mediadores inflamatórios como variáveis independentes, e a presença de demência ou DA, como variáveis dependentes. Em seguida, realizou-se a análise multivariada (modelo final), na qual foram incluídas todas as variáveis independentes que apresentaram resultado significativo na análise univariada. No modelo final também foram incluídos os fatores de confusão: idade, sexo, escolaridade, MEEM, HAS, DM, dislipidemia, IMC e circunferência abdominal. Para avaliar a adequação deste modelo, utilizou-se o teste de *Hosmer and Lemeshow*, o qual consiste em um teste Qui-quadrado que verifica se existem diferenças significativas entre as classificações feitas pelo modelo e a realidade observada. O melhor ajuste do modelo é indicado por uma menor diferença entre estas classificações, ou seja, por um valor de Qui-quadrado não significativo (Hair, 1998).

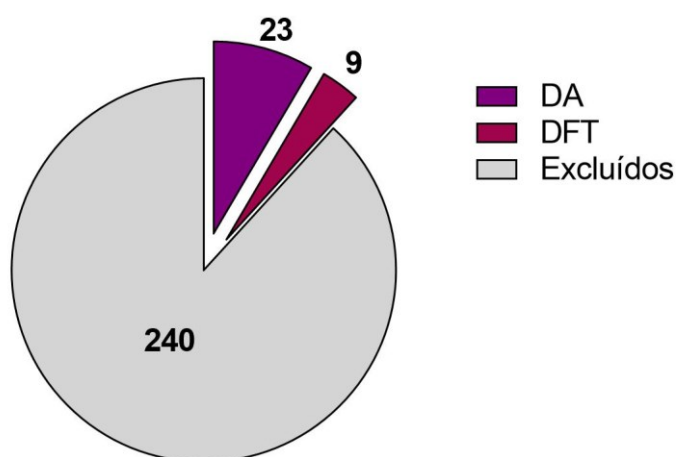
Por fim, correlações entre as variáveis do estudo foram avaliadas pelo teste de correlação de *Spearman*. A interpretação da magnitude da associação foi feita de acordo com os valores do coeficiente de correlação (ρ), conforme descrito por Schober; Boer; Schwarte (2018), como: insignificante (0,00 – 0,10), fraca (0,20 – 0,39), moderada (0,40 - 0,69), forte (0,70 – 0,89) ou muito forte (0,90 – 1,0).

Todos os testes estatísticos foram bicaudais, e considerou-se estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$. As análises foram feitas utilizando-se o *software* SPSS versão 25.0 (*Statistical Package for Social Sciences Inc.*, Chicago, IL, EUA). Para a elaboração dos gráficos utilizou-se o *software* GraphPad Prism® versão 6.07 (*GraphPad Software*, La Jolla, CA, EUA).

II. 6 RESULTADOS

II. 6.1 Seleção dos participantes do grupo caso

Durante o período de maio de 2019 a março de 2020, foram acompanhados 272 pacientes no ambulatório e, dentre estes, foram incluídos 23 com DA e 9 com DFT (**Figura 16**), totalizando em 32 indivíduos no grupo de pacientes com demência (grupo caso). Os motivos que levaram a não inclusão dos demais pacientes estão apresentados na **Figura 17**. Nota-se que, dos 240 não selecionados, a maioria dos indivíduos estava na primeira consulta ou triagem (16,7%), apresentava diagnóstico de outra condição clínica diferente das descritas (13,8%), ou ainda estava sob investigação diagnóstica (13,3%). Ressalta-se, também, que foram excluídos 9,6% dos pacientes com diagnóstico de DA provável ou possível ($n = 23$), e 13,8% dos pacientes com DFT ($n = 33$) por terem apresentado algum dos critérios de exclusão definidos.



Total = 272

Figura 16. Frequência de pacientes incluídos e excluídos do estudo.

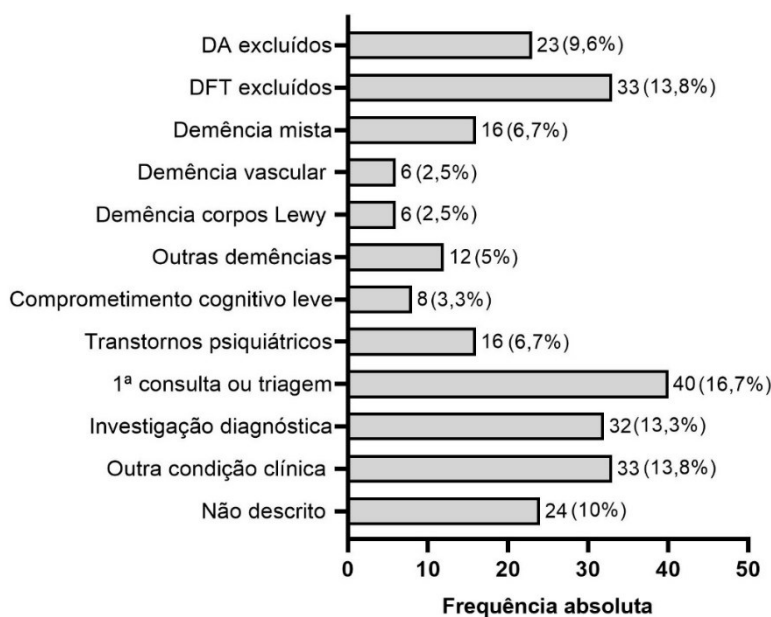


Figura 17. Fatores de não elegibilidade dos pacientes acompanhados no ambulatório, dentre o total de 240 que foram excluídos. DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal.

II. 6.2 Caracterização demográfica e clínica dos participantes

Participaram desse estudo um total de 65 indivíduos, compreendendo 23 pacientes com DA, 9 com DFT e 33 controles. Os pacientes com DA e DFT também foram agrupados formando o grupo de pacientes com demência ($n = 32$). Na **Tabela 12** estão apresentadas as características demográficas e clínicas dos participantes, comparando-se os grupos controle e demência (DA+DFT).

Na amostra avaliada, a maioria dos indivíduos era do sexo feminino, com média de idade em torno de 70 anos. Os controles foram pareados com o grupo caso para idade e sexo, não havendo, portanto, diferença para estas variáveis entre os grupos. Em contrapartida, pacientes com demência apresentaram menor escolaridade, medida pelo tempo de estudo em anos, em comparação ao grupo controle. Também houve diferença entre os grupos em relação às medidas antropométricas. Indivíduos do grupo controle apresentaram maior IMC e medida da circunferência abdominal, comparando-se ao grupo de pacientes com demência. Ao avaliar este último em relação ao sexo, todavia, observou-se que esta diferença somente foi observada entre as mulheres.

A pontuação no MEEM foi menor nos pacientes com demência, quando comparados aos controles. Estado civil, prevalência de comorbidades (HAS, DM

e dislipidemia), uso de estatinas e prática de atividade física não foi diferente entre os grupos.

Tabela 12. Características demográficas e clínicas dos grupos controle e demência.

| | Controle (N = 33) | Pacientes com demência (N = 32) | p |
|-------------------------------|------------------------------|--|------------------------------|
| Sexo, N (%) | | | |
| Feminino | 25 (75,8%) | 23 (71,9%) | 0,783 ^A |
| Masculino | 8 (24,2%) | 9 (28,1%) | |
| Idade (anos) | 71 ± 8 | 72 ± 10 | 0,731 ^B |
| Escolaridade (anos) | 12 ± 5 | 9 ± 5 | 0,006^B |
| Analfabeto | 0 | 1 (3,9%) | 0,017^A |
| 1 a 4 anos | 5 (15,2%) | 9 (28,1%) | |
| 5 a 8 anos | 0 | 6 (18,8%) | |
| 9 a 11 anos | 14 (42,4%) | 6 (18,8%) | |
| Mais de 11 anos | 14 (42,4%) | 10 (31,3%) | |
| Estado civil, N (%) | | | |
| Solteiro | 10 (30,3%) | 3 (9,4%) | 0,188 ^A |
| Casado | 14 (42,4%) | 16 (50%) | |
| Divorciado ou separado | 3 (9,1%) | 3 (9,4%) | |
| Viúvo | 6 (18,2%) | 10 (31,3%) | |
| HAS, N (%) | 20 (60,6%) | 16 (50%) | 0,390 ^A |
| DM, N (%) | 8 (24,2%) | 5 (15,6%) | 0,385 ^A |
| Dislipidemia, N (%) | 10 (30,3%) | 8 (25%) | 0,633 ^A |
| Uso de estatina, N (%) | 10 (30,3%) | 8 (25%) | 0,633 ^A |
| Atividade física, N (%) | 18 (62,1%) | 11 (34,4%) | 0,058 ^A |
| IMC (kg/m ²) | 29,27 ± 42,43 | 25,37 ± 3,94 | 0,001^B |
| Circunferência abdominal (cm) | 101,49 ± 15,39 | 86,87 ± 14,11 | 0,001^B |
| Homens | 110,10 ± 15,92 | 93 ± 14,58 | 0,064 ^B |
| Mulheres | 99,11 ± 14,82 | 84,36 ± 13,45 | 0,002^B |
| MEEM | 28 (5,25) | 14 (13,25) | <0,001^C |

^ATeste Qui-Quadrado de *Pearson* (valores expressos como frequência absoluta e relativa).

^BTeste *t* de *Student* (valores expressos como média e desvio padrão).

^CTeste de *Mann-Whitney* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; DM = diabetes mellitus; HAS = hipertensão arterial sistêmica; IMC = índice de massa corporal; MEEM = Mini exame do estado mental.

As características demográficas e clínicas dos participantes, comparando-se os grupos controle, DA e DFT, estão apresentadas na **Tabela 13**. Pacientes com DA apresentaram menor escolaridade em comparação aos controles, mas esta diferença não foi encontrada para os pacientes com DFT. Os controles, por sua vez, apresentaram IMC e medida da circunferência abdominal maiores, em

comparação tanto aos pacientes com DA, quanto aos com DFT. Interessante notar que a medida circunferência abdominal também foi significativamente maior nos pacientes com DA, comparando-se aos indivíduos com DFT. Ao avaliar este parâmetro em relação ao sexo, observou-se estas mesmas diferenças, mas somente entre as mulheres. Ainda, ambos os grupos de pacientes apresentaram menor pontuação no MEEM em relação aos controles, mas esta não foi diferente entre os dois tipos de demência.

Adicionalmente, na Tabela 12 também estão apresentados dados clínicos que estavam disponíveis apenas para pacientes com DA, tais como idade de início dos sintomas e da primeira consulta, tempo decorrido desde esta e a pontuação no primeiro MEEM realizado. Também estão apresentados os valores dos marcadores A β ₁₋₄₂, tau total e p-tau dosados no LCR, descritos em prontuário. Interessante observar que, do tempo decorrido desde a primeira consulta, que foi de cerca de 4 anos, a pontuação no MEEM reduziu (de 19 para 16,5), o que é um demonstrativo da progressão da doença.

Tabela 13. Características demográficas e clínicas dos grupos controle, DA e DFT.

| | Controle (N = 33) | DA (N =23) | DFT (N = 9) | p |
|------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|
| Sexo, N (%) | | | | |
| Feminino | 25 (75,8%) | 17 (73,9%) | 6 (66,7%) | 0,860 ^A |
| Masculino | 8 (24,2%) | 6 (26,1%) | 3 (33,3%) | |
| Idade (anos) | 71 ± 8 | 72 ± 11 | 71 ± 9 | 0,835 ^B |
| Escolaridade (anos) | 12 ± 5 | 8 ± 4 | 10 ± 5 | 0,017^{B,1} |
| Analfabeto | 0 | 1 (4,3%) | 0 | 0,010^A |
| 1 a 4 anos | 5 (15,2%) | 6 (26,1%) | 3 (33,3%) | |
| 5 a 8 anos | 0 | 6 (26,1%) | 0 | |
| 9 a 11 anos | 14 (42,4%) | 5 (21,7%) | 1 (11,1%) | |
| Mais de 11 anos | 14 (42,4%) | 5 (21,7%) | 5 (55,6%) | |
| Estado civil, N (%) | | | | |
| Solteiro | 10 (30,3%) | 3 (13%) | 0 | |
| Casado | 14 (42,4%) | 11 (47,8%) | 5 (55,6%) | 0,269 ^A |
| Divorciado ou separado | 3 (9,1%) | 3 (13%) | 0 | |
| Viúvo | 6 (18,2%) | 6 (26,1%) | 4 (44,4%) | |

Tabela 13. Características demográficas e clínicas dos grupos controle, DA e DFT (continuação).

| | Controle (N = 33) | DA (N =23) | DFT (N = 9) | p |
|--|------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------|
| HAS, N (%) | 20 (60,6%) | 11 (47,8%) | 5 (55,6%) | 0,639 ^A |
| DM, N (%) | 8 (24,2%) | 4 (17,4%) | 1 (11,1%) | 0,633 ^A |
| Dislipidemia, N (%) | 10 (30,3%) | 8 (34,8%) | 0 | 0,126 ^A |
| Uso de estatina, N (%) | 10 (30,3%) | 8 (34,8%) | 0 | 0,126 ^A |
| Atividade física, N (%) | 18 (62,1%) | 9 (39,1%) | 2 (22,2%) | 0,077 ^A |
| IMC (kg/m ²) | 29,27 ± 42,43 | 26,04 ± 4,12 | 23,46 ± 2,82 | 0,002 ^{B,2} |
| Circunferência abdominal (cm) | 101,49 ± 15,39 | 90,67 ± 13,28 | 75,94 ± 10,71 | < 0,001 ^{B,3} |
| Homens | 110,10 ± 15,92 | 97,17 ± 16,06 | 84,67 ± 7,02 | 0,099 |
| Mulheres | 99,11 ± 14,82 | 88,38 ± 11,86 | 70,70 ± 9,19 | < 0,001 ^{C,4} |
| MEEM | 28 (5,25) | 16,5 (11,5) | 11 (18) | < 0,001 ^{C,5} |
| MEEM na primeira consulta | - | 19 (9,25) | - | - |
| Idade de início dos sintomas (anos) | - | 65 ± 9,93 | - | - |
| Idade na primeira consulta (anos) | - | 68 ± 10,76 | - | - |
| Tempo desde a primeira consulta (anos) | - | 4 ± 2,59 | - | - |
| Dosagem em LCR, N (%) | - | 8 (34,8%) | - | - |
| Aβ ₄₂ (ng/L) | - | 594,93 ± 149,06 | - | - |
| tau total (ng/L) | - | 717,33 ± 342,66 | - | - |
| P-tau (ng/L) | - | 78,69 ± 25,48 | - | - |

^ATeste Qui-Quadrado de *Pearson* (valores expressos como frequência absoluta e relativa).

^BANOVA de uma via (valores expressos como média e desvio padrão). ^CTeste de *Kruskal-Wallis* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

¹Pós-teste de *Tukey*: *p* controle vs DA = **0,013**; *p* controle vs DFT = 0,456; *p* DA vs DFT = 0,655.

²Pós-teste de *Tukey*: *p* controle vs DA = **0,025**; *p* controle vs DFT = **0,003**; *p* DA vs DFT = 0,287.

³Pós-teste de *Tukey*: *p* controle vs DA = **0,029**; *p* controle vs DFT **< 0,001**; *p* DA vs DFT = **0,034**.

⁴Pós-teste de *Tukey*: *p* controle vs DA = **0,049**; *p* controle vs DFT **< 0,001**; *p* DA vs DFT = **0,031**.

⁵Pós-teste de *Dunn*: *p* controle vs DA **< 0,001**; *p* controle vs DFT **< 0,001**; *p* DA vs DFT = 0,780.

Resultados com *p* < 0,05 (significativos) estão destacados em negrito e sombreados.

Aβ₁₋₄₂ = peptídeo β-amilóide 1-42; DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; DM = diabetes mellitus; HAS = hipertensão arterial sistêmica; IMC = índice de massa corporal; LCR = líquido cefalorraquidiano; MEEM = Mini exame do estado mental; p-tau = proteína tau fosforilada.

II. 6.3 Avaliação do perfil lipídico e de outros parâmetros bioquímicos

Dentre os parâmetros do perfil lipídico avaliados, observou-se diferença significativa somente em relação ao LDLc, que foi maior nos pacientes com demência, em comparação aos controles (**Tabela 14**).

Tabela 14. Níveis séricos de parâmetros do perfil lipídico comparando-se os grupos controle e demência.

| | Controle (N = 33) | Pacientes com demência (N = 32) | p |
|------------------|------------------------------|--|--------------|
| CT (mg/dL) | 188,23 ± 52,56 | 208,88 ± 41,37 | 0,088 |
| LDLc (mg/dL) | 97,72 ± 48,15 | 120,43 ± 34,41 | 0,033 |
| HDLc (mg/dL) | 56,94 ± 9,59 | 59,78 ± 13,50 | 0,338 |
| Não HDLc (mg/dL) | 131,29 ± 50,73 | 149,09 ± 41,67 | 0,133 |
| TG (mg/dL) | 165,74 ± 107,68 | 167 ± 111,43 | 0,964 |

Teste *t* de *Student* (valores expressos como média e desvio padrão). Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. CT = colesterol total; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; TG = triglicérides.

Já na comparação entre os grupos controle, DA e DFT, os parâmetros do perfil lipídico não foram diferentes entre os grupos (**Tabela 15**).

Tabela 15. Níveis séricos de parâmetros do perfil lipídico comparando-se os grupos controle, DA e DFT.

| | Controle (N = 33) | DA (N = 23) | DFT (N = 9) | p |
|------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|----------|
| CT (mg/dL) | 188,23 ± 52,56 | 208,87 ± 44,40 | 208,89 ± 34,83 | 0,235 |
| LDLc (mg/dL) | 97,72 ± 48,15 | 118,88 ± 36,82 | 124,39 ± 28,90 | 0,099 |
| HDLc (mg/dL) | 56,94 ± 9,59 | 60,52 ± 14,36 | 57,89 ± 11,57 | 0,542 |
| Não HDLc (mg/dL) | 131,29 ± 50,73 | 148,35 ± 45,38 | 151 ± 32,58 | 0,322 |
| TG (mg/dL) | 165,74 ± 107,68 | 172,30 ± 121,29 | 153,44 ± 85,85 | 0,909 |

ANOVA de uma via (valores expressos como média e desvio padrão). CT = colesterol total; DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; TG = triglicérides.

Nas análises adicionais dos outros parâmetros bioquímicos, todavia, observou-se que os valores de creatinina foram maiores nos pacientes com demência, em comparação aos controles (**Tabela 16**).

Tabela 16. Níveis séricos de outros parâmetros bioquímicos comparando-se os grupos controle e demência.

| | Controle (N = 33) | Pacientes com demência (N = 32) | p |
|--------------------|----------------------|------------------------------------|--------------------------|
| ALT (U/L) | 15,5 (9,5) | 13,5 (8,5) | 0,262 ^A |
| AST (U/L) | 20,32 ± 4,39 | 21,56 ± 6,07 | 0,358 ^B |
| GGT (U/L) | 19 (35,25) | 17 (10,25) | 0,093 ^A |
| Creatinina (mg/dL) | 0,87 ± 0,16 | 1,01 ± 0,22 | 0,004^B |
| PCR (mg/L) | 1,10 (1,14) | 1,23 (1,67) | 0,257 ^A |

^ATeste de *Mann-Whitney* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

^BTeste *t* de *Student* (valores expressos como média e desvio padrão). Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; GGT = gama-glutamil transferase; PCR = proteína C reativa.

Comparando-se os três grupos, observou-se que esta diferença foi encontrada somente entre pacientes com DA, em relação aos controles (**Tabela 17**).

Tabela 17. Níveis séricos de outros parâmetros bioquímicos comparando-se os grupos controle, DA e DFT.

| | Controle (N = 33) | DA (N = 23) | DFT (N = 9) | p |
|--------------------|----------------------|----------------|----------------|----------------------------|
| ALT (U/L) | 15,5 (9,5) | 15,5 (8,5) | 9 (4,25) | 0,062 ^A |
| AST (U/L) | 20,32 ± 4,39 | 21,83 ± 6,28 | 20,89 ± 5,80 | 0,595 ^B |
| GGT (U/L) | 19 (35,25) | 17,5 (9,5) | 15,5 (18) | 0,170 ^A |
| Creatinina (mg/dL) | 0,87 ± 0,16 | 1,04 ± 0,18 | 0,93 ± 0,30 | 0,005^{B,1} |
| PCR (mg/L) | 1,10 (1,14) | 1,33 (1,56) | 0,97 (2,31) | 0,517 ^A |

^ATeste de *Kruskal-Wallis* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

^BANOVA de uma via (valores expressos como média e desvio padrão).

¹Pós-teste de *Tukey*: p controle vs DA = **0,003**; p controle vs DFT = 0,689; p DA vs DFT = 0,256. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; GGT = gama-glutamil transferase; PCR = proteína C reativa.

II. 6.4 Avaliação de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3

Os valores plasmáticos dos mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3, comparando-se os grupos controle e pacientes com demência, estão apresentados na **Tabela 18**.

Tabela 18. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle e demência.

| | Controle (N = 33) | Pacientes com demência (N = 32) | <i>p</i> |
|----------------------|----------------------|------------------------------------|--------------|
| IL-1 β (pg/mL) | 17,79 (1,37) | 19,00 (2,65) | 0,005 |
| IL-18 (pg/mL) | 16,51 (14,65) | 22,40 (29,04) | 0,439 |
| Caspase-1 (ng/mL) | 0,22 (0,04) | 0,20 (0,20) | 0,892 |

Teste de *Mann-Whitney* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1). Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL = interleucina.

Pacientes com demência apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de IL-1 β , em comparação aos controles (**Figura 18A**). Entretanto, para IL-18 e caspase-1, não houve diferença entre os grupos (**Figura 18B e C**, respectivamente).

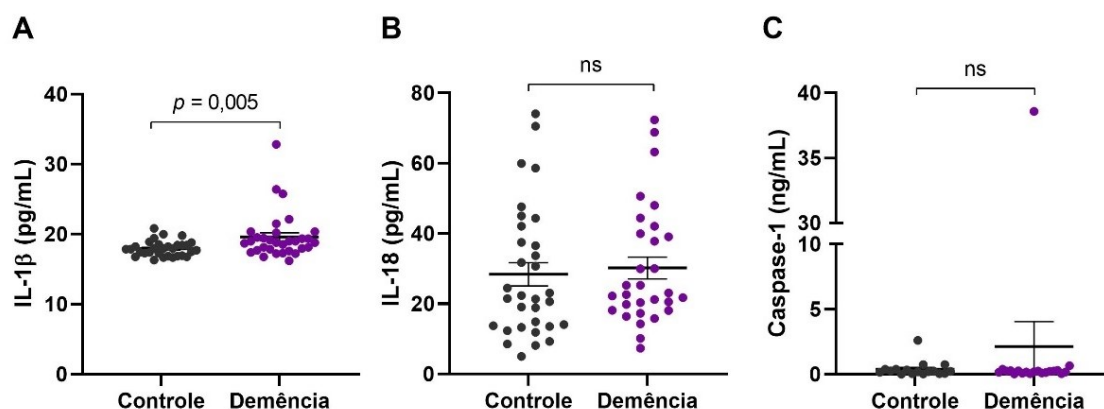


Figura 18. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle e demência. IL = interleucina; ns = não significativo.

Resultados semelhantes foram encontrados nas comparações entre os três grupos. Neste caso, observou-se que os níveis plasmáticos de IL-1 β estavam mais elevados nos pacientes com DA, quando comparados aos controles, mas esta diferença não foi observada para os pacientes com DFT (**Figura 19A**). Os valores plasmáticos destes mediadores inflamatórios, para cada grupo, estão apresentados na **Tabela 19**.

Tabela 19. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle, DA e DFT.

| | Controle (N = 33) | DA (N = 23) | DFT (N = 9) | p |
|----------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| IL-1 β (pg/mL) | 17,79 (1,37) | 19,28 (2,99) | 17,38 (1,35) | 0,017¹ |
| IL-18 (pg/mL) | 16,51 (14,65) | 21,97 (18,11) | 36,62 (48,32) | 0,620 |
| Caspase-1 (ng/mL) | 0,22 (0,04) | 0,18 (0,21) | 0,25 (0,45) | 0,864 |

Teste de *Kruskal-Wallis* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

¹Pós-teste de *Dunn*: p controle vs DA = **0,016**; p controle vs DFT = 0,432; p DA vs DFT = 0,999.

Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados.

DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; IL = interleucina.

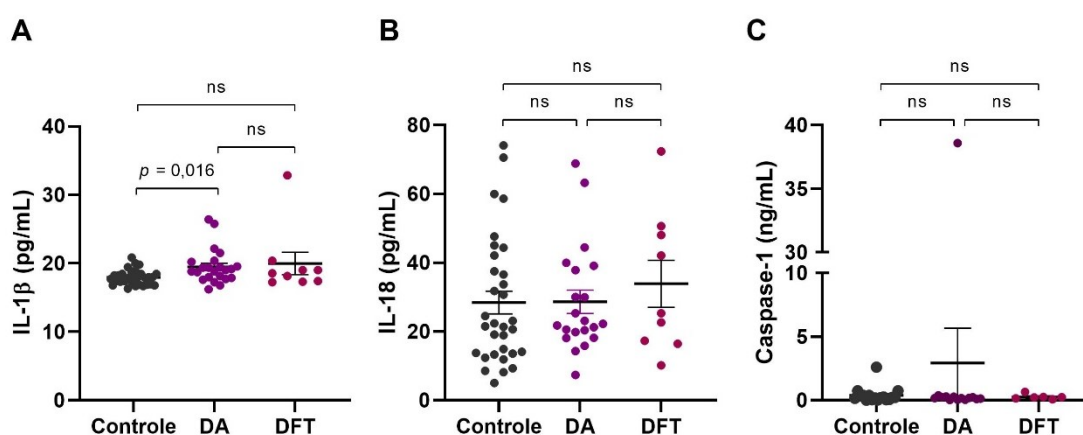


Figura 19. Níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 comparando-se os grupos controle, DA e DFT. DA = doença de Alzheimer, DFT = demência fronto-temporal; IL = interleucina; ns = não significativo.

II. 6.5 Avaliação de outras citocinas inflamatórias

Os pacientes com demência apresentaram níveis mais elevados de todas as outras citocinas inflamatórias avaliadas (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF) em comparação aos controles (**Figura 20**), cujos valores estão apresentados na **Tabela 20**.

Tabela 20. Níveis plasmáticos de IL-6, IL-8, IL-10, IL12p10 e TNF comparando-se os grupos controle e demência.

| | Controle (N = 33) | Pacientes com demência (N = 32) | <i>p</i> |
|------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------|
| IL-6 (pg/mL) | 13,20 (2,35) | 14,26 (5,66) | 0,004^A |
| IL-8 (pg/mL) | 30,05 (5,55) | 33,23 (4,33) | <0,001^A |
| IL-10 (pg/mL) | 6,70 ± 1,09 | 7,46 ± 1,59 | 0,032^B |
| IL-12p70 (pg/mL) | 10,58 (1,44) | 11,33 (1,68) | 0,008^A |
| TNF (pg/mL) | 7,95 (0,71) | 8,38 (1,75) | 0,005^A |

^ATeste de *Mann-Whitney* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

^BTeste *t* de *Student* (valores expressos como média e desvio padrão). Resultados com *p* < 0,05 (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral.

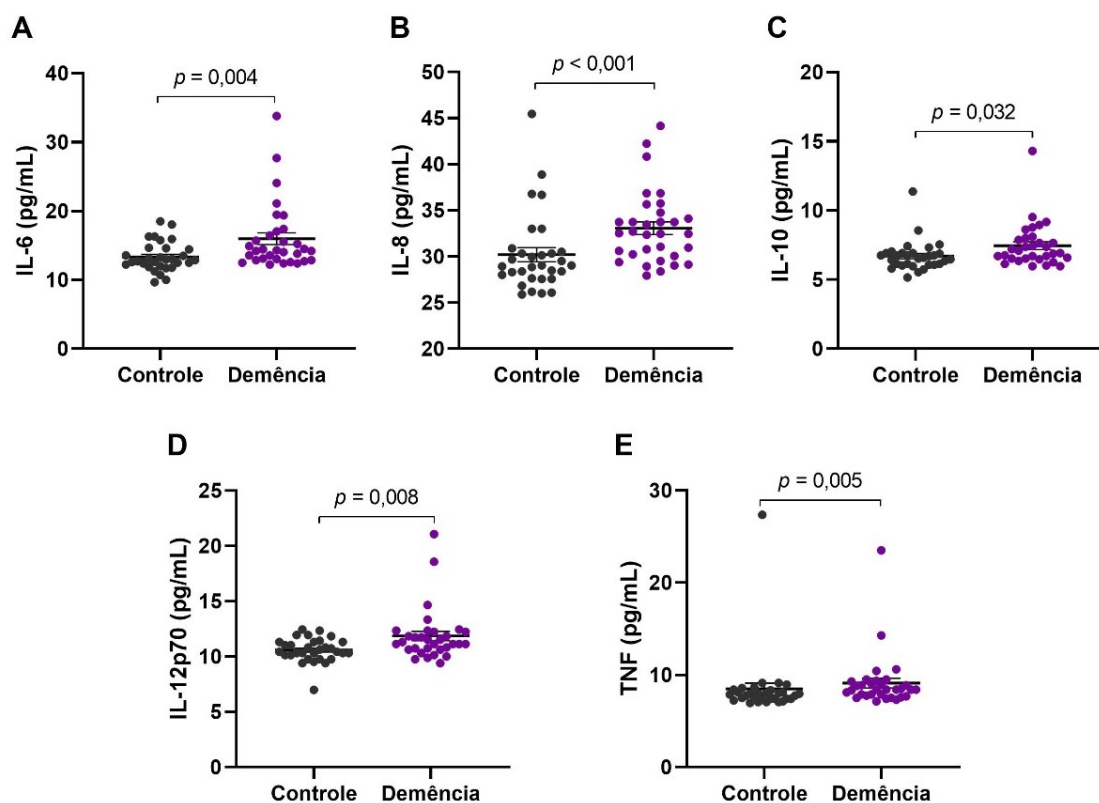


Figura 20. Níveis plasmáticos de IL-6 (A), IL-8 (B), IL-10 (C), IL12p10 (D) e TNF (E) comparando-se os grupos controle e demência. IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; ns = não significativo.

Na comparação entre os três grupos, cujos valores plasmáticos das citocinas estão dispostos na **Tabela 21**, não houve diferença significativa somente para IL-10 (**Figura 21C**). IL-6, IL-12p70 e TNF estavam mais elevadas nos pacientes com DA em comparação aos controles (**Figura 21A, D e E**, respectivamente). Já IL-8 estava mais elevada em ambos os grupos DA e DFT, comparando-se aos controles (**Figura 21B**).

Tabela 21. Níveis plasmáticos de IL-6, IL-8, IL-10, IL12p10 e TNF comparando-se os grupos controle, DA e DFT.

| | Controle (N = 33) | DA (N =23) | DFT (N = 9) | p |
|------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------|
| IL-6 (pg/mL) | 13,20 (2,35) | 15,39 (7,46) | 13,16 (1,62) | 0,006 ^{A,1} |
| IL-8 (pg/mL) | 30,05 (5,55) | 33,92 (5,40) | 32,45 (3,30) | 0,002 ^{A,2} |
| IL-10 (pg/mL) | 6,70 ± 1,09 | 7,52 ± 0,94 | 7,29 ± 2,70 | 0,095 ^B |
| IL-12p70 (pg/mL) | 10,58 (1,44) | 11,64 (1,75) | 10,73 (1,20) | 0,025 ^{A,3} |
| TNF (pg/mL) | 7,95 (0,71) | 8,69 (1,80) | 7,78 (0,88) | 0,021 ^{A,4} |

^ATeste de *Kruskal-Wallis* (valores expressos como mediana e intervalo interquartil: Q3-Q1).

^BANOVA de uma via (valores expressos como média e desvio padrão).

¹Pós-teste de *Dunn*: p controle vs DA = **0,004**; p controle vs DFT = 0,999; p DA vs DFT = 0,408.

²Pós-teste de *Dunn*: p controle vs DA = **0,004**; p controle vs DFT = **0,032**; p DA vs DFT = 0,999.

³Pós-teste de *Dunn*: p controle vs DA = **0,025**; p controle vs DFT = 0,464; p DA vs DFT = 0,999.

⁴Pós-teste de *Dunn*: p controle vs DA = **0,031**; p controle vs DFT = 0,206; p DA vs DFT = 0,999.

Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados.

DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral.

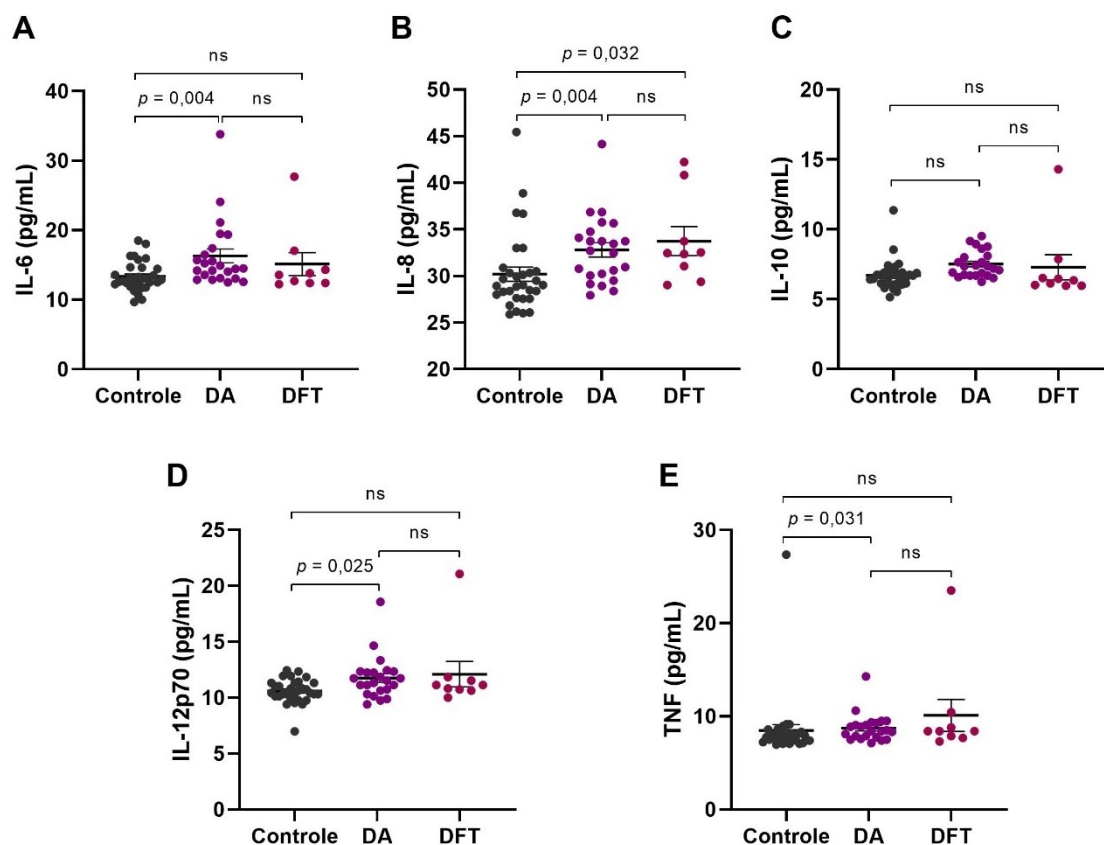


Figura 21. Níveis plasmáticos de IL-6, IL-8, IL-10, IL12p10 e TNF comparando-se os grupos controle, DA e DFT. DA = doença de Alzheimer; DFT = demência fronto-temporal; IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; ns = não significativo.

II. 6.6 Avaliação da associação de mediadores inflamatórios por regressão logística

II. 6.6.1 Associação dos mediadores inflamatórios à demência

Nas análises realizadas para avaliar a associação de cada mediador inflamatório à demência (regressão logística univariada), IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12p70 demonstraram estar associadas a esta condição clínica (**Tabela 22**). Entretanto, ao incluir estes mediadores inflamatórios em um mesmo modelo estatístico (regressão logística multivariada), ajustando-se para os principais fatores de confusão, não foram encontradas associações, ou seja, (**Tabela 23**) nenhuma destas citocinas apresentou-se associada de forma independente à demência. Os fatores de confusão incluídos no modelo foram: idade, sexo, escolaridade, MEEM, HAS, DM, dislipidemia, IMC e circunferência abdominal.

Tabela 22. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à demência por análise univariada.

| | OR | <i>p</i> |
|--------------|------|--------------|
| IL-1 β | 1,73 | 0,016 |
| IL-18 | 1,01 | 0,686 |
| Caspase-1 | 1,08 | 0,537 |
| IL-6 | 1,35 | 0,017 |
| IL-8 | 1,21 | 0,014 |
| IL-10 | 1,75 | 0,049 |
| IL-12p70 | 2,01 | 0,016 |
| TNF | 1,07 | 0,452 |

Regressão logística univariada. Cada mediador inflamatório foi incluído como variável independente em modelos separados, e, em todos, a presença de demência foi incluída como variável dependente. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL= interleucina; OR = *odds ratio*.

Tabela 23. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à demência por análise multivariada.

| | OR | <i>p</i> |
|--------------|--------------------|----------|
| IL-1 β | $9,18 \times 10^5$ | 0,998 |
| IL-6 | $9,18 \times 10^4$ | 0,997 |
| IL-8 | 1,23 | 1,000 |
| IL-10 | $1,16 \times 10^3$ | 0,999 |
| IL-12p70 | $1,08 \times 10^5$ | 0,998 |

Regressão logística multivariada. Todos os mediadores inflamatórios foram incluídos no mesmo modelo como variáveis independentes, juntamente com as variáveis de confusão: idade, sexo, escolaridade, mini-exame do estado mental, hipertensão arterial sistêmica, diabetes melitus, dislipidemia, índice de massa corporal e circunferência abdominal. A presença de demência foi incluída como variável dependente. p Hosmer e Lemeshow = 1,000. IL= interleucina; OR = *odds ratio*.

II. 6.6.2 Associação de mediadores inflamatórios à DA

Os mesmos resultados para as associações com demência foram encontrados nas análises realizadas para avaliar a associação dos mediadores inflamatórios à DA. Na regressão logística univariada, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12p70 demonstraram estar associadas à doença (**Tabela 24**).

Tabela 24. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à DA por análise univariada.

| | OR | <i>p</i> |
|--------------|------|--------------|
| IL-1 β | 1,83 | 0,014 |
| IL-18 | 1,00 | 0,962 |
| Caspase-1 | 1,09 | 0,488 |
| IL-6 | 1,44 | 0,010 |
| IL-8 | 1,19 | 0,034 |
| IL-10 | 2,35 | 0,015 |
| IL-12p70 | 2,10 | 0,015 |
| TNF | 1,03 | 0,745 |

Regressão logística univariada. Cada mediador inflamatório foi incluído como variável independente em modelos separados, e, em todos, a presença de DA foi incluída como variável dependente. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL= interleucina; OR = *odds ratio*.

No entanto, ao incluir estes mediadores inflamatórios no mesmo modelo estatístico (regressão logística multivariada), ajustando-se para os principais fatores de confusão (idade, sexo, escolaridade, MEEM, HAS, DM, dislipidemia, IMC e circunferência abdominal), não foram encontradas associações (**Tabela 25**). Assim, este resultado indica que nenhuma destas citocinas apresentou-se independentemente associada à DA.

Tabela 25. Avaliação da associação dos mediadores inflamatórios à DA por análise multivariada.

| | OR | <i>p</i> |
|--------------|-----------------------|----------|
| IL-1 β | $3,86 \times 10^{55}$ | 0,976 |
| IL-6 | $2,81 \times 10^{17}$ | 0,977 |
| IL-8 | $9,22 \times 10^7$ | 0,977 |
| IL-10 | 0 | 0,981 |
| IL-12p70 | $3,16 \times 10^{27}$ | 0,978 |

Regressão logística multivariada. Todos os mediadores inflamatórios foram incluídos no mesmo modelo como variáveis independentes, juntamente com as variáveis de confusão: idade, sexo, escolaridade, mini-exame do estado mental, hipertensão arterial sistêmica, diabetes melitus, dislipidemia, índice de massa corporal e circunferência abdominal. A presença de DA foi incluída como variável dependente. p Hosmer e Lemeshow = 1,000. IL= interleucina; OR = *odds ratio*.

II. 6.7 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo

II. 6.7.1 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e parâmetros do perfil lipídico

Não observou-se correlações significativas entre MEEM e os parâmetros do perfil lipídico, em nenhum dos grupos. A respeito das medidas antropométricas, no grupo controle, também não foram observadas correlações significativas destas com os lipídios circulantes dosados, como pode ser visto na **Tabela 26**. Por outro lado, no grupo de pacientes com demência, observou-se correlação negativa fraca entre a medida da circunferência abdominal e o CT (**Tabela 27**).

Tabela 26. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com parâmetros do perfil lipídico no grupo controle.

| | | Controle (N = 33) | | |
|----------|-----|-------------------|-------|--------------------------|
| | | MEEM | IMC | Circunferência abdominal |
| CT | rho | 0,077 | 0,204 | -0,186 |
| | p | 0,720 | 0,338 | 0,384 |
| LDLc | rho | 0,102 | 0,146 | -0,211 |
| | p | 0,636 | 0,496 | 0,322 |
| HDLc | rho | 0,177 | 0,111 | 0,180 |
| | p | 0,409 | 0,605 | 0,399 |
| Não HDLc | rho | 0,048 | 0,146 | -0,265 |
| | p | 0,823 | 0,496 | 0,211 |
| TG | rho | -0,257 | 0,320 | -0,165 |
| | p | 0,226 | 0,128 | 0,441 |

Teste de correlação de *Spearman*. CT = colesterol total; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; IMC = índice de massa corporal; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; MEEM = Mini exame do estado mental; TG = triglicérides.

Tabela 27. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com parâmetros do perfil lipídico no grupo de pacientes com demência (DA + DFT).

| | | Pacientes com demência (N = 32) | | |
|----------|----------|---------------------------------|--------|--------------------------|
| | | MEEM | IMC | Circunferência abdominal |
| CT | rho | -0,010 | -0,202 | -0,367 |
| | <i>p</i> | 0,958 | 0,275 | 0,043 |
| LDLc | rho | -0,028 | -0,204 | -0,323 |
| | <i>p</i> | 0,889 | 0,271 | 0,076 |
| HDLc | rho | 0,112 | -0,271 | -0,208 |
| | <i>p</i> | 0,570 | 0,141 | 0,262 |
| Não HDLc | rho | -0,004 | -0,103 | -0,290 |
| | <i>p</i> | 0,984 | 0,583 | 0,114 |
| TG | rho | 0,094 | 0,355 | 0,130 |
| | <i>p</i> | 0,635 | 0,050 | 0,486 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. CT = colesterol total; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; IMC = índice de massa corporal; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; MEEM = Mini exame do estado mental; TG = triglicérides.

No grupo de pacientes somente com DA, além de ter sido observada correlação negativa moderada entre a medida da circunferência abdominal e o CT, a medida da circunferência abdominal também se correlacionou de forma negativa com os valores de LDLc (**Tabela 28**).

Tabela 28. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com parâmetros do perfil lipídico no grupo de pacientes com DA.

| | | DA (N = 23) | | |
|----------|-----|-------------|--------|--------------------------|
| | | MEEM | IMC | Circunferência abdominal |
| CT | rho | 0,045 | -0,280 | -0,514 |
| | p | 0,845 | 0,196 | 0,012 |
| LDLc | rho | 0,043 | -0,267 | -0,435 |
| | p | 0,853 | 0,218 | 0,038 |
| HDLc | rho | 0,256 | -0,172 | -0,306 |
| | p | 0,262 | 0,432 | 0,155 |
| Não HDLc | rho | -0,020 | -0,215 | -0,393 |
| | p | 0,933 | 0,323 | 0,064 |
| TG | rho | -0,207 | 0,173 | -0,025 |
| | p | 0,368 | 0,429 | 0,909 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. CT = colesterol total; DA = doença de Alzheimer; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; IMC = índice de massa corporal; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; MEEM = Mini exame do estado mental; TG = triglicérides.

II. 6.7.2 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e mediadores inflamatórios

A pontuação no MEEM não correlacionou-se aos níveis dos mediadores inflamatórios periféricos, em nenhum dos grupos. Já em relação às medidas antropométricas, no grupo controle, tanto o IMC quanto a circunferência abdominal apresentaram correlação negativa forte e moderada, respectivamente, com os níveis de caspase-1 plasmáticos (**Tabela 29**).

Tabela 29. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com mediadores inflamatórios no grupo controle.

| | | Controle (N = 33) | | |
|--------------|-----|--------------------------|---------------|--------------------------|
| | | MEEM | IMC | Circunferência abdominal |
| IL-1 β | rho | -0,172 | -0,010 | -0,201 |
| | p | 0,422 | 0,963 | 0,346 |
| IL-18 | rho | -0,070 | -0,023 | -0,114 |
| | p | 0,745 | 0,916 | 0,597 |
| Caspase-1 | rho | 0,426 | -0,788 | -0,581 |
| | p | 0,129 | 0,001 | 0,029 |
| IL-6 | rho | -0,266 | 0,248 | 0,215 |
| | p | 0,208 | 0,242 | 0,313 |
| IL-8 | rho | -0,395 | 0,099 | 0,007 |
| | p | 0,056 | 0,646 | 0,973 |
| IL-10 | rho | -0,030 | 0,006 | -0,112 |
| | p | 0,889 | 0,979 | 0,604 |
| IL-12p70 | rho | 0,086 | 0,048 | 0,017 |
| | p | 0,691 | 0,822 | 0,935 |
| TNF | rho | -0,126 | -0,048 | 0,015 |
| | p | 0,557 | 0,824 | 0,943 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL = interleucina; IMC = índice de massa corporal; MEEM = Mini exame do estado menta; TNF = fator de necrose tumoral.

No grupo de pacientes com demência, por sua vez, além de correlação negativa moderada entre IMC e caspase-1, ambos IMC e circunferência abdominal apresentaram correlação positiva moderada com IL-18 (**Tabela 30**).

Tabela 30. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com demência (DA + DFT).

| | | Pacientes com demência (N = 32) | | |
|--------------|-----|---------------------------------|---------------|--------------------------|
| | | MEEM | IMC | Circunferência abdominal |
| IL-1 β | rho | 0,260 | -0,026 | 0,049 |
| | p | 0,182 | 0,888 | 0,793 |
| IL-18 | rho | 0,154 | 0,586 | 0,422 |
| | p | 0,453 | 0,001 | 0,022 |
| Caspase-1 | rho | -0,354 | -0,528 | -0,403 |
| | p | 0,164 | 0,020 | 0,087 |
| IL-6 | rho | 0,268 | 0,270 | 0,285 |
| | p | 0,168 | 0,141 | 0,121 |
| IL-8 | rho | 0,050 | 0,153 | 0,037 |
| | p | 0,801 | 0,412 | 0,844 |
| IL-10 | rho | 0,089 | 0,116 | 0,230 |
| | p | 0,653 | 0,533 | 0,212 |
| IL-12p70 | rho | 0,190 | 0,226 | 0,128 |
| | p | 0,332 | 0,222 | 0,492 |
| TNF | rho | 0,348 | 0,131 | 0,161 |
| | p | 0,070 | 0,481 | 0,388 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. IL = interleucina; IMC = índice de massa corporal; MEEM = Mini exame do estado mental; TNF = fator de necrose tumoral.

De maneira similar, avaliando somente os pacientes com DA, também observou-se correlação negativa moderada entre IMC e caspase-1, e correlação positiva moderada de IMC e circunferência abdominal com IL-18 (**Tabela 31**).

Tabela 31. Correlações entre MEEM e medidas antropométricas com mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com DA.

| | | DA (N = 23) | | |
|--------------|-----|-------------|---------------|--------------------------|
| | | MEEM | IMC | Circunferência abdominal |
| IL-1 β | rho | 0,302 | -0,025 | 0,023 |
| | p | 0,183 | 0,909 | 0,915 |
| IL-18 | rho | 0,045 | 0,635 | 0,596 |
| | p | 0,854 | 0,002 | 0,004 |
| Caspase-1 | rho | -0,333 | -0,543 | -0,486 |
| | p | 0,266 | 0,045 | 0,078 |
| IL-6 | rho | 0,189 | 0,292 | 0,246 |
| | p | 0,412 | 0,177 | 0,257 |
| IL-8 | rho | 0,078 | 0,143 | 0,108 |
| | p | 0,738 | 0,515 | 0,625 |
| IL-10 | rho | 0,123 | 0,199 | 0,272 |
| | p | 0,596 | 0,363 | 0,209 |
| IL-12p70 | rho | 0,269 | 0,315 | 0,200 |
| | p | 0,239 | 0,143 | 0,359 |
| TNF | rho | 0,433 | 0,210 | 0,328 |
| | p | 0,050 | 0,335 | 0,127 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. DA = doença de Alzheimer; IL = interleucina; IMC = índice de massa corporal; MEEM = Mini exame do estado mental; TNF = fator de necrose tumoral.

II. 6.7.3 Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios

No grupo controle, observou-se correlações positivas fracas de TG com IL-1 β e IL-10; assim como correlações negativas moderadas de HDLc com IL-10, IL-12p70 e TNF (**Tabela 32**).

Tabela 32. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios no grupo controle.

| | | Controle (N = 33) | | | | |
|--------------|-----|-------------------|--------|---------------|----------|--------------|
| | | CT | LDLc | HDLc | Não HDLc | TG |
| IL-1 β | rho | 0,249 | 0,225 | -0,326 | 0,341 | 0,363 |
| | p | 0,185 | 0,223 | 0,078 | 0,065 | 0,049 |
| IL-18 | rho | 0,081 | -0,085 | -0,313 | 0,126 | 0,230 |
| | p | 0,670 | 0,643 | 0,093 | 0,508 | 0,221 |
| Caspase-1 | rho | -0,174 | -0,211 | -0,137 | -0,167 | -0,147 |
| | p | 0,504 | 0,416 | 0,600 | 0,522 | 0,573 |
| IL-6 | rho | -0,015 | 0,067 | -0,552 | 0,068 | 0,308 |
| | p | 0,938 | 0,720 | 0,002 | 0,722 | 0,097 |
| IL-8 | rho | -0,022 | 0,035 | -0,305 | 0,035 | 0,247 |
| | p | 0,908 | 0,853 | 0,101 | 0,856 | 0,188 |
| IL-10 | rho | 0,203 | 0,239 | -0,418 | 0,294 | 0,389 |
| | p | 0,282 | 0,195 | 0,022 | 0,114 | 0,034 |
| IL-12p70 | rho | 0,149 | 0,190 | -0,430 | 0,217 | 0,169 |
| | p | 0,431 | 0,305 | 0,018 | 0,249 | 0,372 |
| TNF | rho | -0,040 | -0,072 | -0,404 | 0,008 | -0,022 |
| | p | 0,832 | 0,700 | 0,027 | 0,968 | 0,909 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. CT = colesterol total; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; IL = interleucina; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; TG = triglicérides; TNF = fator de necrose tumoral.

Por outro lado, no grupo de pacientes com demência, houve somente correlações positivas moderadas de caspase-1 com CT e LDLc e não HDLc (**Tabela 33**).

Tabela 33. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com demência.

| | | Pacientes com demência (N = 32) | | | | |
|--------------|-----|---------------------------------|--------------|--------|--------------|--------|
| | | CT | LDLc | HDLc | Não HDLc | TG |
| IL-1 β | rho | 0,093 | 0,110 | 0,160 | 0,006 | -0,294 |
| | p | 0,611 | 0,550 | 0,383 | 0,976 | 0,103 |
| IL-18 | rho | -0,113 | -0,052 | -0,199 | -0,016 | 0,189 |
| | p | 0,550 | 0,786 | 0,292 | 0,931 | 0,316 |
| Caspase-1 | rho | 0,559 | 0,583 | -0,111 | 0,567 | 0,155 |
| | p | 0,010 | 0,007 | 0,642 | 0,009 | 0,514 |
| IL-6 | rho | -0,108 | -0,186 | 0,327 | -0,214 | -0,220 |
| | p | 0,555 | 0,309 | 0,068 | 0,239 | 0,227 |
| IL-8 | rho | 0,197 | 0,106 | -0,238 | 0,218 | 0,255 |
| | p | 0,281 | 0,566 | 0,190 | 0,231 | 0,159 |
| IL-10 | rho | 0,100 | 0,035 | 0,170 | 0,027 | -0,179 |
| | p | 0,585 | 0,850 | 0,351 | 0,882 | 0,326 |
| IL-12p70 | rho | 0,061 | 0,016 | 0,066 | 0,032 | 0,050 |
| | p | 0,739 | 0,930 | 0,721 | 0,861 | 0,788 |
| TNF | rho | 0,034 | 0,034 | -0,170 | 0,082 | 0,048 |
| | p | 0,852 | 0,852 | 0,353 | 0,654 | 0,794 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. CT = colesterol total; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; IL = interleucina; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; TG = triglicérides; TNF = fator de necrose tumoral.

De forma semelhante, no grupo de pacientes com DA, houve correlações positivas moderadas de caspase-1 com CT, LDLc e não HDLc, e, adicionalmente, de IL-8 com TG (**Tabela 34**).

Tabela 34. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios no grupo de pacientes com DA.

| | | DA (N = 23) | | | | |
|--------------|-----|--------------|--------------|--------|--------------|--------------|
| | | CT | LDLc | HDLc | Não HDLc | TG |
| IL-1 β | rho | -0,031 | -0,012 | 0,083 | -0,097 | -0,390 |
| | p | 0,889 | 0,957 | 0,706 | 0,661 | 0,066 |
| IL-18 | rho | -0,283 | -0,266 | -0,047 | -0,256 | -0,142 |
| | p | 0,213 | 0,243 | 0,838 | 0,263 | 0,538 |
| Caspase-1 | rho | 0,649 | 0,626 | -0,271 | 0,701 | 0,326 |
| | p | 0,012 | 0,017 | 0,349 | 0,005 | 0,256 |
| IL-6 | rho | -0,286 | -0,308 | 0,389 | -0,356 | -0,332 |
| | p | 0,186 | 0,152 | 0,067 | 0,095 | 0,122 |
| IL-8 | rho | 0,278 | 0,229 | -0,260 | 0,344 | 0,421 |
| | p | 0,199 | 0,294 | 0,232 | 0,108 | 0,045 |
| IL-10 | rho | -0,154 | -0,162 | -0,058 | -0,155 | -0,215 |
| | p | 0,482 | 0,461 | 0,791 | 0,481 | 0,326 |
| IL-12p70 | rho | -0,030 | -0,065 | 0,086 | -0,058 | 0,036 |
| | p | 0,891 | 0,767 | 0,696 | 0,792 | 0,870 |
| TNF | rho | -0,079 | -0,014 | -0,202 | 0,019 | -0,028 |
| | p | 0,719 | 0,950 | 0,355 | 0,932 | 0,900 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. CT = colesterol total; DA = doença de Alzheimer; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; IL = interleucina; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade; TG = triglicérides; TNF = fator de necrose tumoral.

II. 6.7.4 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo com os marcadores de LCR em pacientes com DA

Ao avaliar correlações entre dados clínicos e medidas antropométricas com os marcadores de LCR nos pacientes com DA (**Tabela 35**), observou-se correlação negativa forte entre idade na primeira consulta e A β ₁₋₄₂. Também houve correlação negativa forte entre IMC e p-tau.

Tabela 35. Correlações entre dados clínicos e medidas antropométricas com os marcadores de LCR em pacientes com DA.

| | | DA (N = 23) | | |
|----------------------------|-----|---------------------------|---------------|-----------|
| | | A β ₁₋₄₂ | p-tau | tau total |
| Idade na primeira consulta | rho | -0,775 | 0,299 | 0,228 |
| | p | 0,041 | 0,471 | 0,588 |
| MEEM | rho | -0,543 | -0,559 | 0,036 |
| | p | 0,266 | 0,192 | 0,939 |
| IMC | rho | -0,250 | -0,810 | -0,571 |
| | p | 0,589 | 0,015 | 0,139 |
| Circunferência abdominal | rho | -0,179 | -0,714 | -0,476 |
| | p | 0,702 | 0,047 | 0,233 |

Teste de correlação de *Spearman*. Resultados com $p < 0,05$ (significativos) estão destacados em negrito e sombreados. A β ₁₋₄₂ = peptídeo β -amilóide 1-42; DA = doença de Alzheimer; IMC = índice de massa corporal; LCR = líquido cefalorraquidiano; MEEM = Mini exame do estado mental; p-tau = proteína tau fosforilada.

Em contrapartida, parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios não correlacionaram-se aos marcadores de LCR nos pacientes com DA (**Tabela 36** e **Tabela 37**, respectivamente).

Tabela 36. Correlações entre parâmetros do perfil lipídico com os marcadores de LCR em pacientes com DA.

| | | DA (N = 23) | | |
|----------|-----|---------------------------|--------|-----------|
| | | A β ₁₋₄₂ | p-tau | tau total |
| CT | rho | 0,071 | 0,476 | -0,214 |
| | p | 0,879 | 0,233 | 0,610 |
| LDLc | rho | 0,143 | 0,214 | -0,429 |
| | p | 0,760 | 0,610 | 0,289 |
| HDLc | rho | -0,143 | 0,405 | 0,071 |
| | p | 0,760 | 0,320 | 0,867 |
| Não HDLc | rho | 0,143 | 0,310 | -0,333 |
| | p | 0,760 | 0,456 | 0,420 |
| TG | rho | -0,143 | -0,333 | -0,310 |
| | p | 0,760 | 0,420 | 0,456 |

Teste de correlação de *Spearman*. A β ₁₋₄₂ = peptídeo β -amilóide 1-42; CT = colesterol total; DA = doença de Alzheimer; HDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; LCR = líquido cefalorraquidiano; LDLc = colesterol presente na lipoproteína de alta densidade; p-tau = proteína tau fosforilada; TG = triglicérides.

Tabela 37. Correlações entre mediadores inflamatórios com os marcadores de LCR em pacientes com DA.

| | | DA (N = 23) | | |
|--------------|----------|---------------------------|--------|-----------|
| | | A β ₁₋₄₂ | p-tau | tau total |
| IL-1 β | rho | -0,180 | -0,240 | 0,000 |
| | <i>p</i> | 0,699 | 0,568 | 1,000 |
| IL-18 | rho | -0,657 | -0,750 | -0,500 |
| | <i>p</i> | 0,156 | 0,052 | 0,253 |
| Caspase-1 | rho | 0,100 | 0,714 | 0,714 |
| | <i>p</i> | 0,873 | 0,111 | 0,111 |
| IL-6 | rho | -0,036 | -0,333 | -0,310 |
| | <i>p</i> | 0,939 | 0,420 | 0,456 |
| IL-8 | rho | -0,750 | 0,048 | -0,143 |
| | <i>p</i> | 0,052 | 0,911 | 0,736 |
| IL-10 | rho | 0,143 | -0,429 | -0,548 |
| | <i>p</i> | 0,760 | 0,289 | 0,160 |
| IL-12p70 | rho | -0,342 | -0,539 | -0,395 |
| | <i>p</i> | 0,452 | 0,168 | 0,333 |
| TNF | rho | 0,198 | -0,611 | -0,455 |
| | <i>p</i> | 0,670 | 0,108 | 0,257 |

Teste de correlação de *Spearman*. A β ₁₋₄₂ = peptídeo β -amilóide 1-42; DA = doença de Alzheimer; IL = interleucina; LCR = líquido cefalorraquidiano; p-tau = proteína tau fosforilada; TNF = fator de necrose tumoral.

II. 7 DISCUSSÃO

II. 7.1 Seleção dos participantes do grupo caso

Como mencionado anteriormente, a DA é o tipo de demência mais prevalente no Brasil e no mundo, e foi o foco principal de investigação deste trabalho. Evidências apontam que o segundo tipo de demência com maior prevalência é a demência vascular (Souza *et al.*, 2019; Wolters; Ikram, 2019). Entretanto, no ambulatório onde foram selecionados os participantes do grupo caso do estudo, a síndrome demencial mais prevalente, após a DA, era a DFT. Tal situação pode estar associada ao fato de se tratar de um ambulatório voltado para o tratamento de doenças neurocognitivas específicas. Desta forma, optou-se por incluir indivíduos com esta condição clínica para compor o grupo de pacientes com demência (DA+DFT).

A DFT constitui um espectro de síndromes clínicas que se caracterizam pela deterioração das células nervosas nos lóbulos frontal e temporal anterior do cérebro (Mulkey, 2019). Quando observada em indivíduos com 65 anos ou mais, representa a terceira causa mais frequente de demência. Já em pessoas com menos de 65 anos, é a segunda causa mais prevalente de demência de início precoce, afetando principalmente aqueles com idades entre 45 e 65 anos (Khan; De Jesus, 2023). Esta condição clínica envolve regiões cerebrais que desempenham papéis essenciais na formação da personalidade, controle do comportamento, aprendizado de idiomas, motivação, pensamento abstrato e funções executivas (Chan *et al.*, 2011). As manifestações clínicas predominantes são mudanças comportamentais ou dificuldades na linguagem. Posteriormente, ocorre a perda das habilidades executivas e cognitivas (Khan; De Jesus, 2023).

A DFT abrange três classificações clínicas distintas: variante comportamental (*behavior variant fronto-temporal dementia* – bvFTD), afasia progressiva primária (*primary progressive aphasia* – PPA) e distúrbios de movimento, sendo as duas primeiras as mais prevalentes (National Institutes of Health, 2021). Essas categorias divergem com base no mecanismo patológico subjacente que, em geral, é caracterizado pelo acúmulo anormal de agregados proteicos intracelulares nos lóbulos frontal e temporal. Esse processo, por sua vez, culmina na degeneração neuronal, formação de microvacúolos e aumento de células astrocitárias (Khan; De Jesus, 2023). Dentre os agregados de proteína

envolvidos neste processo fisiopatológico, os principais constituem na proteína de ligação de DNA transativa 43 (*transactive DNA-binding protein 43* – TDP-43) e a proteína tau. Neste último caso, demonstrou-se que os pacientes apresentam mutações no gene *MAPT* (*microtubule-associated protein tau*), que codifica esta proteína (Ghetti *et al.*, 2015). Com base nisso, a DFT também é considerada uma taupatia, assim como a DA (Ising *et al.*, 2019).

Outra característica compartilhada entre DA e DFT é o fato de que em ambas as condições ocorre um processo neuroinflamatório, evidenciado pela ativação microglial com subsequente liberação de citocinas (Lok *et al.*, 2023). Em estudos prévios, observou-se a presença de micróglia ativada em regiões afetadas pela doença, por imuno-histoquímica, e também houve correlação positiva entre neuroinflamação, agregados proteicos e a progressão da doença (Bevan-Jones *et al.*, 2020; Pascual *et al.*, 2021).

Indivíduos acometidos pela variante comportamental da DFT, que é a forma mais prevalente, costumam apresentar no início da doença um conjunto de mudanças comportamentais e alterações na personalidade. Dentre estas, pode-se incluir: falta de inibição, diminuição da expressão emocional e da percepção sobre sua própria condição, falta de motivação, dificuldades em pensar de maneira abstrata e uma deterioração gradual das habilidades de tomada de decisão ao longo do tempo (Khan; De Jesus, 2023). Além disso, esses pacientes podem apresentar mudanças nos seus hábitos alimentares, diminuição das emoções básicas e da empatia, e problemas de cognição, embora geralmente a memória seja pouco afetada (Bretag-Norris, Gallur; Flynn, 2019).

No caso da variante afasia semântica, o segundo tipo mais comum de DFT, os pacientes apresentam alterações na capacidade de comunicação, ou seja, de usar a linguagem para falar, ler, escrever e entender o que os outros estão dizendo. Isso pode incluir dificuldade em usar ou compreender palavras (afasia) ou em falar corretamente (por exemplo, podem apresentar “fala arrastada”), podendo, inclusive, ficarem mudos ou incapazes de falar (National Institutes of Health, 2021). A perda de memória tende a se manifestar mais tardiamente no curso da doença (Khan; De Jesus, 2023). Dentre os nove pacientes com DFT incluídos no presente estudo, oito apresentavam a variante comportamental, e apenas um, afasia semântica.

É importante considerar que DA e DFT se divergem em diversos aspectos, tais como: faixa etária acometida, sintomas e progressão. Embora possa ocorrer em diferentes idades, a DA é mais comum em idades mais avançadas, geralmente após os 65 anos, enquanto a DFT costuma se manifestar em indivíduos com idade inferior, geralmente entre os 40 e o início dos 60 anos. Nos estágios iniciais, a perda de memória costuma ser um sintoma mais evidente na DA do que na DFT. Entretanto, em fases avançadas desta última, prejuízos na memória podem tornar-se mais pronunciados, além dos efeitos característicos da doença, que afetam o comportamento e a linguagem. No caso da variante comportamental da DFT, as alterações do comportamento costumam ser os primeiros sinais perceptíveis. Por outro lado, apesar de mudanças comportamentais também surgirem com a progressão da DA, normalmente se manifestam mais tardiamente nesta condição clínica. Em relação à orientação espacial, problemas como desorientação em lugares familiares são mais prevalentes na DA em comparação à DFT. Já em relação à comunicação, por mais que pacientes com DA tenham dificuldades para encontrar as palavras corretas ou recordar nomes, geralmente apresentam mais facilidade para leitura, compreensão de palavras, e entendimento da fala de outras pessoas, quando comparados àqueles com DFT. Por fim, ao passo que alucinações e delírios frequentemente se manifestam à medida que a DA avança, estes sintomas são relativamente raros na DFT (Alzheimer's Association. Frontotemporal Dementia., 2023). Em todo caso, ambas DA e DFT não apresentam cura e até o momento não está disponível nenhum tratamento efetivo que seja capaz de retardar ou interromper a progressão das doenças (National Institutes of Health, 2021).

II. 7.2 Caracterização demográfica e clínica dos participantes

Neste estudo, casos e controles foram pareados em relação à idade e sexo, não havendo, portanto, diferença para estas variáveis entre os grupos. Os participantes apresentaram média de idade em torno de 70 anos (**Tabela 12** e **Tabela 13**). Destaca-se que a idade é o maior fator de risco para as demências e, na maioria dos casos, as pessoas são diagnosticadas com DA após os 65 anos, condição que é chamada de DA de início tardio. Contudo, a idade avançada, isoladamente, não é responsável pelo desenvolvimento de quadros

demenciais (Nelson *et al.*, 2011). Em relação ao sexo, observou-se maior prevalência de indivíduos do sexo feminino (71,9% dentre os pacientes com demência e 73,9% dentre aqueles somente com DA, **Tabela 12** e **Tabela 13**). Mundialmente, dois terços dos casos de DA e outros tipos de demência é observado em mulheres (Alzheimer's Association, 2023). Como estas condições estão associadas ao envelhecimento, essa diferença entre os sexos foi atribuída à maior longevidade em indivíduos do sexo feminino. No entanto, ainda não está bem definido se mulheres, por questões biológicas, podem também apresentar maior risco para o desenvolvimento de demências (Beam *et al.*, 2018).

No que tange à escolaridade, medida pelo tempo de estudo em anos, esta foi menor em pacientes com demência, ou apenas DA, em comparação ao grupo controle (**Tabela 12** e **Tabela 13**). Baixa escolaridade é outro fator de risco para o desenvolvimento de DA e outras demências (Alzheimer's Association, 2023). Já foi demonstrado que pessoas com mais anos de educação formal apresentam menor probabilidade de desenvolver estas condições, em comparação àquelas com menos tempo de estudo (Stern, 2012). Estudos mais recentes, todavia, sugerem que, em vez de reduzir o risco de desenvolver as alterações cerebrais que ocorrem na DA, a educação formal pode ajudar a manter a função cognitiva na meia idade e na velhice, além de retardar o desenvolvimento dos sintomas relacionados aos déficits na cognição (Wilson *et al.*, 2019).

Em relação às principais comorbidades observadas nos grupos de pacientes com demência ou apenas DA neste estudo, de forma decrescente, estas foram: HAS, dislipidemia, e DM (**Tabela 12** e **Tabela 13**). Estudos epidemiológicos estão demonstrando extensivamente uma associação entre demências e DCVs, sendo o aumento da prevalência destas condições em idades mais avançadas considerado um fator que possa correlacioná-las (Tini *et al.*, 2020). Também já foi reportado que a DA e outros tipos de demência apresentam fatores de risco em comum com as DCVs, tais como: HAS, diabetes, hipercolesterolemia, obesidade, entre outras (Yu *et al.*, 2020). Um estudo clínico randomizado recente, o SPRINT MIND (*Systolic Blood Pressure Intervention Trial Memory and Cognition in Decreased Hypertension*), demonstrou que o tratamento intensivo da hipertensão associou-se de forma significativa a uma redução na incidência do comprometimento cognitivo em idosos. Desta forma, foi proposto que o

manejo da hipertensão, com manutenção da pressão arterial sistólica entre 110 e 114 mmHg, pode atenuar o aparecimento de demência em indivíduos com idade avançada (Decarli, 2021; Li *et al.*, 2023b). No entanto, embora a HAS seja um importante fator de risco para o desenvolvimento de DA e demências como um todo, os mecanismos subjacentes a esta associação ainda precisam ser elucidados. Análises de autópsias obtidas de estudos observacionais sugeriram que a hipertensão pode estar associada às alterações neuropatológicas que ocorrem na DA, como a deposição de placas de A β e emaranhados neurofibrilares de proteína tau, mas os dados ainda são inconsistentes (Abdulrahman *et al.*, 2022).

Relativo à DM, a associação entre esta condição e a DA foi proposta há alguns anos com a realização do estudo Rotterdam, que acompanhou mais de 6000 idosos por dois anos e observou que a presença de DM tipo 2 aumentou consideravelmente o desenvolvimento de demências e DA nestes indivíduos (Ott *et al.*, 1999). Desde então, o diabetes passou a ser considerado um potencial fator de risco para DA. Contudo, há dados que sugerem que os pacientes com a demência também podem apresentar maior probabilidade de desenvolverem DM2, sugerindo-se a existência de uma relação bidirecional entre estas duas condições (De Nazareth, 2017). Embora a maioria dos estudos epidemiológicos apontem associações entre DA e principalmente DM tipo 2, a DM tipo 1 também já foi implicada na demência, demonstrando-se que eventos hipoglicêmicos ou hiperglicêmicos graves podem aumentar o risco de demência em idosos com esse tipo de diabetes (Whitmer *et al.*, 2021). Além disso, correlações entre alterações do metabolismo glicídico e declínio cognitivo são tão proeminentes, que alguns autores passaram a se referir à DA como diabetes tipo 3 (Kroner, 2009). Essa terminologia foi sugerida após estudo realizado pelo grupo de pesquisa conduzido por Suzanne de la Monte (2005) que, ao avaliar o tecido encefálico *pós-mortem* de pacientes com DA, identificou sinais de ambas DM1 e DM2, como: redução da produção de insulina e resistência dos receptores cerebrais à insulina. Desta forma, estes autores sugeriram que a DA pode consistir em uma doença neuroendócrina relacionada a alterações da regulação deste hormônio (Steen *et al.*, 2005; Falco *et al.*, 2016).

Considerando a associação entre demências e DCV, no presente estudo também foram avaliadas algumas medidas antropométricas. Nesse âmbito, tanto na amostra de pacientes com demência (**Tabela 12**), quanto nos pacientes apenas com DA (**Tabela 13**), o IMC, obtido pela divisão da massa (em kg) pela altura ao quadrado (em metros), encontrou-se dentro da faixa normal preconizada para idosos de acordo com as Diretrizes Brasileiras de Obesidade, que é de 22 a 27 kg/m². Este valor foi definido para pessoas com sessenta anos ou mais, em decorrência da redução de massa, força e desempenho muscular em indivíduos a partir dessa idade (Abeso, 2016). No entanto, nos controles, o IMC apresentou-se acima destes valores. Ressalta-se que, embora o IMC seja utilizado para avaliação da adiposidade corporal e obesidade, ele não é um indicador preciso para este parâmetro, por sofrer influência de idade e sexo e não distinguir massa muscular de massa gordurosa (Feitosa-Filho *et al.*, 2019).

Neste estudo, na comparação entre os dois grupos, pacientes com demência apresentaram IMC significativamente menor em relação aos controles (**Tabela 12**). Já comparando-se os três grupos, ambos pacientes com DA ou DFT apresentaram menor IMC em relação aos controles (**Tabela 13**). Aparentemente estes dados podem parecer controversos, uma vez que a obesidade é considerada um fator de risco para ambas DA e DFT (Rasmussen Eid *et al.*, 2019). No entanto, embora a obesidade na meia-idade seja associada a maior risco de demência e declínio cognitivo quando atinge-se uma idade mais avançada, também já demonstrou-se que indivíduos mais idosos obesos apresentaram menor risco de ter estes desfechos (Monda *et al.*, 2017). Tal situação foi descrita como “paradoxo da obesidade” (Waki *et al.*, 2020). De fato, em uma coorte britânica na qual 475.813 indivíduos foram acompanhados por 10 anos, nos participantes com 60 anos ou mais, maior IMC foi associado a menor risco de DA, mesmo naqueles que apresentavam risco genético de DA intermediário ou alto (Yuan *et al.*, 2022). Adicionalmente, Kang *et al.* (2021), em uma coorte que avaliou 45.076 indivíduos com mais de 60 anos, reportaram que a diminuição do IMC ao longo de um período de 2 a 4 anos foi associada ao aumento do risco de DA, e este foi ainda maior em mulheres, que apresentam maior variabilidade de IMC. Desta forma, estes autores recomendaram o controle adequado do peso corporal como estratégia para prevenção da demência. Ainda

corroborando estes achados, Li *et al.* (2023a), ao avaliar participantes da coorte de Framingham, observaram que o aumento do IMC no início da meia-idade, com posterior redução deste índice, associou-se ao risco aumentado de demência, quando comparado a indivíduos que permaneceram cognitivamente saudáveis.

Além destes fatores, é importante salientar que durante a progressão de demências, como a DA, os pacientes geralmente encontram cada vez mais dificuldade para comer, o que pode levar à redução da ingestão de alimentos. Outra questão é que a neurodegeneração que ocorre na DA também compromete áreas cerebrais responsáveis pela regulação do apetite. Assim, a realização de avaliações nutricionais periódicas e a manutenção de medidas dietéticas adequadas são aspectos importantes que devem ser considerados no manejo de um paciente já diagnosticado com DA (Sergi *et al.*, 2013). Em relação à DFT, curiosamente, já foi reportado que pacientes com a variante comportamental da doença, ou até mesmo com afasia semântica, apresentaram maior IMC e circunferência abdominal, em comparação com os controles (Ahmed *et al.*, 2014). Isto, por sua vez, foi associado a mudança nos hábitos alimentares destes pacientes, que normalmente passam a ter maior preferência pelo consumo de carboidratos e doces (Miller *et al.*, 1995). No entanto, este não parece ser o caso dos pacientes com DFT avaliados neste estudo, pois apresentaram menor IMC comparando-se aos grupos controle e DA (**Tabela 13**). O pequeno número amostral de pacientes com DFT (n = 9) neste estudo também pode estar relacionado a estes resultados, o que constitui uma limitação.

Outro parâmetro antropométrico aqui avaliado foi a circunferência abdominal. Sugeriu-se importante função desta medida para avaliação de síndrome metabólica e risco cardiovascular, especialmente em idosos. Isso é motivado pelo fato de o envelhecimento levar a alterações na composição corporal, refletidas não apenas pela diminuição de massa muscular, como também por aumento da gordura visceral (De Hollander *et al.*, 2012). A OMS e o Painel de Tratamento do Adulto III do Programa Nacional de Educação sobre Colesterol (*National Cholesterol Education Program – NCEP*) dos Estados Unidos consideram como ponto de corte para risco de síndrome de metabólica a medida de 102 cm para homens e de 88 cm para mulheres (Ncep, 2002; Andrade, 2022).

Considerando essas diretrizes, na amostra avaliada, a circunferência abdominal dos pacientes com demência ou apenas DA, do sexo masculino, encontra-se dentro da faixa. No entanto, nas mulheres, este parâmetro está ligeiramente acima do valor preconizado. Pacientes com DFT, de ambos os sexos, estão dentro do ponto de corte, ao passo que os controles estão acima do limite recomendado. De fato, os indivíduos do grupo controle apresentaram medidas de circunferência abdominal significativamente maiores em comparação aos pacientes com demência em conjunto (DA+DFT, **Tabela 12**), e aos pacientes com DA e DFT, separadamente (**Tabela 13**).

Em um estudo populacional que avaliou 872.082 participantes acima de 65 anos, a obesidade abdominal, determinada pela medida da circunferência do abdômen, foi associada a um risco significativamente maior de demência, após ajuste para obesidade geral (Cho *et al.*, 2019). De maneira similar, em uma meta-análise que avaliou estudos de coorte envolvendo mais de 5.060.687 pessoas, a obesidade central, medida pela circunferência abdominal, foi associada a maior risco de comprometimento cognitivo e demência em indivíduos com mais de 65 anos de idade (Tang *et al.*, 2021). Por outro lado, Zhou e colaboradores (2019) reportaram resultados distintos. Estes autores realizaram análises de randomização mendeliana (*Mendelian randomization* - MR) usando dados resumidos do estudo de associação genômica, para verificar se existe uma relação causal entre DA e o formato corporal, sendo este último avaliado por medidas antropométricas como IMC e circunferência abdominal. As análises de RM, por sua vez, mostraram que o formato corporal não exerce efeito sobre o risco de DA. Embora os dados sejam controversos, cabe acrescentar a esta discussão importantes considerações levantadas por outros estudos, tais como: a adiposidade central na meia-idade pode predizer o desenvolvimento de demência na velhice; a relação entre elevada adiposidade e demência parece ser atenuada com a idade; e a perda de massa corporal pode predizer o diagnóstico de demência, o que explica resultados aparentemente contraditórios (Luchsinger *et al.*, 2007; Whitmer *et al.*, 2008). Também foi reportado que menor IMC pode predizer demência em idosos, e que a medida da circunferência abdominal em indivíduos com idade avançada poderia ser um indicador de demência mais preciso do que o IMC, uma vez que ela mede o acúmulo de tecido

adiposo no abdômen, local onde há maior depósito desse tecido à medida que ocorre o processo de envelhecimento (Luchsinger; Gustafson, 2009).

No que se refere às características clínicas relacionadas à DA, os pacientes apresentaram média de idade de início dos sintomas de $65 \pm 9,93$ anos, conforme é observado na prática clínica e extensivamente relatado na literatura (Alzheimer's association., 2021). A idade na primeira consulta, por sua vez, foi um pouco posterior ($68 \pm 10,76$ anos). Antes do aparecimento dos sintomas clínicos característicos de demência, os pacientes podem apresentar um quadro de CCL, no qual alterações cognitivas já são observadas, mas há ainda preservação da funcionalidade (Winblad *et al.*, 2004). Em pessoas com maior escolaridade, que tendem a realizar atividades que exigem maior demanda cognitiva, a procura por atendimento médico pode ser mais precoce, sendo possível identificar quadros de CCL nestes indivíduos (Souza *et al.*, 2020). Por outro lado, em indivíduos com menor tempo de estudo, como observado na amostra em questão, a busca por atendimento ambulatorial pode ocorrer algum tempo após a manifestação das primeiras alterações cognitivas.

Para auxiliar o diagnóstico clínico de demência, bem como para o acompanhamento de pacientes já diagnosticados, são utilizadas diversas baterias cognitivas. Dentre estas, destaca-se o MEEM, um dos instrumentos de rastreio cognitivo de maior utilização no Brasil e no cenário internacional, composto por questões que avaliam diferentes domínios cognitivos, tais como: orientação temporal e espacial, memória, atenção, cálculo e linguagem (Folstein, Folstein; Mchugh, 1975). O somatório das perguntas totaliza 30 pontos e, quanto mais alta a pontuação, melhor é o desempenho cognitivo, sendo os resultados influenciados pelo nível de escolaridade (Bertolucci *et al.*, 1994). Na amostra avaliada, a pontuação no MEEM foi menor nos pacientes com demência, quando comparados aos controles (**Tabela 12**), o que indica maior declínio cognitivo nesse grupo, conforme esperado. Ainda, na comparação entre os três grupos, pacientes com DA e DFT, separadamente, apresentaram menor pontuação no MEEM em relação aos controles, mas esta não foi diferente entre os dois tipos de demência (**Tabela 13**). É importante considerar que a pontuação dos pacientes com DA no MEEM na primeira consulta, ajustada pela escolaridade, já indicava déficit cognitivo. A pontuação destes pacientes no último MEEM, por

sua vez, foi ainda menor em comparação ao primeiro, demonstrando a progressão do prejuízo cognitivo em um período médio de $4 \pm 2,59$ anos, tempo em que iniciaram o acompanhamento ambulatorial. Isso demonstra a aplicabilidade do MEEM para acompanhar a evolução de pacientes diagnosticados com demência. Salienta-se que a utilização deste instrumento, em combinação com outras escalas, é recomendada (Araújo; Lopes, 2013).

A avaliação de pacientes com suspeita de DA por meio de escalas é essencial para auxiliar no diagnóstico clínico, entretanto, este ainda costuma ser bastante difícil, sendo, muitas vezes, necessário fazer um *continuum* de avaliação para se obter uma definição diagnóstica (Araújo; Lopes, 2013). Atualmente, a avaliação de biomarcadores em amostras de LCR, obtidas por punção lombar, também está disponível. No entanto, devido a dificuldades inerentes ao procedimento de coleta e à ausência de padronização para avaliação dos resultados, esta ainda não é utilizada na rotina clínica, sendo empregada primariamente em pesquisa (Apolinário *et al.*, 2011). Na amostra selecionada, oito pacientes (34,8%) apresentaram resultados para dosagem de biomarcadores em LCR (**Tabela 13**). No que se refere à utilização destes analitos, durante as últimas décadas, demonstrou-se que pacientes com DA apresentam níveis reduzidos de $A\beta_{1-42}$ e aumentados de tau total e p-tau, quando comparados a indivíduos controle (Souza *et al.*, 2014). Entretanto, em outras condições neurológicas também pode ser observada diminuição dos níveis $A\beta_{1-42}$ (demência de corpos de Lewy, demência vascular) e aumento dos níveis de tau total (acidente vascular cerebral, doença de Creutzfeldt-Jakob) (Forlenza, Diniz; Gattaz, 2010). Nesse sentido, apenas elevados níveis de p-tau parecem ser mais específicos para DA (Schoonenboom *et al.*, 2012). Desta forma, para se obter melhor acurácia no diagnóstico diferencial de DA, recomenda-se a análise destes três biomarcadores em conjunto (Souza *et al.*, 2014). Foram propostos por Magalhães *et al.* (2015) os seguintes valores de corte: $A\beta_{1-42} < 680$ pg/mL, tau total $> 265,7$ pg/mL e p-tau $> 47,7$ pg/mL, com sensibilidade e especificidade superiores a 60%. Os pacientes selecionados no presente estudo, cujas amostras de LCR foram obtidas, apresentaram critérios para o diagnóstico de DA de acordo com estes valores.

Face ao exposto, é notável a observação de que a DA é uma doença complexa, que pode apresentar diferentes estágios conforme a sua evolução, os quais se distinguem em relação às características clínicas e patológicas observadas nos pacientes. Além disso, o diagnóstico diferencial de DA, em relação a outras demências, é um grande desafio. Na amostra obtida neste estudo, porém, pode-se considerar que, apesar do pequeno número amostral, trata-se de uma população com DA bem caracterizada.

II. 7.3 Avaliação do perfil lipídico e de outros parâmetros bioquímicos

No estudo em tela, dentre os parâmetros do perfil lipídico avaliados, somente o LDLc foi diferente entre os grupos, o qual foi maior nos pacientes com demência, em comparação aos controles (**Tabela 14**). Na comparação entre os grupos controle, DA e DFT, por sua vez, não foram observadas diferenças (**Tabela 15**). A última atualização das Diretrizes Brasileiras de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2017) sugeriu os seguintes valores de referência para o perfil lipídico, sem jejum (que foi o caso da coleta realizada neste estudo): CT < 190 mg/dL, HDLc > 40 mg/dL e TG < 175 mg/dL. Já para o LDLc e o não HDLc, os valores referenciais variam conforme o risco cardiovascular individual estimado, sugerindo-se valores de alvo terapêutico conforme a categoria de risco. Para o LDLc, os valores são, em mg/dL: < 130, < 100, < 70 e < 50, para os riscos baixo, intermediário, alto e muito alto, respectivamente. Já para o não HDLc (em mg/dL), na mesma ordem, consideram-se os valores: < 160, < 130, < 180 e < 80. Tendo como base, portanto, os pontos de corte definidos nestas diretrizes, pode-se considerar que os pacientes com demência apresentaram níveis de CT acima do preconizado, o que não foi observado para os controles. Nestes pacientes, os valores de LDLc e não HDLc também estão acima do recomendado para indivíduos com risco cardiovascular intermediário, ao passo que para os controles, estão dentro do limite. Já os valores de HDLc e TG estão conforme os valores de referência, em ambos os grupos. Avaliando-se os pacientes com DA e DFT separadamente, cabem as mesmas interpretações feitas para o grupo de pacientes com demência, em conjunto. É importante destacar que, neste estudo, os controles foram pareados com os pacientes no que diz respeito à prevalência de dislipidemia; esta condição foi relatada

somente nos pacientes com DA; e todos os participantes dislipidêmicos, sejam controles ou indivíduos com DA, estavam em uso de estatinas. Nesse contexto, é relevante constatar que os pacientes com demência deste estudo apresentaram valores de CT e LDLc acima das faixas terapêuticas, ainda que estivessem em terapia com os fármacos inibidores da HMG-CoA redutase.

Nas últimas décadas, ganhou destaque a discussão a respeito da associação entre dislipidemias, especialmente relacionada a elevados níveis de colesterol sanguíneo, e o desenvolvimento DA, embora as informações disponíveis ainda sejam divergentes (Mcfarlane; Kędziora-Kornatowska, 2020). Por outro lado, a hipercolesterolemia ainda não foi implicada na DFT, e há poucos relatos abordando a associação entre estas condições. Nesse âmbito, em estudo realizado por Soppela *et al.* (2022), foi reportada menor prevalência de hipercolesterolemia em pacientes com DFT do que em controles cognitivamente saudáveis ou em pacientes com DA. Wang e colaboradores (2020), por sua vez, além da avaliação do perfil lipídico, por meio da dosagem de TG, CT, LDLc e HDLc em amostras de sangue, também fizeram a genotipagem dos alelos de *APOE* em pacientes com DA, DFT (variante comportamental) e controles. Estes autores não observaram diferenças entre os grupos em relação aos níveis sanguíneos de TG, porém, pacientes com DA e DFT apresentaram maiores concentrações de CT e LDLc em comparação aos controles. Além disso, os níveis de CT e HDLc não foram diferentes entre os pacientes com DA e DFT, entretanto, nestes últimos, o LDLc foi significativamente maior, em comparação aos pacientes com DA. Em relação à genotipagem, a frequência do alelo *APOE-ε4* foi maior no grupo DA do que nos controles, mas nenhuma diferença foi encontrada comparando-se pacientes com DA e DFT. Ao dicotomizar os três grupos de acordo com a presença do alelo *APOE-ε4*, observou-se valores mais elevados de CT em pacientes com DA e nos controles que possuíam este alelo, comparando-se aos respectivos grupos com a ausência de *APOE-ε4*. No entanto, nenhuma diferença foi observada ao fazer esta comparação entre os pacientes com DFT. De toda forma, estes autores consideraram que alterações nos níveis plasmáticos de colesterol estão implicadas em ambas as demências, e podem oferecer perspectivas futuras para tratamentos direcionados.

No que tange aos demais parâmetros bioquímicos avaliados neste estudo, os quais contemplavam PCR, creatinina e as enzimas hepáticas ALT, AST e GGT, estas análises foram realizadas para verificar se os participantes apresentavam alguma condição clínica potencialmente relevante, que pudesse levar à sua exclusão do estudo. No caso, todos os participantes apresentaram resultados para estes parâmetros dentro dos valores de referência padronizados pelo laboratório clínico onde foram feitas as análises (**Tabela 11**).

Dentre esses parâmetros bioquímicos, o único que apresentou diferença significativa entre os grupos foi a creatinina sérica, que apresentou níveis aumentados nos pacientes com demência ou apenas DA, em comparação aos controles (**Tabela 16 e Tabela 17**, respectivamente). Todavia, embora estivesse dentro dos valores de normalidade em todos os casos, seria necessário realizar uma investigação mais detalhada para se ter melhor conhecimento a respeito da função renal destes participantes, o que não foi feito por não ser o foco deste trabalho.

Neste âmbito, contudo, diferentes estudos epidemiológicos demonstraram haver elevada incidência de comprometimento cognitivo ou demência do tipo DA em pacientes com doença renal crônica (Coppolino *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018). Em um estudo que comparou idosos com DA e controles, pacientes com a demência apresentaram valores de *clearance* de creatinina (calculado com base nos níveis de creatinina séricas e estimado de acordo com idade, peso e sexo) significativamente menores, em comparação aos indivíduos cognitivamente preservados (Do Carmo *et al.*, 2013). Por outro lado, também já foi demonstrada ausência de diferença significativa em relação aos níveis de creatinina sérica entre pacientes com DA e idosos sem demência (Erbayraktar *et al.*, 2017). Em uma coorte que avaliou 6.256 indivíduos, a alteração da função renal não foi associada ao risco de demência, incluindo DA e demência vascular (Stocker *et al.*, 2023). Além disso, em um estudo que avaliou pacientes com DA em tratamento medicamentoso, o uso de inibidores de acetilcolinesterase foi associado a menor perda de função renal e consequente risco de desenvolvimento de doença renal crônica (Xu *et al.*, 2023).

II. 7.4 Avaliação dos níveis periféricos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3 e de outras citocinas

Neste estudo, ao determinar os níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios relacionados à ativação do inflamassoma NLRP3, houve diferença somente em relação aos níveis de IL-1 β . O grupo de pacientes com demência (DA+DFT) apresentou maior concentração desta citocina em relação aos controles (**Tabela 18 e Figura 18A**), porém, ao comparar os três grupos, observou-se que os níveis de IL-1 β estavam maiores somente nos pacientes com DA, em relação ao grupo controle (**Tabela 19 e Figura 19A**).

Apesar disso, possível atuação do inflamassoma NLRP3 na patogenia da DFT já foi reportada previamente. Em um estudo que avaliou amostras de córtex de pacientes com DFT que apresentavam mutação da proteína tau, detectou-se elevada clivagem de caspase-1 e níveis aumentados de IL-1 β . Assim, sugeriu-se que a ativação de NLRP3 pode estar implicada nos processos patológicos que ocorrem nas taupatias (Ising *et al.*, 2019). Além disso, também já foi proposto que a relação entre inflamassoma NLRP3 e a proteína tau parece ser recíproca, ou seja, a ativação deste complexo inflamatório nas micróglia pode aumentar a formação dos emaranhados de tau, e vice-versa (Stancu *et al.*, 2019). Outro fator que pode relacionar o inflamassoma NLRP3 à DFT é o fato deste complexo inflamatório também regular a expressão de TDP-43, outra proteína que pode estar envolvida na patogenia desta demência (Zhuang *et al.*, 2017).

De toda forma, poucos estudos avaliaram os níveis plasmáticos das citocinas relacionadas ao inflamassoma NLRP3 em pacientes com DFT. Nesse sentido, menciona-se o trabalho conduzido por Lok *et al.* (Lok *et al.*), no qual níveis aumentados de IL-18 foram detectados em amostras de soro e do córtex frontal superior de pacientes com DFT (variante comportamental), em comparação aos controles. Assim, os autores sugeriram que estes resultados podem estar associados à ativação do inflamassoma NLRP3, o qual pode desempenhar um papel importante nos processos patológicos da DFT.

No que tange à DA, como já abordado anteriormente, há uma série de evidências que associam o inflamassoma NLRP3 à doença. Aqui, todavia, serão enfatizados os estudos que avaliaram os níveis sanguíneos das citocinas relacionadas ao inflamassoma nos pacientes com DA. Neste âmbito, Forlenza *et*

al. (2009), detectaram valores aumentados de IL-1 β em amostras de soro de pacientes com DA e CCL, em comparação a controles. Desta forma, consideraram que esta citocina pode ser produzida no início da doença e permanecer elevada após o estabelecimento da DA. Outros autores também reportaram maiores níveis de IL-1 β em pacientes com DA, comparando-se à indivíduos cognitivamente preservados (Swardfager *et al.*, 2010; D'anna *et al.*, 2017; Ng *et al.*, 2018), embora existam resultados controversos (Pirttila *et al.*, 1994; Yasutake *et al.*, 2006; Koca *et al.*, 2022).

No trabalho atual, os níveis de IL-18 não foram diferentes comparando-se pacientes com DA e controles. Os dados relacionando os níveis periféricos desta citocina em pacientes com a doença na literatura também são conflitantes. Malaguarnera *et al.* (2006) e Swardfager *et al.* (2010) detectaram níveis plasmáticos de IL-18 significativamente maiores em pacientes com DA, em comparação a controles. Em contrapartida, em outros estudos, a concentração de IL-18 circulante não foi diferente comparando estes grupos (Lindberg *et al.*, 2005), embora, ainda assim, Bossù *et al.* (2008) tenham verificado que os níveis periféricos de IL-18 nos pacientes com DA estavam correlacionados com o declínio cognitivo nestes indivíduos, evidenciado por menor pontuação no MEEM. Motta *et al.* (2007), por sua vez, observaram valores plasmáticos de IL-18 significativamente maiores em pacientes com DA leve, e ligeiramente maiores, mas ainda significativos, em pacientes com DA moderado, comparando-se ao grupo controle. Já em pacientes com DA avançada, não foram observadas diferenças significativas. Com isso, estes autores sugeriram que os níveis plasmáticos de IL-18 podem acompanhar a evolução da doença, propondo a ocorrência de um declínio gradual da resposta imune com a sua progressão (Motta *et al.*, 2007).

Ainda, no atual estudo não houve diferença significativa em relação aos níveis plasmáticos de caspase-1. Semelhante resultado foi reportado por Lindberg *et al.* (2005), que não encontraram diferenças nos níveis séricos desta enzima comparando-se ambos pacientes com DA leve e avançada com controles. Como mencionado anteriormente, a caspase-1 é a enzima que atua, dentro das células, na maturação de IL-1 β e IL-18. Desta forma, não surpreende o fato de não estar alterada nas amostras de plasma avaliadas.

Em relação aos níveis plasmáticos das outras citocinas determinadas neste estudo, no grupo de pacientes com demência observou-se níveis mais elevados de IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF em comparação aos controles (**Figura 20**). Já na comparação entre os três grupos, IL-6, IL-12p70 e TNF foram maiores somente nos pacientes com DA (**Figura 21A, D e E**, respectivamente), e IL-8 estava aumentada em ambos os grupos DA e DFT, comparando-se aos controles (**Figura 21B**).

Consistente com os dados deste estudo, Chu *et al.* (2023) e Galimberti *et al.* (2015) também não observaram diferenças significativas nos níveis plasmáticos de IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF ao comparar pacientes com DFT e controles. No entanto, a associação dos fatores inflamatórios aqui avaliados com esta doença já foi relatada em alguns estudos, nos quais observou-se maiores níveis de IL-6 (Phan *et al.*, 2020), IL12p70 (Chu *et al.*, 2023) e TNF (Vieira *et al.*, 2021) em pacientes com DFT em comparação a indivíduos controle.

Em relação à DA, assim como observou-se neste trabalho, outros estudos também já reportaram níveis mais elevados de IL-6 (Kim, Lee; Kim, 2017; Boccardi *et al.*, 2021), IL-8 (Zhu *et al.*, 2017), IL-12p70 (Kaiyrykyzy *et al.*, 2022) e TNF (Swardfager *et al.*, 2010; Brosseron *et al.*, 2014) em pacientes com a doença, quando comparados a controles. No entanto, também há autores que não reportaram diferenças nos valores destas citocinas comparando-se pacientes com DA e controles (Yasutake *et al.*, 2006; Ng *et al.*, 2018). Essas divergências, por sua vez, podem estar associadas ao estágio da doença, conforme discutido por Koca *et al.* (2022), que observaram que níveis mais elevados de fatores inflamatórios geralmente são detectados em pacientes nos estágios mais iniciais da doença, em comparação a pacientes com quadros moderados a avançados. Desta forma, destacaram que há redução da responsividade imune à medida que a DA evolui. Realmente, é possível associar estas evidências aos resultados encontrados neste estudo, pois a maioria tratava-se de pacientes com DA em estágio inicial, na transição para quadros moderados. Desta forma, caso estas moléculas inflamatórias venham a ser utilizadas como biomarcadores para a doença em um futuro próximo, é importante considerar o estágio da DA para a sua utilização. Isto, pois, além de aparentemente estarem mais elevadas nos estágios iniciais, também é

interessante que a sua quantificação seja realizada o mais cedo possível, a fim de se poder elaborar melhores estratégias para o enfrentamento da doença, inclusive no âmbito familiar, devido ao impacto na vida dos cuidadores.

Outro resultado interessante encontrado neste estudo foi o fato de, na comparação entre os três grupos, IL-10 foi a única citocina que não se apresentou elevada em pacientes com DA, em comparação aos controles. Esta molécula, ao contrário dos outros mediadores inflamatórios avaliados, é uma citocina anti-inflamatória. IL-10 atua suprimindo as citocinas produzidas pelas células T; aumentando a sobrevivência, proliferação e produção de anticorpos pelas células B; e bloqueando a sinalização inflamatória via NF- κ B (Harada, Van Wagoner; Nattel, 2015). Embora aumento nos níveis séricos desta citocina já tenham sido associados à patogenia da DA (D'anna *et al.*, 2017), também já foi apontado o seu papel na atenuação da neuroinflamação, perda cognitiva e neurodegeneração (Magalhães *et al.*, 2017).

Faz-se mister salientar que os dados relacionados aos níveis circulantes dos mediadores inflamatórios avaliados neste estudo não podem ser interpretados sem considerar os resultados encontrados após a análise por regressão logística multivariada realizada. Ao incluir no mesmo modelo todos os mediadores inflamatórios que apresentaram diferença significativa na análise univariada prévia, em conjunto com os principais fatores de confusão para demência e DA, nenhuma citocina apresentou-se independentemente associada a qualquer uma destas condições clínicas (**Tabela 23 e Tabela 25**).

Estes achados, de fato, corroboram o fato de que DA é uma doença complexa e multifatorial, ou seja, realmente pode ser difícil encontrar um fator que esteja associado de forma independente à doença. No entanto, reforça a atual abordagem voltada à redução dos fatores de risco modificáveis, tais como obesidade, hipertensão, diabetes, tabagismo, consumo excessivo de álcool, baixa escolaridade, inatividade física, entre outros (Livingston *et al.*, 2020). Uma vez que a hipercolesterolemia é uma condição que normalmente está associada aos fatores de risco cardiovasculares (como obesidade e hipertensão), sugere-se que a manutenção dos parâmetros do perfil lipídico periféricos dentro das faixas recomendadas pode ser uma das estratégias relacionadas à prevenção dos riscos modificáveis.

II. 7.5 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo

II. 7.5.1 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e parâmetros do perfil lipídico

Neste estudo, não foram observadas correlações significativas entre MEEM e os parâmetros do perfil lipídico, em nenhum dos grupos. Por outro lado, Hall *et al.* (2014) ao avaliar uma coorte de idosos com DA moderado a avançado, observaram que a pontuação no MEEM foi menor dentre aqueles que apresentaram maiores níveis séricos de CT (> 200 mg/dL). Desta forma, sugeriram que um aumento deste parâmetro pode estar associado ao pior desempenho cognitivo nos pacientes avaliados.

Em relação às medidas antropométricas, no presente estudo, também não foram observadas correlações significativas destas com os níveis dos lipídios periféricos quantificados nos controles (**Tabela 26**). Por outro lado, no grupo de pacientes com demência, observou-se correlação negativa fraca entre a medida da circunferência abdominal e o CT (**Tabela 27**). No grupo de pacientes somente com DA, além de ter sido observada correlação negativa moderada entre a medida da circunferência abdominal e o CT, este parâmetro antropométrico também se correlacionou de forma negativa com os valores de LDLc (**Tabela 28**). Estes dados indicam que, neste grupo de pacientes, quanto maiores os níveis de CT e LDLc, menor é a medida da circunferência abdominal.

Embora comumente a hipercolesterolemia seja associada à obesidade, é importante salientar que pessoas que não apresentam sobrepeso podem também ter níveis séricos de CT aumentados. Isto ocorre especialmente em indivíduos que possuem hipercolesterolemia familiar, uma condição monogênica comum, causada principalmente por mutações em genes que codificam o receptor de LDL, mas que pode também estar relacionada a mutações nos genes codificadores da ApoB e da pró-proteína convertase subtilisina kexin tipo 9 (PCSK9), que atua na degradação dos receptores hepáticos de LDL (Faludi *et al.*, 2017).

Estudos prévios demonstraram que indivíduos com hipercolesterolemia familiar apresentaram maior incidência de comprometimento cognitivo leve em comparação àqueles sem esta condição (Zambón *et al.*, 2010). Uma coorte mais

recente, contudo, não verificou associações entre hipercolesterolemia familiar e maior risco de desenvolvimento de demências (Mundal *et al.*, 2022).

II. 7.5.2 Correlações entre MEEM, medidas antropométricas e mediadores inflamatórios

Em nenhum dos grupos, a pontuação no MEEM correlacionou-se aos níveis dos mediadores inflamatórios periféricos. No entanto, no que concerne às medidas antropométricas, no grupo controle, tanto o IMC quanto a circunferência abdominal apresentaram correlação negativa forte e moderada, respectivamente, com os níveis de caspase-1 plasmáticos (**Tabela 29**). Já nos grupos de pacientes com demência ou apenas DA, além de correlação negativa moderada entre IMC e caspase-1, IMC e circunferência abdominal apresentaram correlação positiva moderada com IL-18 (**Tabela 30 e Tabela 31**). Ressalta-se que, dentre os mediadores inflamatórios relacionados ao inflamassoma NLRP3, somente IL-1 β estava elevada nos pacientes com demência ou apenas DA, e ela não apresentou correlação com nenhuma das variáveis aqui avaliadas.

As correlações negativas entre IMC e caspase-1 observadas em todos os grupos (controles, pacientes com demência ou apenas DA), sugerem que, quando o IMC é maior (que era o caso dos controles), os níveis desta enzima estão possivelmente reduzidos. Por outro lado, correlações positivas entre IL-18 e as medidas antropométricas (IMC e circunferência abdominal) foram observadas somente nos grupos dos pacientes com demência ou DA isoladamente. Tais resultados indicam que, quando o IMC e a circunferência abdominal são menores (conforme observado nos pacientes), os níveis circulantes desta citocina também estão reduzidos. Realmente, no presente trabalho, além das medidas antropométricas nos pacientes com demência/DA estarem significativamente menores do que nos controles (**Tabela 12 e Tabela 13**), também não observou-se diferença nos níveis plasmáticos de IL-18, comparando-se estes com os indivíduos do grupo controle (**Tabela 18 e Tabela 19**), conforme discutido previamente. De toda maneira, correlações positivas entre IL-18 e medidas antropométricas podem ser explicadas pelo fato de que esta citocina é produzida por diferentes tipos celulares, incluindo células do tecido adiposo (Skurk *et al.*, 2005). Além disso, já foram reportados níveis

circulantes elevados de IL-18 em indivíduos com síndrome metabólica, quadro no qual observa-se aumento da circunferência abdominal devido ao acúmulo de gordura nesta região (Zirlik *et al.*, 2007).

II. 7.5.3 Correlações entre parâmetros do perfil lipídico e mediadores inflamatórios

Dentre as correspondências observadas entre estas variáveis, destacam-se as correlações negativas moderadas de HDLc com IL-10, IL-12p70 e TNF, no grupo controle (**Tabela 32**), e as correlações positivas moderadas de caspase-1 com CT, LDLc e não HDLc, nos grupos de pacientes com demência ou apenas DA (**Tabela 33 e Tabela 34**).

Conforme descrito anteriormente, o HDLc é uma lipoproteína que transporta o colesterol da corrente sanguínea para o fígado, a qual também desempenha outras funções protetoras nas paredes dos vasos sanguíneos contra a formação de placas ateroscleróticas. Desta forma, recomenda-se a manutenção dos níveis séricos de HDLc acima de 40 mg/dL (Faludi *et al.*, 2017). Em relação aos marcadores inflamatórios que apresentaram correlação com esta lipoproteína, a IL-10 é uma citocina anti-inflamatória, conforme descrito no tópico II.7.4. Já a IL-12p70 é uma citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos e células dendríticas que, dentre outras funções, induz a produção de IFN- γ por células Th1, formando um link entre as repostas imune inata e adaptativa (Eley; Beatty, 2009). O TNF, por sua vez, é uma citocina que possui efeitos pleiotrópicos em diferentes tipos celulares, consistindo em um importante regulador das repostas inflamatórias. Produzido principalmente por macrófagos ativados, linfócitos T e células *natural killer*, o TNF é funcionalmente conhecido por desencadear a liberação de diversas moléculas inflamatórias, incluindo outras citocinas e quimiocinas (Jang *et al.*, 2021).

Com base nas correlações aqui observadas, pode-se dizer que, nos indivíduos do grupo controle, quanto maiores os níveis circulantes de HDLc, menor é a resposta imune mediada por TNF, IL-12p70 e IL-10. Ressalta-se que, embora esta última seja uma citocina anti-inflamatória, ela é liberada por linfócitos T, os quais estão envolvidos em respostas inflamatórias crônicas. Assim, pode-se

sugerir que a liberação de IL-10 pode ocorrer em decorrência aos estímulos pró-inflamatórios prévios, como um mecanismo de regulação. Em todo caso, estes resultados demonstram uma relação inversa entre os níveis de HDLc e a ativação de uma resposta inflamatória, o que foi observado somente nos indivíduos controle.

De forma interessante, tais correlações não foram observadas nos pacientes com demência/DA. Nestes, o CT, bem como o LDLc e o não HDLc, que consistem nas frações que possuem maior associação com hipercolesterolemia e eventos aterogênicos, correlacionaram-se de forma moderada e positiva com a caspase-1. O LDLc é a lipoproteína que transporta o colesterol plasmático pela circulação sanguínea às células periféricas e ao fígado. Contudo, em excesso, o colesterol presente na LDL oxidado é absorvido pelos macrófagos e depositado em placas ateromatosas que podem evoluir para lesões ateroscleróticas (Aherne, 2011). Já o não HDLc representa todas as partículas aterogênicas, ou seja, as lipoproteínas que contém a apoB, exceto o HDLc, que é composto pela apoA-I. Desta forma, este parâmetro é utilizado para estimar a quantidade de lipoproteínas aterogênicas na circulação sanguínea, em especial naquelas pessoas que possuem níveis de TG elevados. Desta forma, conforme já citado, as Diretrizes Brasileiras de Dislipidemia (2017) sugerem valores de referência para estes parâmetros que variam conforme o risco cardiovascular individual, recomendando-se valores de pelo menos < 130 mg/dL e < 160 mg/dL para LDLc e não HDLc, respectivamente, em indivíduos com risco cardiovascular baixo. De toda maneira, os resultados dessas correlações merecem destaque, pois, permitem considerar que pode haver uma relação entre hipercolesterolemia e o inflamassoma NLRP3 na DA.

Por fim, neste estudo também observou-se correlações positivas moderadas entre TG e IL-8 no grupo de pacientes com diagnóstico de DA (**Tabela 34**). Os TG se originam da união de três ácidos graxos a uma molécula de glicerol e representam uma das principais formas de armazenamento de energia no organismo, sendo armazenados nos tecidos adiposo e muscular (Faludi *et al.*, 2017). Já a IL-8 é uma quimiocina liberada por diferentes tipos celulares em resposta a um processo inflamatório, incluindo monócitos, macrófagos, neutrófilos, entre outros. Como fator quimiotático, atrai células T, basófilos e

neutrófilos, estando também envolvida na ativação destes últimos (Brennan; Zheng, 2007). Alguns estudos já reportaram associações entre hipertrigliceridemia e IL-8, as quais foram atribuídas ao fato de que lipoproteínas ricas em TG são possivelmente pró-inflamatórias (Rosenson *et al.*, 2014; Bernardi *et al.*, 2018). No entanto, implicações a respeito destas correlações na DA ainda não foram reportadas.

II. 7.5.4 Avaliação de correlações entre as variáveis do estudo com os marcadores de LCR em pacientes com DA

Na avaliação de correlações entre dados clínicos e medidas antropométricas com os marcadores de LCR nos pacientes com DA (**Tabela 35**), observou-se correlação negativa forte entre idade na primeira consulta e $A\beta_{1-42}$. Este resultado sugere que os níveis de $A\beta_{1-42}$ no LCR vão reduzindo à medida que a doença vai progredindo. De fato, já foi demonstrado que os valores de $A\beta_{42}$ no LCR parecem diminuir com a evolução da DA, podendo ocorrer antes mesmo de serem observadas perdas cognitivas nos pacientes (Riemenschneider *et al.*, 2000; Wiltfang *et al.*, 2009). Não por acaso, valores líquóricos de $A\beta_{42}$ reduzidos são propostos como biomarcadores para DA (Bertens *et al.*, 2017).

Neste estudo, também houve correlação negativa forte entre IMC e p-tau. Isto indica que, nos pacientes com DA, quanto menores os valores de IMC (conforme observado neste grupo), maior é a concentração de p-tau. Desta forma, pode-se considerar que maior fosforilação de proteína tau pode estar relacionada à perda de peso observada nestes pacientes. Embora estudos prévios não tenham reportado a correlação entre estes fatores em pacientes com DA, é possível compreendê-la ao considerar que já foi demonstrado que idosos com a demência apresentam menor IMC, comparando-se àqueles sem esta condição (Kang *et al.*, 2021), assim como os valores de p-tau líquóricos aumentam na doença (Schoonenboom *et al.*, 2012).

Os parâmetros do perfil lipídico e os mediadores inflamatórios avaliados neste estudo, entretanto, não mostraram estar correlacionados com os biomarcadores dosados no LCR dos pacientes diagnosticados com DA. Ressalta-se aqui o pequeno número amostral de pacientes com DA para os quais as dosagens

destes fatores estavam disponíveis ($n = 8$), o que pode ter influência sobre estes resultados. Em estudos com maior número de participantes, todavia, associações entre estes fatores foram relatadas. Em uma metanálise, reportou-se que os níveis séricos de CT e LDLc estavam associados a maior concentração de proteína tau no LCR (Wu *et al.*, 2019). Além disso, esterificação do colesterol plasmático em pacientes com DA foi significativamente associada aos níveis de $A\beta_{1-42}$ no LCR (Turri *et al.*, 2023). Em relação aos mediadores inflamatórios, correlações entre os níveis destes e dos biomarcadores para DA, ambos dosados em amostras de LCR de pacientes com a doença, já foram relatados, especialmente entre IL-8 e $A\beta$ (Corrêa *et al.*, 2011; Burgos *et al.*, 2022). Com base nisso, correlações entre os níveis periféricos de citocinas e biomarcadores líquóricos em pacientes com DA é algo que precisa ser melhor investigado.

8 LIMITAÇÕES

Os resultados apresentados precisam ser interpretados considerando-se as limitações do estudo, relacionadas à reprodução dos animais transgênicos e número restrito de amostras na parte animal, bem como pequeno número amostral e desenho transversal, na parte realizada com humanos. Portanto, não podem ser extrapolados para a população geral. O contexto de pandemia da covid-19 também foi um importante fator limitante, uma vez que exerceu influência direta na coleta de dados e nas atividades laboratoriais.

9 CONCLUSÕES

Os dados obtidos com a realização deste estudo, em conjunto, permitem as seguintes conclusões:

- No estudo *in vivo*: a dieta com acréscimo de 1,25% colesterol causou alterações hepáticas e neuroinflamação, relacionada à sinalização de IL-18 no hipocampo, tanto nos animais transgênicos para DA, quanto nos controles. Desta forma, não é possível associar o seu efeito à DA no modelo animal estudado. Contudo, a avaliação destes fatores em animais com idade mais avançada é aconselhada.
- No estudo com humanos:
 - Embora a presença de dislipidemia autorrelatada, bem como a utilização de estatinas, seja igual entre os pacientes e controles, indivíduos com DA+DFT apresentaram valores séricos de LDLc significativamente maiores em comparação aos controles. Isto pode ser um indicativo de que as alterações nos níveis periféricos de lipídios podem estar associadas à demência, ainda que este resultado, isoladamente, não permita fazer esta afirmação.
 - Pacientes com DA+DFT, ou somente com DA, apresentaram maiores níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70 e TNF, em comparação aos controles, evidenciando apresentarem um estado inflamatório sistêmico. No entanto, de acordo com as análises de regressão logística, não foi possível associar estes mediadores inflamatórios de forma independente às demências ou somente à DA.
 - Em indivíduos com DA+DFT, ou apenas com DA, houve correlações significativas entre parâmetros do perfil lipídico (CT e LDLc), medidas antropométricas (circunferência abdominal e IMC) e moléculas relacionadas ao inflamassoma NLRP3 (IL-18 e caspase-1). Apesar deste tipo de análise não permitir fazer associações diretas entre estes fatores, estes dados sugerem a investigação desta relação em estudos posteriores.

É relevante considerar que este estudo avaliou a associação entre três fatores – alterações periféricas do colesterol, inflamassoma NLRP3 e DA – que, apesar de já terem sido associados separadamente em estudos anteriores, ainda não haviam sido investigados em conjunto. Os resultados aqui reportados, por sua vez, embasam a realização de estudos posteriores empregando metodologias mais robustas, para melhor compreensão a respeito dos mecanismos envolvendo os objetos deste estudo, contribuindo para o direcionamento de potenciais alvos farmacológicos para estas doenças. Isto é de fundamental importância, pois as demências, incluindo a DA, são condições que causam grande impacto na sociedade e ainda não apresentam estratégias terapêuticas curativas.

Por fim, conforme mencionado anteriormente, apesar de não ter sido possível associar o efeito do acréscimo de 1,25% colesterol à dieta ao desenvolvimento de demência no modelo animal estudado, foi possível observar alterações hepáticas e neuroinflamação relacionada à sinalização de IL-18 no hipocampo, tanto nos animais transgênicos para DA, quanto nos controles. Tal fato sugere fortemente um *link* entre distúrbios lipídicos e desencadeamento do processo de neuroinflamação que, por sua vez, constitui um evento importante no processo de instalação da demência, notadamente a DA. Além disso, as alterações observadas na parte do estudo com humanos, relacionados particularmente à dislipidemia e à inflamação, reforçam a ideia da participação destes componentes no processo de desenvolvimento de demências.

REFERÊNCIAS

ABDULRAHMAN, H.; VAN DALEN, J. W.; DEN BROK, M.; LATIMER, C. S.; LARSON, E. B.; RICHARD, E. Hypertension and Alzheimer's disease pathology at autopsy: A systematic review. *v. 18, n. 11, p. 2308-2326, 2022.*

ABESO. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. São Paulo: Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, 2016.

AFONSO, M. S.; MACHADO, R. M.; LAVRADOR, M. S.; QUINTAO, E. C. R.; MOORE, K. J.; LOTTENBERG, A. M. Molecular pathways underlying cholesterol homeostasis. **Nutrients**, *v. 10, n. 6, p. 760, 2018.*

AGARWAL, M.; KHAN, S. Plasma Lipids as Biomarkers for Alzheimer's Disease: A Systematic Review. **Cureus**, *v. 12, n. 12, p. e12008, Dec 10 2020.*

AHERNE, S. A. Milk Lipids | Cholesterol: Factors Determining Levels in Blood. In: FUQUAY, J. W. (Ed.). **Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2011. *p.727-733. ISBN 978-0-12-374407-4.*

AHMED, R. M.; IRISH, M.; KAM, J.; VAN KEIZERSWAARD, J.; BARTLEY, L.; SAMARAS, K.; HODGES, J. R.; PIGUET, O. Quantifying the Eating Abnormalities in Frontotemporal Dementia. **JAMA Neurol**, *v. 71, n. 12, p. 1540-1546, 2014.*

ALSUBAIE, N.; AL-KURAI SHY, H. M.; AL-GAREEB, A. I.; ALHARBI, B.; DE WAARD, M.; SABATIER, J.-M.; SAAD, H. M.; BATIHA, G. E.-S. Statins Use in Alzheimer Disease: Bane or Boon from Frantic Search and Narrative Review. *v. 12, n. 10, p. 1290, 2022.*

ALTMANN, S. W.; DAVIS, H. R., JR.; ZHU, L. J.; YAO, X.; HOOS, L. M.; TETZLOFF, G.; IYER, S. P.; MAGUIRE, M.; GOLOVKO, A.; ZENG, M.; WANG, L.; MURGOLO, N.; GRAZIANO, M. P. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. **Science**, *v. 303, n. 5661, p. 1201-4, Feb 20 2004.*

Alzheimer's association. **Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement.**, *v. 17, n. 3, p. 327-406, Mar 2021.*

Alzheimer's Association. 2023 Alzheimer's disease facts and figures., 2023. Disponível em: < <https://www.alz.org/media/documents/alzheimers-facts-and-figures.pdf> >. Acesso em: 26/08/2023.

Alzheimer's Association. Frontotemporal Dementia., 2023. Disponível em: < <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-dementia/types-of-dementia/frontotemporal-dementia> >. Acesso em: 21/08/2023.

ANCHISI, L.; DESSÌ, S.; PANI, A.; MANDAS, A. Cholesterol homeostasis: a key to prevent or slow down neurodegeneration. **Front Physiol**, v. 3, p. 486, 2013.

ANDRADE, K. A. P. J. A. V. D. F. Y. T. Abdominal circumference cut-off point: an overview. v. 41, n. 4, p. 299-306, 2022.

ANSTEY, K. J.; ASHBY-MITCHELL, K.; PETERS, R. Updating the evidence on the association between serum cholesterol and risk of late-life dementia: review and meta-analysis. **J Alzheimers Dis**, v. 56, n. 1, p. 215-228, 2017.

AOKI, K.; UCHIHARA, T.; SANJO, N.; NAKAMURA, A.; IKEDA, K.; TSUCHIYA, K.; WAKAYAMA, Y. Increased expression of neuronal apolipoprotein E in human brain with cerebral infarction. **Stroke**, v. 34, n. 4, p. 875-80, Apr 2003.

APOLINÁRIO, D.; ARAÚJO, L.; CHAVES, M.; LOPES, L.; OKAMOTO, I.; RAMOS, A.; AT, A. S.; ANDRADA, N. Doença de Alzheimer: Diagnóstico. **Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar. Autoria: Academia Brasileira de Neurologia, Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia, Sociedade Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, 2011.

ARAÚJO, L. M. Q.; LOPES, L. D. C. Doença de Alzheimer: Diagnóstico. **Comissão de Educação Continuada, Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia.**, 2013.

AVILA, J.; LUCAS, J. J.; PÉREZ, M.; HERNÁNDEZ, F. Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions. v. 84, n. 2, p. 361-384, 2004.

BACON, S. Central Adiposity. In: GELLMAN, M. D. e TURNER, J. R. (Ed.). **Encyclopedia of Behavioral Medicine**. New York, NY: Springer New York, 2013. p.368-369. ISBN 978-1-4419-1005-9.

BEAM, C. R.; KANESHIRO, C.; JANG, J. Y.; REYNOLDS, C. A.; PEDERSEN, N. L.; GATZ, M. Differences between women and men in incidence rates of dementia and Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis**, v. 64, n. 4, p. 1077-1083, 2018.

BEHL, T.; KAUR, I.; SEHGAL, A.; SINGH, S.; SHARMA, N.; MAKEEN, H. A.; ALBRATTY, M.; ALHAZMI, H. A.; FELEMBAN, S. G.; ALSUBAYIEL, A. M.; BHATIA, S.; BUNGAU, S. "Aducanumab" making a comeback in Alzheimer's

disease: An old wine in a new bottle. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 148, p. 112746, 2022/04/01/ 2022.

BENZING, W. C.; WUJEK, J. R.; WARD, E. K.; SHAFFER, D.; ASHE, K. H.; YOUNKIN, S. G.; BRUNDEN, K. R. Evidence for glial-mediated inflammation in aged APPSW transgenic mice. **Neurobiology of aging**, v. 20, n. 6, p. 581-589, 1999/11/01/ 1999.

BERNARDI, S.; MARCUZZI, A.; PISCIANZ, E.; TOMMASINI, A.; FABRIS, B. The Complex Interplay between Lipids, Immune System and Interleukins in Cardio-Metabolic Diseases. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 12, Dec 14 2018.

BERTENS, D.; TIJMS, B. M.; SCHELTENS, P.; TEUNISSEN, C. E.; VISSER, P. J. Unbiased estimates of cerebrospinal fluid β -amyloid 1–42 cutoffs in a large memory clinic population. **Alzheimer's research & therapy**, v. 9, n. 1, p. 8, 2017/02/14 2017.

BERTOLA, L.; SUEMOTO, CLAUDIA K.; ALIBERTI, M. J. R.; GOMES GONÇALVES, N.; PINHO, PEDRO JOSÉ DE MORAES R.; CASTRO-COSTA, E.; LIMA-COSTA, MARIA F.; FERRI, CLEUSA P. Prevalence of Dementia and Cognitive Impairment No Dementia in a Large and Diverse Nationally Representative Sample: The ELSI-Brazil Study. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 78, n. 6, p. 1060-1068, 2023.

BERTOLUCCI, P. H.; BRUCKI, S.; CAMPACCI, S. R.; JULIANO, Y. O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 52, n. 1, p. 01-07, 1994.

BETTERS, J. L.; YU, L. NPC1L1 and cholesterol transport. **FEBS Lett**, v. 584, n. 13, p. 2740-7, Jul 2 2010.

BEVAN-JONES, W. R.; COPE, T. E.; JONES, P. S.; KAALUND, S. S.; PASSAMONTI, L.; ALLINSON, K.; GREEN, O.; HONG, Y. T.; FRYER, T. D.; ARNOLD, R.; COLES, J. P.; AIGBIRHIO, F. I.; LARNER, A. J.; PATTERSON, K.; O'BRIEN, J. T.; ROWE, J. B. Neuroinflammation and protein aggregation co-localize across the frontotemporal dementia spectrum. **Brain**, v. 143, n. 3, p. 1010-1026, Mar 1 2020.

BOCCARDI, V.; BARONI, M.; CECCHETTI, R.; SCAMOSCI, M.; BASTIANI, P.; MECOCCI, P. Serum interleukin-6 levels are higher in old age subjects with Alzheimer's dementia. **Geriatric Care**, v. 7, n. 1, 02/19 2021.

BOSNER, M. S.; LANGE, L. G.; STENSON, W. F.; OSTLUND, R. E., JR. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual

stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. **J Lipid Res**, v. 40, n. 2, p. 302-8, Feb 1999.

BOSOMWORTH, N. J. Normal-weight central obesity: Unique hazard of the toxic waist. **Can Fam Physician**, v. 65, n. 6, p. 399-408, Jun 2019.

BOSSÙ, P.; CIARAMELLA, A.; SALANI, F.; BIZZONI, F.; VARSI, E.; DI IULIO, F.; GIUBILEI, F.; GIANNI, W.; TREQUATTRINI, A.; MORO, M. L.; BERNARDINI, S.; CALTAGIRONE, C.; SPALLETTA, G. Interleukin-18 produced by peripheral blood cells is increased in Alzheimer's disease and correlates with cognitive impairment. **Brain, behavior, and immunity**, v. 22, n. 4, p. 487-492, 2008/05/01/ 2008.

BOYLES, J. K.; PITAS, R. E.; WILSON, E.; MAHLEY, R. W.; TAYLOR, J. M. Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. **J Clin Invest**, v. 76, n. 4, p. 1501-13, Oct 1985.

BRENNAN, K.; ZHENG, J. Interleukin 8. In: ENNA, S. J. e BYLUND, D. B. (Ed.). **xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference**. New York: Elsevier, 2007. p.1-4. ISBN 978-0-08-055232-3.

BRETAG-NORRIS, R.; GALLUR, L.; FLYNN, P. Heterogeneity in the psychiatric presentation of behavioural variant frontotemporal dementia (bvFTD). **Australas Psychiatry**, v. 27, n. 5, p. 491-495, Oct 2019.

BROSSERON, F.; KRAUTHAUSEN, M.; KUMMER, M.; HENEKA, M. T. Body fluid cytokine levels in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a comparative overview. **Mol Neurobiol**, v. 50, n. 2, p. 534-544, 2014.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. **Cell**, v. 89, n. 3, p. 331-40, May 2 1997.

BROWNE, T. C.; MCQUILLAN, K.; MCMANUS, R. M.; O'REILLY, J.-A.; MILLS, K. H.; LYNCH, M. A. IFN- γ production by amyloid β -Specific Th1 cells promotes microglial activation and increases plaque burden in a mouse model of alzheimer's disease. **The Journal of Immunology**, v. 190, n. 5, p. 2241-2251, 2013.

BUDNI, J.; BELLETTINI-SANTOS, T.; MINA, F.; GARCEZ, M. L.; ZUGNO, A. I. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. **Aging Dis**, v. 6, n. 5, p. 331-41, Sep 2015.

BURGOS, I. C. B.; HANSEN, E. D. O.; ROMANO-SILVA, M. A.; MIRANDA SR., D.; VIANA, B. D. M.; BICALHO, M. A. C.; AGING, R. G. O.; DISEASES, N. Relationship between cytokines and β -amyloid and Tau protein in the CSF of patients with Alzheimer's disease, amnesic mild cognitive impairment, and individuals without subjective cognitive impairment. v. 18, n. S6, p. e069465, 2022.

CALISSANO, P.; MATRONE, C.; AMADORO, G. Nerve growth factor as a paradigm of neurotrophins related to Alzheimer's disease. **Dev Neurobiol**, v. 70, n. 5, p. 372-83, Apr 2010.

CHAMBERS, C. M.; NESS, G. C. Dietary cholesterol regulates hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression in rats primarily at the level of translation. **Arch Biochem Biophys**, v. 354, n. 2, p. 317-22, Jun 15 1998.

CHAN, D. K.; REUTENS, S.; LIU, D. K.; CHAN, R. O. Frontotemporal dementia - features, diagnosis and management. **Aust Fam Physician**, v. 40, n. 12, p. 968-72, Dec 2011.

CHAN, J.; KARERE, G. M.; COX, L. A.; VANDEBERG, J. L. **Animal models of diet-induced Hypercholesterolemia**. IntechOpen Rijeka, 2015.

CHEN, G.-F.; XU, T.-H.; YAN, Y.; ZHOU, Y.-R.; JIANG, Y.; MELCHER, K.; XU, H. E. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 38, n. 9, p. 1205-1235, 2017.

CHIRASANI, V. R.; SENAPATI, S. How cholesteryl ester transfer protein can also be a potential triglyceride transporter. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2017.

CHO, G. J.; HWANG, S. Y.; LEE, K.-M.; CHOI, K. M.; HYUN BAIK, S.; KIM, T.; HAN, S. W.; YOO, H. J. Association Between Waist Circumference and Dementia in Older Persons: A Nationwide Population-Based Study. v. 27, n. 11, p. 1883-1891, 2019.

CHOI, D.; CHOI, S.; PARK, S. M. Effect of smoking cessation on the risk of dementia: a longitudinal study. **Ann Clin Transl Neurol**, v. 5, n. 10, p. 1192-1199, 2018.

CHU, C.-S.; TSENG, P.-T.; STUBBS, B.; CHEN, T.-Y.; TANG, C.-H.; LI, D.-J.; YANG, W.-C.; CHEN, Y.-W.; WU, C.-K.; VERONESE, N. Use of statins and the risk of dementia and mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. **Sci Rep**, v. 8, n. 1, p. 5804, 2018.

CHU, M.; WEN, L.; JIANG, D.; LIU, L.; NAN, H.; YUE, A.; WANG, Y.; WANG, Y.; QU, M.; WANG, N.; WU, L. Peripheral inflammation in behavioural variant frontotemporal dementia: associations with central degeneration and clinical measures. **J Neuroinflammation**, v. 20, n. 1, p. 65, 2023/03/08 2023.

CHUNG, H. Y.; KIM, D. H.; LEE, E. K.; CHUNG, K. W.; CHUNG, S.; LEE, B.; SEO, A. Y.; CHUNG, J. H.; JUNG, Y. S.; IM, E. Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases: Proposal of the Senoinflammation Concept. **Aging Dis**, v. 10, n. 2, p. 367, 2019.

CIPRIANI, G.; DANTI, S.; PICCHI, L.; NUTI, A.; FIORINO, M. D. Daily functioning and dementia. **Dement Neuropsychol**, v. 14, n. 2, p. 93-102, 2020.

Committee on Nutrition. American Heart Association. Diet and Heart Disease., Dallas, TX, USA, 1968.

COPPOLINO, G.; BOLIGNANO, D.; GARERI, P.; RUBERTO, C.; ANDREUCCI, M.; RUOTOLO, G.; ROCCA, M.; CASTAGNA, A. Kidney function and cognitive decline in frail elderly: two faces of the same coin? **Int Urol Nephrol**, v. 50, n. 8, p. 1505-1510, Aug 2018.

CORRÊA, J. D.; STARLING, D.; TEIXEIRA, A. L.; CARAMELLI, P.; SILVA, T. A. J. A. D. N.-P. Chemokines in CSF of Alzheimer's disease patients. v. 69, p. 455-459, 2011.

D'ANNA, L.; ABU-RUMEILEH, S.; FABRIS, M.; PISTIS, C.; BALDI, A.; SANVILLI, N.; CURCIO, F.; GIGLI, G. L.; D'ANNA, S.; VALENTE, M. Serum interleukin-10 levels correlate with cerebrospinal fluid amyloid beta deposition in Alzheimer disease patients. **Neurodegener Dis**, v. 17, n. 4-5, p. 227-234, 2017.

DE HOLLANDER, E. L.; BEMELMANS, W. J.; BOSHUIZEN, H. C.; FRIEDRICH, N.; WALLASCHOFSKI, H.; GUALLAR-CASTILLÓN, P.; WALTER, S.; ZILLIKENS, M. C.; ROSENGREN, A.; LISSNER, L. The association between waist circumference and risk of mortality considering body mass index in 65-to 74-year-olds: a meta-analysis of 29 cohorts involving more than 58 000 elderly persons. **International journal of epidemiology**, v. 41, n. 3, p. 805-817, 2012.

DE NAZARETH, A. M. Type 2 diabetes mellitus in the pathophysiology of Alzheimer's disease. **Dement Neuropsychol**, v. 11, n. 2, p. 105-113, Apr-Jun 2017.

DECARLI, C. The link between blood pressure and Alzheimer's disease. **Lancet Neurol**, v. 20, n. 11, p. 878-879, Nov 2021.

DEISTER, C.; SCHMIDT, C. E. Optimizing neurotrophic factor combinations for neurite outgrowth. **J Neural Eng**, v. 3, n. 2, p. 172-9, Jun 2006.

DELLA VEDOVA, M. C.; MUÑOZ, M. D.; SANTILLAN, L. D.; PLATEO-PIGNATARI, M. G.; GERMANÓ, M. J.; RINALDI TOSI, M. E.; GARCIA, S.; GOMEZ, N. N.; FORNES, M. W.; GOMEZ MEJIBA, S. E.; RAMIREZ, D. C. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity Resembling Most Features of Human Metabolic Syndrome. **Nutr Metab Insights**, v. 9, p. 93-102, 2016.

DICKSON, S. P.; HENNESSEY, S.; NICODEMUS JOHNSON, J.; KNOWLTON, N.; HENDRIX, S. B. Avoiding future controversies in the Alzheimer's disease space through understanding the aducanumab data and FDA review. **Alzheimer's research & therapy**, v. 15, n. 1, p. 98, 2023/05/24 2023.

DO CARMO, F. S.; PIRES, S. L.; GORZONI, M. L.; MIORIN, L. A. Cognitive and renal dysfunction in the elderly. **Dement Neuropsychol**, v. 7, n. 4, p. 397-402, Oct-Dec 2013.

DUEWELL, P.; KONO, H.; RAYNER, K. J.; SIROIS, C. M.; VLADIMIR, G.; BAUERNFEIND, F. G.; ABELA, G. S.; FRANCHI, L.; NUNEZ, G.; SCHNURR, M. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. **Nature**, v. 464, n. 7293, p. 1357-1361, 2010.

DUEZ, H.; POURCET, B. Nuclear receptors in the control of the NLRP3 inflammasome pathway. **Front Endocrinol**, v. 12, p. 9, 2021.

ELEY, B. S.; BEATTY, D. W. Chapter 8 - The basic immunology of tuberculosis. In: SCHAAF, H. S.; ZUMLA, A. I.; GRANGE, J. M.; RAVIGLIONE, M. C.; YEW, W. W.; STARKE, J. R.; PAI, M. e DONALD, P. R. (Ed.). **Tuberculosis**. Edinburgh: W.B. Saunders, 2009. p.75-86. ISBN 978-1-4160-3988-4.

ELWOOD, E.; LIM, Z.; NAVEED, H.; GALEA, I. The effect of systemic inflammation on human brain barrier function. **Brain Behav Immun**, v. 62, p. 35-40, 2017.

ERBAYRAKTAR, Z.; TURAN EVLICE, A.; YILMAZ, G.; YAZICI, C.; YENER, G.; ULUSU, N. N. Evaluation of Renal Function in Alzheimer's Disease and Geriatric Patients: Results from a Turkish Two-center Study. **J Med Biochem**, v. 36, n. 1, p. 54-61, Jan 2017.

ESANG, M.; GUPTA, M. Aducanumab as a Novel Treatment for Alzheimer's Disease: A Decade of Hope, Controversies, and the Future. **Cureus**, v. 13, n. 8, p. e17591, Aug 2021.

ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DÂMASO, A. R.; RIBEIRO, E. B.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 218-224, 2004/02/01/2004.

FALCO, A. D.; CUKIERMAN, D. S.; HAUSER-DAVIS, R. A.; REY, N. A. J. Q. N. Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. v. 39, p. 63-80, 2016.

FALUDI, A. A.; IZAR, M. C. D. O.; SARAIVA, J. F. K.; CHACRA, A. P. M.; BIANCO, H. T.; AFIUNE, A.; BERTOLAMI, A.; PEREIRA, A. C.; LOTTENBERG, A. M.; SPOSITO, A. C. J. A. B. D. C. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. v. 109, p. 1-76, 2017.

FAN, X.; LIU, B.; ZHOU, J.; GU, X.; ZHOU, Y.; YANG, Y.; GUO, F.; WEI, X.; WANG, H.; SI, N.; YANG, J.; BIAN, B.; ZHAO, H. High-Fat Diet Alleviates Neuroinflammation and Metabolic Disorders of APP/PS1 Mice and the Intervention With Chinese Medicine. **Front Aging Neurosci**, v. 13, p. 658376, 2021.

FARIA, M. C.; GONÇALVES, G. S.; ROCHA, N. P.; MORAES, E. N.; BICALHO, M. A.; GUALBERTO CINTRA, M. T.; JARDIM DE PAULA, J.; JOSÉ RAVIC DE MIRANDA, L. F.; CLAYTON DE SOUZA FERREIRA, A.; TEIXEIRA, A. L.; GOMES, K. B.; CARVALHO, M.; SOUSA, L. P. Increased plasma levels of BDNF and inflammatory markers in Alzheimer's disease. **J Psychiatr Res**, v. 53, p. 166-72, Jun 2014.

FARRALL, A. J.; WARDLAW, J. M. Blood–brain barrier: ageing and microvascular disease–systematic review and meta-analysis. **Neurobiol Aging**, v. 30, n. 3, p. 337-352, 2009.

FEITOSA-FILHO, G.; PEIXOTO, J.; PINHEIRO, J.; AFIUNE NETO, A.; ALBUQUERQUE, A.; CATTANI, A. Atualização das Diretrizes em Cardiogeriatría da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol**, v. 112, n. 5, p. 649-705, 2019.

FELDMAN, H. H.; DOODY, R. S.; KIVIPELTO, M.; SPARKS, D. L.; WATERS, D. D.; JONES, R. W.; SCHWAM, E.; SCHINDLER, R.; HEY-HADAVI, J.;

DEMICCO, D. A.; BREAZNA, A. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease. **Neurology**, v. 74, n. 12, p. 956, 2010.

FERINGA, F. M.; VAN DER KANT, R. Cholesterol and Alzheimer's Disease; From Risk Genes to Pathological Effects. v. 13, 2021-June-24 2021.

FERNANDEZ, M. L.; MURILLO, A. G. Is There a Correlation between Dietary and Blood Cholesterol? Evidence from Epidemiological Data and Clinical Interventions. **Nutrients**, v. 14, n. 10, May 23 2022.

FERREIRA, E. S.; SILVA, M. A.; DEMONTE, A.; NEVES, V. A. Soy β -conglycinin (7S globulin) reduces plasma and liver cholesterol in rats fed hypercholesterolemic diet. **J Med Food**, v. 14, n. 1-2, p. 94-100, Jan-Feb 2011.

FERRETTI, C.; SARTI, F. M.; NITRINI, R.; FERREIRA, F. F.; BRUCKI, S. M. D. An assessment of direct and indirect costs of dementia in Brazil. **PLoS One**, v. 13, n. 3, p. e0193209, 2018.

FETER, N.; LEITE, J. S. Is Brazil ready for the expected increase in dementia prevalence? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, 2021.

FINNIE, G.; GUNNARSSON, R.; MANAVIS, J.; BLUMBERGS, P.; MANDER, K.; EDWARDS, S.; VAN DEN HEUVEL, C.; FINNIE, J. Characterization of an 'Amyloid Only' Transgenic (B6C3-Tg (APP^{swe}, PSEN1^{dE9}) 85Dbo/Mmjax) Mouse Model of Alzheimer's Disease. **Journal of comparative pathology**, v. 156, n. 4, p. 389-399, 2017.

FLORES, J.; NOËL, A.; FOVEAU, B.; LYNHAM, J.; LECRUX, C.; LEBLANC, A. C. Caspase-1 inhibition alleviates cognitive impairment and neuropathology in an Alzheimer's disease mouse model. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 3916, 2018/09/25 2018.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **J Biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **J Psychiatr Res**, v. 12, n. 3, p. 189-198, 1975.

FORLENZA, O. V.; DINIZ, B. S.; GATTAZ, W. F. Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease. **BMC Med**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2010.

FORLENZA, O. V.; DINIZ, B. S.; TALIB, L. L.; MENDONÇA, V. A.; OJOPI, E. B.; GATTAZ, W. F.; TEIXEIRA, A. L. Increased serum IL-1 β level in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 28, n. 6, p. 507-512, 2009.

FORLENZA, O. V.; DINIZ, B. S.; TEIXEIRA, A. L.; OJOPI, E. B.; TALIB, L. L.; MENDONÇA, V. A.; IZZO, G.; GATTAZ, W. F. Effect of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and serum levels on the progression of mild cognitive impairment. **World J Biol Psychiatry**, v. 11, n. 6, p. 774-80, Sep 2010.

FORLENZA, O. V.; MIRANDA, A. S.; GUIMAR, I.; TALIB, L. L.; DINIZ, B. S.; GATTAZ, W. F.; TEIXEIRA, A. L. Decreased Neurotrophic Support is Associated with Cognitive Decline in Non-Demented Subjects. **J Alzheimers Dis**, v. 46, n. 2, p. 423-9, 2015.

GALIMBERTI, D.; BONSI, R.; FENOGLIO, C.; SERPENTE, M.; CIOFFI, S. M. G.; FUMAGALLI, G.; ARIGHI, A.; GHEZZI, L.; ARCARO, M.; MERCURIO, M.; ROTONDO, E.; SCARPINI, E. Inflammatory molecules in Frontotemporal Dementia: Cerebrospinal fluid signature of progranulin mutation carriers. **Brain, behavior, and immunity**, v. 49, p. 182-187, 2015/10/01/ 2015.

GAMBA, P.; STAURENGHI, E.; TESTA, G.; GIANNELLI, S.; SOTTERO, B.; LEONARDUZZI, G. A crosstalk between brain cholesterol oxidation and glucose metabolism in Alzheimer's disease. **Front Neurosci**, v. 13, p. 556, 2019.

GAMBA, P.; TESTA, G.; GARGIULO, S.; STAURENGHI, E.; POLI, G.; LEONARDUZZI, G. Oxidized cholesterol as the driving force behind the development of Alzheimer's disease. **Front Aging Neurosci**, v. 7, p. 119, 2015.

GAO, L.; ZHANG, Y.; STERLING, K.; SONG, W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. **Translational neurodegeneration**, v. 11, n. 1, p. 4, 2022/01/28 2022.

GETZ, G. S.; REARDON, C. A. Diet and Murine Atherosclerosis. v. 26, n. 2, p. 242-249, 2006.

GHETTI, B.; OBLAK, A. L.; BOEVE, B. F.; JOHNSON, K. A.; DICKERSON, B. C.; GOEDERT, M. Invited review: Frontotemporal dementia caused by microtubule-associated protein tau gene (MAPT) mutations: a chameleon for

neuropathology and neuroimaging. **Neuropathol Appl Neurobiol**, v. 41, n. 1, p. 24-46, Feb 2015.

GHRIBI, O. Potential mechanisms linking cholesterol to Alzheimer's disease-like pathology in rabbit brain, hippocampal organotypic slices, and skeletal muscle. **J Alzheimers Dis**, v. 15, n. 4, p. 673-684, 2008.

Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet Neurol**, v. 18, n. 1, p. 88-106, Jan 2019.

GOEDEKE, L.; FERNÁNDEZ-HERNANDO, C. Regulation of cholesterol homeostasis. **Cell Mol Life Sci**, v. 69, n. 6, p. 915-930, 2012.

GRØNNESTAD, R.; JOHANSON, S. M.; MÜLLER, M. H. B.; SCHLENK, D.; TANABE, P.; KRØKJE, Å.; JASPERS, V. L. B.; JENSSEN, B. M.; RÆDER, E. M.; LYCHE, J. L.; SHI, Q.; ARUKWE, A. Effects of an environmentally relevant PFAS mixture on dopamine and steroid hormone levels in exposed mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 428, p. 115670, 2021/10/01/ 2021.

GUSTIN, A.; KIRCHMEYER, M.; KONCINA, E.; FELTEN, P.; LOSCIUTO, S.; HEURTAUX, T.; TARDIVEL, A.; HEUSCHLING, P.; DOSTERT, C. NLRP3 Inflammasome Is Expressed and Functional in Mouse Brain Microglia but Not in Astrocytes. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0130624, 2015.

HAIR, J., ANDERSON, R., TATHAM, R. BLACK, W. Multivariate data analysis. 1998.

HALL, J. R.; WIECHMANN, A. R.; JOHNSON, L. A.; EDWARDS, M.; BARBER, R. C.; CUNNINGHAM, R.; SINGH, M.; O'BRYANT, S. E. Total cholesterol and neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: the impact of total cholesterol level and gender. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 38, n. 5-6, p. 300-9, 2014.

HALLE, A.; HORNUNG, V.; PETZOLD, G. C.; STEWART, C. R.; MONKS, B. G.; REINHECKEL, T.; FITZGERALD, K. A.; LATZ, E.; MOORE, K. J.; GOLENBOCK, D. T. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid- β . **Nat Immunol**, v. 9, n. 8, p. 857-865, 2008.

HANSEEUW, B. J.; BETENSKY, R. A.; JACOBS, H. I.; SCHULTZ, A. P.; SEPULCRE, J.; BECKER, J. A.; COSIO, D. M. O.; FARRELL, M.; QUIROZ, Y. T.; MORMINO, E. C. Association of amyloid and tau with cognition in preclinical Alzheimer disease: a longitudinal study. **JAMA Neurol**, v. 76, n. 8, p. 915-924, 2019.

HANSLIK, K. L.; ULLAND, T. K. The role of microglia and the Nlrp3 Inflammasome in Alzheimer's disease. **Front Neurol**, v. 11, p. 1063, 2020.

HARADA, M.; VAN WAGONER, D. R.; NATTEL, S. Role of inflammation in atrial fibrillation pathophysiology and management. **Circ J**, v. 79, n. 3, p. 495-502, 2015.

HASHIGUCHI, D. Efeitos do exercício resistido e do transplante de células tronco mesenquimais em camundongos transgênicos para a doença de Alzheimer [Dissertação de mestrado]. **UNIFESP**, 2019.

HE, Q.; LI, Q.; ZHAO, J.; WU, T.; JI, L.; HUANG, G.; MA, F. Relationship between plasma lipids and mild cognitive impairment in the elderly Chinese: a case-control study. **Lipids Health Dis**, v. 15, n. 1, p. 146, Sep 5 2016.

HELLWEG, R.; GERICKE, C. A.; JENDROSKA, K.; HARTUNG, H. D.; CERVÓS-NAVARRO, J. NGF content in the cerebral cortex of non-demented patients with amyloid-plaques and in symptomatic Alzheimer's disease. **Int J Dev Neurosci**, v. 16, n. 7-8, p. 787-94, Nov-Dec 1998.

HELZNER, E. P.; LUCHSINGER, J. A.; SCARMEAS, N.; COSENTINO, S.; BRICKMAN, A. M.; GLYMOUR, M. M.; STERN, Y. Contribution of vascular risk factors to the progression in Alzheimer disease. **Arch Neurol**, v. 66, n. 3, p. 343-8, Mar 2009.

HENDRIKX, T.; JEURISSEN, M. L.; VAN GORP, P. J.; GIJBELS, M. J.; WALENBERGH, S. M.; HOUBEN, T.; VAN GORP, R.; PÖTTGENS, C. C.; STIENSTRA, R.; NETEA, M. G. Bone marrow-specific caspase-1/11 deficiency inhibits atherosclerosis development in Ldlr^{-/-} mice. **FEBS J**, v. 282, n. 12, p. 2327-2338, 2015.

HENEKA, M. T.; KUMMER, M. P.; STUTZ, A.; DELEKATE, A.; SCHWARTZ, S.; VIEIRA-SAECKER, A.; GRIEP, A.; AXT, D.; REMUS, A.; TZENG, T.-C. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. **Nature**, v. 493, n. 7434, p. 674-678, 2013.

HEPPNER, F. L.; RANSOHOFF, R. M.; BECHER, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. **Nat Rev Neurosci**, v. 16, n. 6, p. 358, 2015.

HOCK, C.; HEESE, K.; HULETTE, C.; ROSENBERG, C.; OTTEN, U. Region-specific neurotrophin imbalances in Alzheimer disease: decreased levels of

brain-derived neurotrophic factor and increased levels of nerve growth factor in hippocampus and cortical areas. **Arch Neurol**, v. 57, n. 6, p. 846-51, Jun 2000.

HSIAO, Y. H.; HUNG, H. C.; CHEN, S. H.; GEAN, P. W. Social interaction rescues memory deficit in an animal model of Alzheimer's disease by increasing BDNF-dependent hippocampal neurogenesis. **J Neurosci**, v. 34, n. 49, p. 16207-19, Dec 3 2014.

HUANG, Y.; WEISGRABER, K. H.; MUCKE, L.; MAHLEY, R. W. Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease. **J Mol Neurosci**, v. 23, n. 3, p. 189-204, 2004.

INOHARA, N.; CHAMAILLARD, M.; MCDONALD, C.; NUÑEZ, G. NOD-LRR PROTEINS: Role in Host-Microbial Interactions and Inflammatory Disease. v. 74, n. 1, p. 355-383, 2005.

IQBAL, G.; BRAIDY, N.; AHMED, T. Blood-Based Biomarkers for Predictive Diagnosis of Cognitive Impairment in a Pakistani Population. **Front Aging Neurosci**, v. 12, p. 223, 2020.

ISING, C.; VENEGAS, C.; ZHANG, S.; SCHEIBLICH, H.; SCHMIDT, S. V.; VIEIRA-SAECKER, A.; SCHWARTZ, S.; ALBASSET, S.; MCMANUS, R. M.; TEJERA, D. NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology. **Nature**, v. 575, n. 7784, p. 669-673, 2019.

ITALIANI, P.; PUXEDDU, I.; NAPOLETANO, S.; SCALA, E.; MELILLO, D.; MANOCCHIO, S.; ANGIOLILLO, A.; MIGLIORINI, P.; BORASCHI, D.; VITALE, E. J. J. O. N. Circulating levels of IL-1 family cytokines and receptors in Alzheimer's disease: new markers of disease progression? **J Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2018.

JANG, D.-I.; LEE, A.-H.; SHIN, H.-Y.; SONG, H.-R.; PARK, J.-H.; KANG, T.-B.; LEE, S.-R.; YANG, S.-H. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. v. 22, n. 5, p. 2719, 2021.

JANSEN, W. J.; OSSENKOPPELE, R.; KNOL, D. L.; TIJMS, B. M.; SCHELTENS, P.; VERHEY, F. R.; VISSER, P. J.; AALTEN, P.; AARSLAND, D.; ALCOLEA, D.; ALEXANDER, M.; ALMDAHL, I. S.; ARNOLD, S. E.; BALDEIRAS, I.; BARTHEL, H.; VAN BERCKEL, B. N.; BIBEAU, K.; BLENNOW, K.; BROOKS, D. J.; VAN BUCHEM, M. A.; CAMUS, V.; CAVEDO, E.; CHEN, K.; CHETELAT, G.; COHEN, A. D.; DRZEZGA, A.; ENGELBORGH, S.; FAGAN, A. M.; FLADBY, T.; FLEISHER, A. S.; VAN DER FLIER, W. M.; FORD, L.; FÖRSTER, S.; FORTEA, J.; FOSKETT, N.; FREDERIKSEN, K. S.;

FREUND-LEVI, Y.; FRISONI, G. B.; FROELICH, L.; GABRYELEWICZ, T.; GILL, K. D.; GKATZIMA, O.; GÓMEZ-TORTOSA, E.; GORDON, M. F.; GRIMMER, T.; HAMPEL, H.; HAUSNER, L.; HELLWIG, S.; HERUKKA, S. K.; HILDEBRANDT, H.; ISHIHARA, L.; IVANOIU, A.; JAGUST, W. J.; JOHANNSEN, P.; KANDIMALLA, R.; KAPAKI, E.; KLIMKOWICZ-MROWIEC, A.; KLUNK, W. E.; KÖHLER, S.; KOGLIN, N.; KORNHUBER, J.; KRAMBERGER, M. G.; VAN LAERE, K.; LANDAU, S. M.; LEE, D. Y.; DE LEON, M.; LISETTI, V.; LLEÓ, A.; MADSEN, K.; MAIER, W.; MARCUSSON, J.; MATTSSON, N.; DE MENDONÇA, A.; MEULENBROEK, O.; MEYER, P. T.; MINTUN, M. A.; MOK, V.; MOLINUEVO, J. L.; MØLLERGÅRD, H. M.; MORRIS, J. C.; MROCKO, B.; VAN DER MUSSELE, S.; NA, D. L.; NEWBERG, A.; NORDBERG, A.; NORDLUND, A.; NOVAK, G. P.; PARASKEVAS, G. P.; PARNETTI, L.; PERERA, G.; PETERS, O.; POPP, J.; PRABHAKAR, S.; RABINOVICI, G. D.; RAMAKERS, I. H.; RAMI, L.; RESENDE DE OLIVEIRA, C.; RINNE, J. O.; RODRIGUE, K. M.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E.; ROE, C. M.; ROT, U.; ROWE, C. C.; RÜTHER, E.; SABRI, O.; SANCHEZ-JUAN, P.; SANTANA, I.; SARAZIN, M.; SCHRÖDER, J.; SCHÜTTE, C.; SEO, S. W.; SOETEWY, F.; SOININEN, H.; SPIRU, L.; STRUYFS, H.; TEUNISSEN, C. E.; TSOLAKI, M.; VANDENBERGHE, R.; VERBEEK, M. M.; VILLEMAGNE, V. L.; VOS, S. J.; VAN WAALWIJK VAN DOORN, L. J.; WALDEMAR, G.; WALLIN, A.; WALLIN Å, K.; WILTFANG, J.; WOLK, D. A.; ZBOCH, M.; ZETTERBERG, H. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: a meta-analysis. **JAMA**, v. 313, n. 19, p. 1924-38, May 19 2015.

JEFFERSON, A. L.; BEISER, A. S.; HIMALI, J. J.; SESHADRI, S.; O'DONNELL, C. J.; MANNING, W. J.; WOLF, P. A.; AU, R.; BENJAMIN, E. J. Low cardiac index is associated with incident dementia and Alzheimer disease: the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 131, n. 15, p. 1333-1339, 2015.

JIAO, S. S.; SHEN, L. L.; ZHU, C.; BU, X. L.; LIU, Y. H.; LIU, C. H.; YAO, X. Q.; ZHANG, L. L.; ZHOU, H. D.; WALKER, D. G.; TAN, J.; GÖTZ, J.; ZHOU, X. F.; WANG, Y. J. Brain-derived neurotrophic factor protects against tau-related neurodegeneration of Alzheimer's disease. **Transl Psychiatry**, v. 6, n. 10, p. e907, Oct 4 2016.

JOHANSON, C.; STOPA, E.; DAIELLO, L.; DE LA MONTE, S.; KEANE, M.; OTT, B. Disrupted blood-CSF barrier to urea and creatinine in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis Parkinsonism**, v. 8, n. 435, p. 2161-0460.1000435, 2018.

KAIYRLYKZY, A.; ZHOLDASBEKOVA, G.; ALZHANOVA, D.; OLZHAYEV, F.; BAIBULATOVA, A.; TSOY, A.; ASKAROVA, S. The expression levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines and chemokines in blood serum of Alzheimer's dementia patients: report from a pilot study in Kazakhstan. v. 18, n. S6, p. e069259, 2022.

KANG, S. Y.; KIM, Y.-J.; JANG, W.; SON, K. Y.; PARK, H. S.; KIM, Y. S. Body mass index trajectories and the risk for Alzheimer's disease among older adults. **Sci Rep**, v. 11, n. 1, p. 3087, 2021/02/04 2021.

KARASAWA, T.; TAKAHASHI, M. The crystal-induced activation of NLRP3 inflammasomes in atherosclerosis. **Inflamm Regen**, v. 37, n. 1, p. 1-7, 2017.

KHAN, I.; DE JESUS, O. **Frontotemporal Lobe Dementia**. StatPearls Publishing, 2023.

KIM, D.-G.; KRENZ, A.; TOUSSAINT, L. E.; MAURER, K. J.; ROBINSON, S.-A.; YAN, A.; TORRES, L.; BYNOE, M. S. Non-alcoholic fatty liver disease induces signs of Alzheimer's disease (AD) in wild-type mice and accelerates pathological signs of AD in an AD model. **J Neuroinflammation**, v. 13, n. 1, p. 1, 2016/01/05 2016.

KIM, S.-W.; KANG, H.-J.; JHON, M.; KIM, J.-W.; LEE, J.-Y.; WALKER, A. J.; AGUSTINI, B.; KIM, J.-M.; BERK, M. Statins and Inflammation: New Therapeutic Opportunities in Psychiatry. v. 10, 2019-March-05 2019.

KIM, Y. S.; LEE, K. J.; KIM, H. Serum tumour necrosis factor- α and interleukin-6 levels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Psychogeriatrics**, v. 17, n. 4, p. 224-230, 2017.

KINNEY, J. W.; BEMILLER, S. M.; MURTISHAW, A. S.; LEISGANG, A. M.; LAMB, B. T. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement (N Y)**, v. 6, n. 4, p. 575-590, 2018.

KIVIMÄKI, M.; LUUKKONEN, R.; BATTY, G. D.; FERRIE, J. E.; PENTTI, J.; NYBERG, S. T.; SHIPLEY, M. J.; ALFREDSSON, L.; FRANSSON, E. I.; GOLDBERG, M. Body mass index and risk of dementia: analysis of individual-level data from 1.3 million individuals. **Alzheimers Dement**, v. 14, n. 5, p. 601-609, 2018.

KOCA, S.; KIRIS, I.; SAHIN, S.; CINAR, N.; KARSIDAG, S.; HANAGASI, H. A.; YILDIZ, G. B.; TARIK BAYKAL, A. Decreased levels of cytokines implicate altered immune response in plasma of moderate-stage Alzheimer's disease patients. **Neuroscience letters**, v. 786, p. 136799, 2022/08/24/ 2022.

KOPEC, B. M.; ZHAO, L.; ROSA-MOLINAR, E.; SIAHAAN, T. J. Non-invasive Brain Delivery and Efficacy of BDNF in APP/PS1 Transgenic Mice as a Model of Alzheimer's Disease. **Med Res Arch**, v. 8, n. 2, Feb 2020.

KRONER, Z. The relationship between Alzheimer's disease and diabetes: Type 3 diabetes? **Alternative Medicine Review**, v. 14, n. 4, p. 373-379, 2009.

LAMBRACHT-WASHINGTON, D.; QU, B.-X.; FU, M.; ANDERSON, L. D.; STÜVE, O.; EAGAR, T. N.; ROSENBERG, R. N. DNA immunization against amyloid beta 42 has high potential as safe therapy for Alzheimer's disease as it diminishes antigen-specific Th1 and Th17 cell proliferation. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 31, n. 6, p. 867, 2011.

LASKE, C.; STRANSKY, E.; LEYHE, T.; ESCHWEILER, G. W.; MAETZLER, W.; WITTORF, A.; SOEKADAR, S.; RICHARTZ, E.; KOEHLER, N.; BARTELS, M.; BUCHKREMER, G.; SCHOTT, K. BDNF serum and CSF concentrations in Alzheimer's disease, normal pressure hydrocephalus and healthy controls. **J Psychiatr Res**, v. 41, n. 5, p. 387-94, Aug 2007.

LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. A.; SUGIZAKI, M. M.; CAMPOS, D. H.; DA SILVA, D. C.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Classification of different degrees of adiposity in sedentary rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 49, n. 4, p. e5028, 2016.

LI, J.; LIU, C.; ANG, T. F. A.; AU, R. BMI decline patterns and relation to dementia risk across four decades of follow-up in the Framingham Study. v. 19, n. 6, p. 2520-2527, 2023a.

LI, J.; WU, H.; LIU, Y.; YANG, L. High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. **Exp Anim**, v. 69, n. 3, p. 326-335, Aug 5 2020.

LI, S.; JIANG, C.; WANG, Y.; LAI, Y.; ZHAO, M.; LI, Q.; BAI, Y.; DAI, W.; GUO, Q.; HE, L.; GUO, X.; WANG, W.; LI, S.; LIU, N.; JIANG, C.; TANG, R.; SANG, C.; LONG, D.; DU, X.; DONG, J.; ANDERSON, C. S.; MA, C. Systolic Blood Pressure Time in Target Range and Cognitive Outcomes: Insights From the SPRINT MIND Trial. v. 80, n. 8, p. 1628-1636, 2023b.

LINDBERG, C.; CHROMEK, M.; AHRENGART, L.; BRAUNER, A.; SCHULTZBERG, M.; GARLIND, A. Soluble interleukin-1 receptor type II, IL-18 and caspase-1 in mild cognitive impairment and severe Alzheimer's disease. **Neurochemistry International**, v. 46, n. 7, p. 551-557, 2005/06/01/ 2005.

LIU, M. Y.; WANG, S.; YAO, W. F.; ZHANG, Z. J.; ZHONG, X.; SHA, L.; HE, M.; ZHENG, Z. H.; WEI, M. J. Memantine improves spatial learning and memory impairments by regulating NGF signaling in APP/PS1 transgenic mice. **Neuroscience**, v. 273, p. 141-151, 2014/07/25/ 2014.

LIVINGSTON, G.; HUNTLEY, J.; SOMMERLAD, A.; AMES, D.; BALLARD, C.; BANERJEE, S.; BRAYNE, C.; BURNS, A.; COHEN-MANSFIELD, J.; COOPER, C.; COSTAFREDA, S. G.; DIAS, A.; FOX, N.; GITLIN, L. N.; HOWARD, R.; KALES, H. C.; KIVIMÄKI, M.; LARSON, E. B.; OGUNNIYI, A.; ORGETA, V.; RITCHIE, K.; ROCKWOOD, K.; SAMPSON, E. L.; SAMUS, Q.; SCHNEIDER, L. S.; SELBÆK, G.; TERI, L.; MUKADAM, N. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. **Lancet**, v. 396, n. 10248, p. 413-446, Aug 8 2020.

LOK, H. C.; KATZEFF, J. S.; HODGES, J. R.; PIGUET, O.; FU, Y.; HALLIDAY, G. M.; KIM, W. S. Elevated GRO- α and IL-18 in serum and brain implicate the NLRP3 inflammasome in frontotemporal dementia. **Sci Rep**, v. 13, n. 1, p. 8942, 2023/06/02 2023.

LONG, J. M.; HOLTZMAN, D. M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. **Cell**, v. 179, n. 2, p. 312-339, Oct 3 2019.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, I.; SCHLÜTER, A.; ASO, E.; GARCIA-ESPARCIA, P.; ANSOLEAGA, B.; LLORENS, F.; CARMONA, M.; MORENO, J.; FUSO, A.; PORTERO-OTIN, M.; PAMPLONA, R.; PUJOL, A.; FERRER, I. Neuroinflammatory Signals in Alzheimer Disease and APP/PS1 Transgenic Mice: Correlations With Plaques, Tangles, and Oligomeric Species. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 74, n. 4, p. 319-344, 2015.

LOPEZ-RODRIGUEZ, A. B.; HENNESSY, E.; MURRAY, C. L.; NAZMI, A.; DELANEY, H. J.; HEALY, D.; FAGAN, S. G.; ROONEY, M.; STEWART, E.; LEWIS, A.; DE BARRA, N.; SCARRY, P.; RIGGS-MILLER, L.; BOCHE, D.; CUNNINGHAM, M. O.; CUNNINGHAM, C. Acute systemic inflammation exacerbates neuroinflammation in Alzheimer's disease: IL-1 β drives amplified responses in primed astrocytes and neuronal network dysfunction. v. 17, n. 10, p. 1735-1755, 2021.

LOVEMAN, E.; GREEN, C.; KIRBY, J.; TAKEDA, A.; PICOT, J.; PAYNE, E.; CLEGG, A. The clinical and cost-effectiveness of donepezil, rivastigmine, galantamine and memantine for Alzheimer's disease. **Health Technol Assess**, v. 10, n. 1, p. iii-iv, ix-xi, 1-160, Jan 2006.

LOWE, D. Faked Beta-Amyloid Data. What Does It Mean? **Science**, 2022.

LOY, C. T.; SCHOFIELD, P. R.; TURNER, A. M.; KWOK, J. B. Genetics of dementia. **Lancet**, v. 383, n. 9919, p. 828-40, Mar 1 2014.

LUCHSINGER, J. A.; GUSTAFSON, D. R. Adiposity and Alzheimer's disease. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 12, n. 1, p. 15-21, Jan 2009.

LUCHSINGER, J. A.; PATEL, B.; TANG, M. X.; SCHUPF, N.; MAYEUX, R. Measures of adiposity and dementia risk in elderly persons. **Arch Neurol**, v. 64, n. 3, p. 392-8, Mar 2007.

MA, M. T.; ZHANG, J.; FAROOQUI, A. A.; CHEN, P.; ONG, W. Y. Effects of cholesterol oxidation products on exocytosis. **Neurosci Lett**, v. 476, n. 1, p. 36-41, May 26 2010.

MAESTRE, G. E.; MENA, L. J.; MELGAREJO, J. D.; AGUIRRE-ACEVEDO, D. C.; PINO-RAMÍREZ, G.; URRIBARRÍ, M.; CHACON, I. J.; CHÁVEZ, C. A.; FALQUE-MADRID, L.; GAONA, C. A.; TERWILLIGER, J. D.; LEE, J. H.; SCARMEAS, N. Incidence of dementia in elderly Latin Americans: Results of the Maracaibo Aging Study. **Alzheimers Dement**, v. 14, n. 2, p. 140-147, Feb 2018.

MAGALHÃES, C. A.; CARVALHO, M. D. G.; SOUSA, L. P.; CARAMELLI, P.; GOMES, K. B. Alzheimer's disease and cytokine IL-10 gene polymorphisms: is there an association? **Arq Neuropsiquiatr**, v. 75, n. 9, p. 649-656, Sep 2017.

MAGALHÃES, C. A.; FIGUEIRÓ, M.; FRAGA, V. G.; MATEO, E. C.; TOLEDO, A. A.; CARVALHO, M. D. G.; CARAMELLI, P.; GOMES, K. B. Aplicação de biomarcadores do fluido cerebrospinal no diagnóstico diferencial da doença de Alzheimer. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 51, n. 6, p. 376-382, 2015.

MALAGUARNERA, L.; MOTTA, M.; DI ROSA, M.; ANZALDI, M.; MALAGUARNERA, M. Interleukin-18 and transforming growth factor-beta 1 plasma levels in Alzheimer's disease and vascular dementia. **Neuropathology**, v. 26, n. 4, p. 307-12, Aug 2006.

MARTIN, S. S.; BLAHA, M. J.; ELSHAZLY, M. B.; TOTH, P. P.; KWITEROVICH, P. O.; BLUMENTHAL, R. S.; JONES, S. R. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. **JAMA**, v. 310, n. 19, p. 2061-8, Nov 20 2013.

MARTINS, G. L.; DUARTE, R. C. F.; MUKHAMEDYAROV, M. A.; PALOTÁS, A.; FERREIRA, C. N.; REIS, H. J. Inflammatory and Infectious Processes Serve as Links between Atrial Fibrillation and Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, v. 21, n. 9, p. 3226, 2020.

MARTINS, G. L.; FERREIRA, C. N.; PALOTÁS, A.; ROCHA, N. P.; REIS, H. J. Role of Oxysterols in the Activation of the NLRP3 Inflammasome as a Potential Pharmacological Approach in Alzheimer's Disease. **Curr Neuropharmacol**, v. 21, n. 2, p. 202-212, 2023.

MATRONE, C.; BARBAGALLO, A. P.; LA ROSA, L. R.; FLORENZANO, F.; CIOTTI, M. T.; MERCANTI, D.; CHAO, M. V.; CALISSANO, P.; D'ADAMIO, L. APP is phosphorylated by TrkA and regulates NGF/TrkA signaling. **J Neurosci**, v. 31, n. 33, p. 11756-61, Aug 17 2011.

MCFARLANE, O.; KĘDZIORA-KORNATOWSKA, K. Cholesterol and dementia: a long and complicated relationship. **Curr Aging Sci**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2020.

MCNAMARA, D. J.; KOLB, R.; PARKER, T. S.; BATWIN, H.; SAMUEL, P.; BROWN, C. D.; AHRENS, E. Heterogeneity of cholesterol homeostasis in man. Response to changes in dietary fat quality and cholesterol quantity. **J Clin Invest**, v. 79, n. 6, p. 1729-1739, 1987.

MEJÍAS-TRUEBA, M.; PÉREZ-MORENO, M. A.; FERNÁNDEZ-ARCHE, M. Á. Systematic review of the efficacy of statins for the treatment of Alzheimer's disease. v. 18, n. 1, p. 54-61, 2018.

MELO, S. C. D.; CHAMPS, A. P. S.; GOULART, R. F.; MALTA, D. C.; PASSOS, V. M. D. A. Dementias in Brazil: increasing burden in the 2000–2016 period. Estimates from the Global Burden of Disease Study 2016. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 78, 2020.

MICHAELSON, D. M. APOE ϵ 4: the most prevalent yet understudied risk factor for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 10, n. 6, p. 861-8, Nov 2014.

MILLER, B. L.; DARBY, A. L.; SWARTZ, J. R.; YENER, G. G.; MENA, I. Dietary changes, compulsions and sexual behavior in frontotemporal degeneration. **Dementia**, v. 6, n. 4, p. 195-9, Jul-Aug 1995.

MONDA, V.; LA MARRA, M.; PERRELLA, R.; CAVIGLIA, G.; IAVARONE, A.; CHIEFFI, S.; MESSINA, G.; CAROTENUTO, M.; MONDA, M.; MESSINA, A. Obesity and brain illness: from cognitive and psychological evidences to obesity paradox. **Diabetes Metab Syndr Obes**, v. 10, p. 473-479, 2017.

MOTTA, M.; IMBESI, R.; DI ROSA, M.; STIVALA, F.; MALAGUARNERA, L. Altered plasma cytokine levels in Alzheimer's disease: Correlation with the disease progression. **Immunology Letters**, v. 114, n. 1, p. 46-51, 2007/11/30/ 2007.

MUKADAM, N.; SOMMERLAD, A.; HUNTLEY, J.; LIVINGSTON, G. Population attributable fractions for risk factors for dementia in low-income and middle-income countries: an analysis using cross-sectional survey data. **Lancet Glob Health**, v. 7, n. 5, p. e596-e603, May 2019.

MULKEY, M. Understanding Frontotemporal Disease Progression and Management Strategies. **Nurs Clin North Am**, v. 54, n. 3, p. 437-448, Sep 2019.

MUNDAL, L. J.; IGLAND, J.; SVENDSEN, K.; HOLVEN, K. B.; LEREN, T. P.; RETTERSTØL, K. Association of Familial Hypercholesterolemia and Statin Use With Risk of Dementia in Norway. **JAMA Netw Open**, v. 5, n. 4, p. e227715, Apr 1 2022.

MURASE, K.; NABESHIMA, T.; ROBITAILLE, Y.; QUIRION, R.; OGAWA, M.; HAYASHI, K. NGF level of is not decreased in the serum, brain-spinal fluid, hippocampus, or parietal cortex of individuals with Alzheimer's disease. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 193, n. 1, p. 198-203, May 28 1993.

NAGAHARA, A. H.; MATELING, M.; KOVACS, I.; WANG, L.; EGGERT, S.; ROCKENSTEIN, E.; KOO, E. H.; MASLIAH, E.; TUSZYNSKI, M. H. Early BDNF treatment ameliorates cell loss in the entorhinal cortex of APP transgenic mice. **J Neurosci**, v. 33, n. 39, p. 15596-602, Sep 25 2013.

NAGAHARA, A. H.; MERRILL, D. A.; COPPOLA, G.; TSUKADA, S.; SCHROEDER, B. E.; SHAKED, G. M.; WANG, L.; BLESCH, A.; KIM, A.; CONNER, J. M.; ROCKENSTEIN, E.; CHAO, M. V.; KOO, E. H.; GESCHWIND, D.; MASLIAH, E.; CHIBA, A. A.; TUSZYNSKI, M. H. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. **Nat Med**, v. 15, n. 3, p. 331-7, Mar 2009.

NASSIR, F.; RECTOR, R. S.; HAMMOUD, G. M.; IBDAH, J. A. Pathogenesis and Prevention of Hepatic Steatosis. **Gastroenterol Hepatol (N Y)**, v. 11, n. 3, p. 167-75, Mar 2015.

National Institutes of Health. What Are Frontotemporal Disorders? Causes, Symptoms, and Treatment. 2021. Disponível em: < <https://www.nia.nih.gov/health/what-are-frontotemporal-disorders> >. Acesso em: 21/08/2023.

NCEP. **Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood**

cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). The Program, 2002. ISBN 158808003X.

NELSON, P. T.; HEAD, E.; SCHMITT, F. A.; DAVIS, P. R.; NELTNER, J. H.; JICHA, G. A.; ABNER, E. L.; SMITH, C. D.; VAN ELDIK, L. J.; KRYSCIO, R. J.; SCHEFF, S. W. Alzheimer's disease is not "brain aging": neuropathological, genetic, and epidemiological human studies. **Acta Neuropathol**, v. 121, n. 5, p. 571-87, May 2011.

NG, A.; TAM, W. W.; ZHANG, M. W.; HO, C. S.; HUSAIN, S. F.; MCINTYRE, R. S.; HO, R. C. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. **Sci Rep**, v. 8, n. 1, p. 12050, 2018/08/13 2018.

NILSSON, P. M.; TUOMILEHTO, J.; RYDÉN, L. The metabolic syndrome – What is it and how should it be managed? **European journal of preventive cardiology**, v. 26, n. 2_suppl, p. 33-46, 2020.

NITRINI, R.; BARBOSA, M. T.; DOZZI BRUCKI, S. M.; YASSUDA, M. S.; CAMELLI, P. Current trends and challenges on dementia management and research in Latin America. **J Glob Health**, v. 10, n. 1, p. 010362, Jun 2020.

NITRINI, R.; FERRI, C. P. Burden of dementia in Brazil. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 78, 2020.

NORTON, S.; MATTHEWS, F. E.; BARNES, D. E.; YAFFE, K.; BRAYNE, C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 8, p. 788-794, 2014.

OBERSTEIN, T. J.; TAHA, L.; SPITZER, P.; HELLSTERN, J.; HERRMANN, M.; KORNUBER, J.; MALER, J. M. Imbalance of circulating Th17 and regulatory T cells in Alzheimer's disease: a case control study. **Front Immunol**, v. 9, p. 1213, 2018.

OJALA, J.; ALAFUZOFF, I.; HERUKKA, S.-K.; VAN GROEN, T.; TANILA, H.; PIRTTILÄ, T. Expression of interleukin-18 is increased in the brains of Alzheimer's disease patients. **Neurobiology of aging**, v. 30, n. 2, p. 198-209, 2009.

OLIVEIRA, D.; JUN OTUYAMA, L.; MABUNDA, D.; MANDLATE, F.; GONÇALVES-PEREIRA, M.; XAVIER, M.; LAKS, J.; FERRI, C. P. Reducing the Number of People with Dementia Through Primary Prevention in Mozambique, Brazil, and Portugal: An Analysis of Population-Based Data. **J Alzheimers Dis**, v. 70, n. s1, p. S283-s291, 2019.

ORTIZ, G. G.; PACHECO-MOISÉS, F. P.; FLORES-ALVARADO, L. J.; MACÍAS-ISLAS, M. A.; VELÁZQUEZ-BRIZUELA, I. E.; RAMÍREZ-ANGUIANO, A. C.; TÓRRES-SÁNCHEZ, E. D.; MORÁLES-SÁNCHEZ, E. W.; CRUZ-RAMOS, J. A.; ORTIZ-VELÁZQUEZ, G. E. Alzheimer disease and metabolism: role of cholesterol and membrane fluidity. In: (Ed.). **Medicine: Mental and Behavioural Disorders and Diseases of the Nervous System**: IntechOpen, 2013. p.145-173.

OTT, A.; STOLK, R. P.; VAN HARKAMP, F.; POLS, H. A.; HOFMAN, A.; BRETELER, M. M. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. **Neurology**, v. 53, n. 9, p. 1937-42, Dec 10 1999.

OTT, B. R.; JONES, R.; DAIELLO, L. A.; MONTE, S. D. L.; STOPA, E. G.; JOHANSON, C. E.; DENBY, C.; GRAMMAS, P. Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier Gradients in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: Relationship to Inflammatory Cytokines and Chemokines. **Front Aging Neurosci**, v. 10, p. 245, 2018.

PAIGEN, B. Genetics of responsiveness to high-fat and high-cholesterol diets in the mouse. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 2, p. 458S-462S, 1995/08/01/ 1995.

PAKIET, A.; JAKUBIAK, A.; MIERZEJEWSKA, P.; ZWARA, A.; LIAKH, I.; SLEDZINSKI, T.; MIKA, A. The Effect of a High-Fat Diet on the Fatty Acid Composition in the Hearts of Mice. **Nutrients**, v. 12, n. 3, Mar 20 2020.

PAPPOLLA, M. A.; BRYANT-THOMAS, T. K.; HERBERT, D.; PACHECO, J.; FABRA GARCIA, M.; MANJON, M.; GIRONES, X.; HENRY, T. L.; MATSUBARA, E.; ZAMBON, D.; WOLOZIN, B.; SANO, M.; CRUZ-SANCHEZ, F. F.; THAL, L. J.; PETANCESKA, S. S.; REFOLO, L. M. Mild hypercholesterolemia is an early risk factor for the development of Alzheimer amyloid pathology. **Neurology**, v. 61, n. 2, p. 199-205, Jul 22 2003.

PARK, J.-C.; HAN, S.-H.; MOOK-JUNG, I. Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease: a brief review. **BMB Rep**, v. 53, n. 1, p. 10, 2020.

PARSAMANESH, N.; MOOSSAVI, M.; BAHRAMI, A.; FERREIDOUNI, M.; BARRETO, G.; SAHEBKAR, A. NLRP3 inflammasome as a treatment target in atherosclerosis: a focus on statin therapy. **Int Immunopharmacol**, v. 73, p. 146-155, 2019.

PASCUAL, B.; FUNK, Q.; ZANOTTI-FREGONARA, P.; CYKOWSKI, M. D.; VERONESE, M.; ROCKERS, E.; BRADBURY, K.; YU, M.; NAKAWAH, M. O.;

ROMÁN, G. C.; SCHULZ, P. E.; ARUMANAYAGAM, A. S.; BEERS, D.; FARIDAR, A.; FUJITA, M.; APPEL, S. H.; MASDEU, J. C. Neuroinflammation is highest in areas of disease progression in semantic dementia. **Brain**, v. 144, n. 5, p. 1565-1575, Jun 22 2021.

PATEL, N. S.; PARIS, D.; MATHURA, V.; QUADROS, A. N.; CRAWFORD, F. C.; MULLAN, M. J. Inflammatory cytokine levels correlate with amyloid load in transgenic mouse models of Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, v. 2, n. 1, p. 9, 2005/03/11 2005.

PAULA, V. J. R. D.; GUIMARÃES, F. M.; FORLENZA, O. V. Papel da proteína Tau na fisiopatologia da demência frontotemporal. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 36, 2009.

PHAN, K.; HE, Y.; PICKFORD, R.; BHATIA, S.; KATZEFF, J. S.; HODGES, J. R.; PIGUET, O.; HALLIDAY, G. M.; KIM, W. S. Uncovering pathophysiological changes in frontotemporal dementia using serum lipids. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 3640, Feb 27 2020.

PINÇON, A.; DE MONTGOLFIER, O.; AKKOYUNLU, N.; DANEAULT, C.; POULIOT, P.; VILLENEUVE, L.; LESAGE, F.; LEVY, B. I.; THORIN-TRESCASES, N.; THORIN, É.; RUIZ, M. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, and the Underlying Altered Fatty Acid Metabolism, Reveals Brain Hypoperfusion and Contributes to the Cognitive Decline in APP/PS1 Mice. v. 9, n. 5, p. 104, 2019.

PIRTTILA, T.; MEHTA, P. D.; FREY, H.; WISNIEWSKI, H. M. α 1-Antichymotrypsin and IL-1 β are not increased in CSF or serum in Alzheimer's disease. **Neurobiology of aging**, v. 15, n. 3, p. 313-317, 1994/05/01/ 1994.

PLÁTENÍK, J.; FIŠAR, Z.; BUCHAL, R.; JIRÁK, R.; KITZLEROVÁ, E.; ZVĚŘOVÁ, M.; RABOCH, J. GSK3 β , CREB, and BDNF in peripheral blood of patients with Alzheimer's disease and depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 50, p. 83-93, Apr 3 2014.

POURCET, B.; DUEZ, H. Circadian control of inflammasome pathways: implications for circadian medicine. **Front Immunol**, v. 11, 2020.

RAJAMÄKI, K.; LAPPALAINEN, J.; ÖÖRNI, K.; VÄLIMÄKI, E.; MATIKAINEN, S.; KOVANEN, P. T.; EKLUND, K. K. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: a novel link between cholesterol metabolism and inflammation. **PLoS One**, v. 5, n. 7, p. e11765, 2010.

RASCOVSKY, K.; HODGES, J. R.; KNOPMAN, D.; MENDEZ, M. F.; KRAMER, J. H.; NEUHAUS, J.; VAN SWIETEN, J. C.; SEELAAR, H.; DOPPER, E. G.; ONYIKE, C. U.; HILLIS, A. E.; JOSEPHS, K. A.; BOEVE, B. F.; KERTESZ, A.; SEELEY, W. W.; RANKIN, K. P.; JOHNSON, J. K.; GORNO-TEMPINI, M. L.; ROSEN, H.; PRIOLEAU-LATHAM, C. E.; LEE, A.; KIPPS, C. M.; LILLO, P.; PIGUET, O.; ROHRER, J. D.; ROSSOR, M. N.; WARREN, J. D.; FOX, N. C.; GALASKO, D.; SALMON, D. P.; BLACK, S. E.; MESULAM, M.; WEINTRAUB, S.; DICKERSON, B. C.; DIEHL-SCHMID, J.; PASQUIER, F.; DERAMECOURT, V.; LEBERT, F.; PIJNENBURG, Y.; CHOW, T. W.; MANES, F.; GRAFMAN, J.; CAPPA, S. F.; FREEDMAN, M.; GROSSMAN, M.; MILLER, B. L. Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. **Brain**, v. 134, n. Pt 9, p. 2456-77, Sep 2011.

RASMUSSEN EID, H.; ROSNESS, T. A.; BOSNES, O.; SALVESEN, Ø.; KNUTLI, M.; STORDAL, E. Smoking and Obesity as Risk Factors in Frontotemporal Dementia and Alzheimer's Disease: The HUNT Study. **Dement Geriatr Cogn Dis Extra**, v. 9, n. 1, p. 1-10, Jan-Apr 2019.

RAULIN, A.-C.; DOSS, S. V.; TROTTIER, Z. A.; IKEZU, T. C.; BU, G.; LIU, C.-C. ApoE in Alzheimer's disease: pathophysiology and therapeutic strategies. **Molecular Neurodegeneration**, v. 17, n. 1, p. 72, 2022/11/08 2022.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. **AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet**: Oxford University Press 1993.

RESS, C.; KASER, S. Mechanisms of intrahepatic triglyceride accumulation. **World J Gastroenterol**, v. 22, n. 4, p. 1664-73, Jan 28 2016.

REVILLA, S.; SUÑOL, C.; GARCÍA-MESA, Y.; GIMÉNEZ-LLORT, L.; SANFELIU, C.; CRISTÒFOL, R. Physical exercise improves synaptic dysfunction and recovers the loss of survival factors in 3xTg-AD mouse brain. **Neuropharmacology**, v. 81, p. 55-63, Jun 2014a.

REVILLA, S.; URSULET, S.; ÁLVAREZ-LÓPEZ, M. J.; CASTRO-FREIRE, M.; PERPIÑÁ, U.; GARCÍA-MESA, Y.; BORTOLOZZI, A.; GIMÉNEZ-LLORT, L.; KALIMAN, P.; CRISTÒFOL, R.; SARKIS, C.; SANFELIU, C. Lenti-GDNF gene therapy protects against Alzheimer's disease-like neuropathology in 3xTg-AD mice and MC65 cells. **CNS Neurosci Ther**, v. 20, n. 11, p. 961-72, Nov 2014b.

RIEMENSCHNEIDER, M.; SCHMOLKE, M.; LAUTENSCHLAGER, N.; GUDER, W. G.; VANDERSTICHELE, H.; VANMECHELEN, E.; KURZ, A. Cerebrospinal beta-amyloid ((1-42)) in early Alzheimer's disease: association with

apolipoprotein E genotype and cognitive decline. **Neurosci Lett**, v. 284, n. 1-2, p. 85-8, Apr 21 2000.

ROBISON, L. S.; GANNON, O. J.; THOMAS, M. A.; SALINERO, A. E.; ABI-GHANEM, C.; POITELON, Y.; BELIN, S.; ZULOAGA, K. L. Role of sex and high-fat diet in metabolic and hypothalamic disturbances in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 285, 2020/09/29 2020.

ROSENSON, R. S.; DAVIDSON, M. H.; HIRSH, B. J.; KATHIRESAN, S.; GAUDET, D. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. **J Am Coll Cardiol**, v. 64, n. 23, p. 2525-40, Dec 16 2014.

ROSS, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. **N Engl J Med**, v. 340, n. 2, p. 115-26, Jan 14 1999.

SABBAGH, M.; ZAHIRI, H. R.; CEIMO, J.; COOPER, K.; GAUL, W.; CONNOR, D.; SPARKS, D. L. Is there a characteristic lipid profile in Alzheimer's disease? **J Alzheimers Dis**, v. 6, n. 6, p. 585-9; discussion 673-81, Dec 2004.

SAFIEH, M.; KORCZYN, A. D.; MICHAELSON, D. M. ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease. **BMC Med**, v. 17, n. 1, p. 1-17, 2019.

SAINT-POL, J.; GOSSELET, F. Oxysterols and the NeuroVascular Unit (NVU): A far true love with bright and dark sides. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 191, p. 105368, 2019.

SANO, M.; BELL, K. L.; GALASKO, D.; GALVIN, J. E.; THOMAS, R. G.; DYCK, C. H. V.; AISEN, P. S. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of simvastatin to treat Alzheimer disease. **Neurology**, v. 77, n. 6, p. 556, 2011.

SATO, C.; BARTHÉLEMY, N. R.; MAWUENYEGA, K. G.; PATTERSON, B. W.; GORDON, B. A.; JOCKEL-BALSAROTTI, J.; SULLIVAN, M.; CRISP, M. J.; KASTEN, T.; KIRMESS, K. M.; KANAAN, N. M.; YARASHESKI, K. E.; BAKER-NIGH, A.; BENZINGER, T. L. S.; MILLER, T. M.; KARCH, C. M.; BATEMAN, R. J. Tau Kinetics in Neurons and the Human Central Nervous System. **Neuron**, v. 97, n. 6, p. 1284-1298.e7, Mar 21 2018.

SCARPINI, E.; SCHELTENS, P.; FELDMAN, H. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. **Lancet Neurol**, v. 2, n. 9, p. 539-47, Sep 2003.

SCHELTENS, P.; BLENNOW, K.; BRETELER, M. M.; DE STROOPER, B.; FRISONI, G. B.; SALLOWAY, S.; VAN DER FLIER, W. M. J. T. L. Alzheimer's disease. v. 388, n. 10043, p. 505-517, 2016.

SCHOBBER, P.; BOER, C.; SCHWARTE, L. A. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. **Anesth Analg**, v. 126, n. 5, p. 1763-1768, May 2018.

SCHOONENBOOM, N. S.; REESINK, F. E.; VERWEY, N. A.; KESTER, M. I.; TEUNISSEN, C.; VAN DE VEN, P.; PIJNENBURG, Y.; BLANKENSTEIN, M.; ROZEMULLER, A.; SCHELTENS, P. Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. **Neurology**, v. 78, n. 1, p. 47-54, 2012.

SEIFFERT, D.; BRADLEY, J. D.; ROMINGER, C. M.; ROMINGER, D. H.; YANG, F.; MEREDITH, J. E.; WANG, Q.; ROACH, A. H.; THOMPSON, L. A.; SPITZ, S. M.; HIGAKI, J. N.; PRAKASH, S. R.; COMBS, A. P.; COPELAND, R. A.; ARNERIC, S. P.; HARTIG, P. R.; ROBERTSON, D. W.; CORDELL, B.; STERN, A. M.; OLSON, R. E.; ZACZEK, R. Presenilin-1 and -2 Are Molecular Targets for γ -Secretase Inhibitors*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 44, p. 34086-34091, 2000/11/03/ 2000.

SERGI, G.; DE RUI, M.; COIN, A.; INELMEN, E. M.; MANZATO, E. Weight loss and Alzheimer's disease: temporal and aetiologic connections. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 72, n. 1, p. 160-165, 2013.

SHAH, A. D.; MERCHANT, F. M.; DELURGIO, D. B. Atrial fibrillation and risk of dementia/cognitive decline. **J Atr Fibrillation**, v. 8, n. 5, p. 1353, 2016.

SHAO, B.-Z.; XU, Z.-Q.; HAN, B.-Z.; SU, D.-F.; LIU, C. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review. **Front Pharmacol**, v. 6, p. 262, 2015.

SHEEDY, F. J.; GREBE, A.; RAYNER, K. J.; KALANTARI, P.; RAMKHELAWON, B.; CARPENTER, S. B.; BECKER, C. E.; EDIRIWEERA, H. N.; MULLICK, A. E.; GOLENBOCK, D. T. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. **Nat Immunol**, v. 14, n. 8, p. 812-820, 2013.

SHI, Y.; LIU, Z.; SHEN, Y.; ZHU, H. A Novel Perspective Linkage Between Kidney Function and Alzheimer's Disease. v. 12, 2018-October-29 2018.

SHRESTHA, S.; WU, B. J.; GUINEY, L.; BARTER, P. J.; RYE, K.-A. Cholesteryl ester transfer protein and its inhibitors. **Journal of lipid research**, v. 59, n. 5, p. 772-783, 2018.

SILVA, A. C. C. P. D. As alterações histológicas no fígado da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com distintas fontes de ácidos graxos em temperatura sub-ótima [Graduação]. **Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina**, 2015.

SIMONS, M.; SCHWÄRZLER, F.; LÜTJOHANN, D.; VON BERGMANN, K.; BEYREUTHER, K.; DICHGANS, J.; WORMSTALL, H.; HARTMANN, T.; SCHULZ, J. B. Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease: A 26-week randomized, placebo-controlled, double-blind trial. v. 52, n. 3, p. 346-350, 2002.

SINYAVSKAYA, L.; GAUTHIER, S.; RENOUX, C.; DELL'ANIELLO, S.; SUISSA, S.; BRASSARD, P. Comparative effect of statins on the risk of incident Alzheimer disease. **Neurology**, v. 90, n. 3, p. e179-e187, 2018.

SIZAR, O.; KHARE, S.; JAMIL, R. T.; TALATI, R. Statin medications. 2017.

SKAPER, S. D. The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview. **Methods Mol Biol**, v. 846, p. 1-12, 2012.

SKURK, T.; KOLB, H.; MÜLLER-SCHOLZE, S.; RÖHRIG, K.; HAUNER, H.; HERDER, C. The proatherogenic cytokine interleukin-18 is secreted by human adipocytes. **Eur J Endocrinol**, v. 152, n. 6, p. 863-8, Jun 2005.

Sociedade Brasileira de Hepatologia. Monotemático - Doença hepática gordurosa não alcoólica. **Atha Comunicação e Editora**,

SOLOMON, A.; KIVIPELTO, M.; WOLOZIN, B.; ZHOU, J.; WHITMER, R. A. Midlife serum cholesterol and increased risk of Alzheimer's and vascular dementia three decades later. **Dementia and geriatric cognitive disorders**, v. 28, n. 1, p. 75-80, 2009.

SOPPELA, H.; KATISKO, K.; GADOLA, Y.; KRÜGER, J.; HARTIKAINEN, P.; ALBERICI, A.; BENUSSI, A.; KOIVISTO, A.; HAAPASALO, A.; REMES, A. M.; BORRONI, B.; SOLJE, E. Modifiable potential risk factors in familial and sporadic frontotemporal dementia. **Ann Clin Transl Neurol**, v. 9, n. 8, p. 1195-1205, Aug 2022.

SOUZA, L. C. D.; SARAZIN, M.; TEIXEIRA JÚNIOR, A. L.; CARAMELLI, P.; SANTOS, A. E. D.; DUBOIS, B. Biological markers of Alzheimer's disease. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 72, n. 3, p. 227-231, 2014.

SOUZA, R. K. M.; BARBOZA, A. F.; GASPERIN, G.; GARCIA, H.; BARCELLOS, P. M.; NISHIHARA, R. Prevalence of dementia in patients seen at a private hospital in the Southern Region of Brazil. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, p. eAO4752, 2019.

SOUZA, R. K. M. D.; BARBOZA, A. F.; GASPERIN, G.; GARCIA, H. D. B. P.; BARCELLOS, P. M.; NISHIHARA, R. Prevalência de demência em pacientes atendidos em um hospital privado no sul do Brasil. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, 2020.

SPARKS, D. L.; CONNOR, D. J.; SABBAGH, M. N.; PETERSEN, R. B.; LOPEZ, J.; BROWNE, P. Circulating cholesterol levels, apolipoprotein E genotype and dementia severity influence the benefit of atorvastatin treatment in Alzheimer's disease: results of the Alzheimer's Disease Cholesterol-Lowering Treatment (ADCLT) trial. v. 114, n. s185, p. 3-7, 2006.

STANCU, I.-C.; CREMERS, N.; VANRUSSELT, H.; COUTURIER, J.; VANOOSTHUYSE, A.; KESSELS, S.; LODDER, C.; BRÔNE, B.; HUAUX, F.; OCTAVE, J.-N. Aggregated Tau activates NLRP3–ASC inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology in vivo. **Acta Neuropathol**, v. 137, n. 4, p. 599-617, 2019.

STEEN, E.; TERRY, B. M.; RIVERA, E. J.; CANNON, J. L.; NEELY, T. R.; TAVARES, R.; XU, X. J.; WANDS, J. R.; DE LA MONTE, S. M. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease--is this type 3 diabetes? **J Alzheimers Dis**, v. 7, n. 1, p. 63-80, Feb 2005.

STERN, Y. Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. **Lancet Neurol**, v. 11, n. 11, p. 1006-12, Nov 2012.

STOCKER, H.; BEYER, L.; TRARES, K.; PERNA, L.; RUJESCU, D.; HOLLECZEK, B.; BEYREUTHER, K.; GERWERT, K.; SCHÖTTKER, B.; BRENNER, H. Association of Kidney Function With Development of Alzheimer Disease and Other Dementias and Dementia-Related Blood Biomarkers. **JAMA network open**, v. 6, n. 1, p. e2252387-e2252387, 2023.

STRATEN, G.; SAUR, R.; LASKE, C.; GASSER, T.; ANNAS, P.; BASUN, H.; LEYHE, T. Influence of lithium treatment on GDNF serum and CSF

concentrations in patients with early Alzheimer's disease. **Curr Alzheimer Res**, v. 8, n. 8, p. 853-9, Dec 2011.

SWARDFAGER, W.; LANCTÔT, K.; ROTHENBURG, L.; WONG, A.; CAPPELL, J.; HERRMANN, N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. **Biol Psychiatry**, v. 68, n. 10, p. 930-41, Nov 15 2010.

TAKEDA, S.; SATO, N.; MORISHITA, R. Systemic inflammation, blood-brain barrier vulnerability and cognitive/non-cognitive symptoms in Alzheimer disease: relevance to pathogenesis and therapy. **Front Aging Neurosci**, v. 6, p. 171, 2014.

TANG, X.; ZHAO, W.; LU, M.; ZHANG, X.; ZHANG, P.; XIN, Z.; SUN, R.; TIAN, W.; CARDOSO, M. A.; YANG, J.; SIMÓ, R.; ZHOU, J.-B.; STEHOUWER, C. D. A. Relationship between Central Obesity and the incidence of Cognitive Impairment and Dementia from Cohort Studies Involving 5,060,687 Participants. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 130, p. 301-313, 2021/11/01/ 2021.

TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p. 389-398, 1996.

TEJERA, D.; MERCAN, D.; SANCHEZ-CARO, J. M.; HANAN, M.; GREENBERG, D.; SOREQ, H.; LATZ, E.; GOLENBOCK, D.; HENEKA, M. T. J. T. E. J. Systemic inflammation impairs microglial A β clearance through NLRP 3 inflammasome. **EMBO J**, v. 38, n. 17, p. e101064, 2019.

Teklad™ Custom Diets. TD.88137., Disponível em: < <https://insights.envigo.com/hubfs/resources/data-sheets/88137.pdf> >. Acesso em: 15/08/2023.

THIRUMANGALAKUDI, L.; PRAKASAM, A.; ZHANG, R.; BIMONTE-NELSON, H.; SAMBAMURTI, K.; KINDY, M. S.; BHAT, N. R. High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. **J Neurochem**, v. 106, n. 1, p. 475-85, Jul 2008.

TINI, G.; SCAGLIOLA, R.; MONACELLI, F.; LA MALFA, G.; PORTO, I.; BRUNELLI, C.; ROSA, G. M. Alzheimer's disease and cardiovascular disease: a particular association. **Cardiology Research and Practice**, v. 2020, 2020.

TROMBETTA, I. C.; DEMOURA, J. R.; ALVES, C. R.; CARBONARI-BRITO, R.; CEPEDA, F. X.; LEMOS, J. R., JR. Serum Levels of BDNF in Cardiovascular

Protection and in Response to Exercise. **Arq Bras Cardiol**, v. 115, n. 2, p. 263-269, Aug 28 2020.

TROUSSON, A.; BERNARD, S.; PETIT, P. X.; LIERE, P.; PIANOS, A.; EL HADRI, K.; LOBACCARO, J. M.; GHANDOUR, M. S.; RAYMONDJEAN, M.; SCHUMACHER, M.; MASSAAD, C. 25-hydroxycholesterol provokes oligodendrocyte cell line apoptosis and stimulates the secreted phospholipase A2 type IIA via LXR beta and PXR. **J Neurochem**, v. 109, n. 4, p. 945-58, May 2009.

TURRI, M.; CONTI, E.; PAVANELLO, C.; GASTOLDI, F.; PALUMBO, M.; BERNINI, F.; APREA, V.; RE, F.; BARBIROLI, A.; EMIDE, D.; GALIMBERTI, D.; TREMOLIZZO, L.; ZIMETTI, F.; CALABRESI, L.; ANDREONI, S.; APPOLLONIO, I.; DA RE, F.; FERRARESE, C.; KARANTZOULIS, A.; NEGRO, G.; POZZI, F. E.; REMOLI, G.; STORTI, B.; ZOIA, C. P.; GROUP, A.-A. Plasma and cerebrospinal fluid cholesterol esterification is hampered in Alzheimer's disease. **Alzheimer's research & therapy**, v. 15, n. 1, p. 95, 2023/05/20 2023.

TYLER, W. J.; ALONSO, M.; BRAMHAM, C. R.; POZZO-MILLER, L. D. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. **Learn Mem**, v. 9, n. 5, p. 224-37, Sep-Oct 2002.

TZENG, T.-C.; HASEGAWA, Y.; IGUCHI, R.; CHEUNG, A.; CAFFREY, D. R.; THATCHER, E. J.; MAO, W.; GERMAIN, G.; TAMBURRO, N. D.; OKABE, S.; HENEKA, M. T.; LATZ, E.; FUTAI, K.; GOLENBOCK, D. T. Inflammasome-derived cytokine IL18 suppresses amyloid-induced seizures in Alzheimer-prone mice. v. 115, n. 36, p. 9002-9007, 2018.

U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans. 2015. Disponível em: < <https://health.gov/our-work/food-nutrition/previous-dietary-guidelines/2015> >. Acesso em: 14/08/2023.

U.S. Food and Drug Administration. Accelerated Approval Program., 2020. Disponível em: < <https://www.fda.gov/drugs/nda-and-bla-approvals/accelerated-approval-program> >. Acesso em: 17/09/2023.

ULLRICH, C.; PIRCHL, M.; HUMPEL, C. Hypercholesterolemia in rats impairs the cholinergic system and leads to memory deficits. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 45, n. 4, p. 408-417, 2010/12/01/ 2010.

USUI, F.; SHIRASUNA, K.; KIMURA, H.; TATSUMI, K.; KAWASHIMA, A.; KARASAWA, T.; HIDA, S.; SAGARA, J.; TANIGUCHI, S. I.; TAKAHASHI, M.

Critical role of caspase-1 in vascular inflammation and development of atherosclerosis in Western diet-fed apolipoprotein E-deficient mice. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 425, n. 2, p. 162-168, 2012.

VERMUNT, L.; SIKKES, S. A. M.; VAN DEN HOUT, A.; HANDELS, R.; BOS, I.; VAN DER FLIER, W. M.; KERN, S.; OUSSET, P. J.; MARUFF, P.; SKOOG, I.; VERHEY, F. R. J.; FREUND-LEVI, Y.; TSOLAKI, M.; WALLIN Å, K.; OLDE RIKKERT, M.; SOININEN, H.; SPIRU, L.; ZETTERBERG, H.; BLENNOW, K.; SCHELTENS, P.; MUNIZ-TERRERA, G.; VISSER, P. J. Duration of preclinical, prodromal, and dementia stages of Alzheimer's disease in relation to age, sex, and APOE genotype. **Alzheimers Dement**, v. 15, n. 7, p. 888-898, Jul 2019.

VIEIRA, É. L. M.; CARAMELLI, P.; ROCHA, N. P.; FREITAS CARDOSO, M. D. G.; DE MIRANDA, A. S.; TEIXEIRA, A. L.; DE SOUZA, L. C. Tumor necrosis factor superfamily molecules are increased in behavioral variant frontotemporal dementia and correlate with cortical atrophy: An exploratory investigation. **Journal of neuroimmunology**, v. 354, p. 577531, 2021/05/15/ 2021.

WAKI, T.; TANAKA-MIZUNO, S.; TAKASHIMA, N.; TAKECHI, H.; HAYAKAWA, T.; MIURA, K.; UESHIMA, H.; KITA, Y.; DODGE, H. H. Waist Circumference and Domain-Specific Cognitive Function Among Non-Demented Japanese Older Adults Stratified by Sex: Results from the Takashima Cognition Study. **J Alzheimers Dis**, v. 73, n. 3, p. 887-896, 2020.

WANG, H. L.; WANG, Y. Y.; LIU, X. G.; KUO, S. H.; LIU, N.; SONG, Q. Y.; WANG, M. W. Cholesterol, 24-Hydroxycholesterol, and 27-Hydroxycholesterol as Surrogate Biomarkers in Cerebrospinal Fluid in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. **J Alzheimers Dis**, v. 51, n. 1, p. 45-55, 2016.

WANG, P.; ZHANG, H.; WANG, Y.; ZHANG, M.; ZHOU, Y. Plasma cholesterol in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. **Transl Neurosci**, v. 11, n. 1, p. 116-123, 2020.

WANG, Z. H.; XIANG, J.; LIU, X.; YU, S. P.; MANFREDSSON, F. P.; SANDOVAL, I. M.; WU, S.; WANG, J. Z.; YE, K. Deficiency in BDNF/TrkB Neurotrophic Activity Stimulates δ -Secretase by Upregulating C/EBP β in Alzheimer's Disease. **Cell Rep**, v. 28, n. 3, p. 655-669.e5, Jul 16 2019.

WARNATSCH, A.; IOANNOU, M.; WANG, Q.; PAPAYANNOPOULOS, V. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis. **Science**, v. 349, n. 6245, p. 316-320, 2015.

WEIGEL, T. K.; KULAS, J. A.; FERRIS, H. A. Oxidized cholesterol species as signaling molecules in the brain: diabetes and Alzheimer's disease. **Neuronal Signal**, v. 3, n. 4, 2019.

WHITMER, R. A.; GILSANZ, P.; QUESENBERRY, C. P.; KARTER, A. J.; LACY, M. E. Association of Type 1 Diabetes and Hypoglycemic and Hyperglycemic Events and Risk of Dementia. **Neurology**, v. 97, n. 3, p. e275-83, Jun 2 2021.

WHITMER, R. A.; GUSTAFSON, D. R.; BARRETT-CONNOR, E.; HAAN, M. N.; GUNDERSON, E. P.; YAFFE, K. Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. **Neurology**, v. 71, n. 14, p. 1057-64, Sep 30 2008.

WILSON, R. S.; YU, L.; LAMAR, M.; SCHNEIDER, J. A.; BOYLE, P. A.; BENNETT, D. A. Education and cognitive reserve in old age. **Neurology**, v. 92, n. 10, p. e1041-e1050, Mar 5 2019.

WILTFANG, J.; LEWCZUK, P.; RIEDERER, P.; GRÜNBLATT, E.; HOCK, C.; SCHELTENS, P.; HAMPEL, H.; VANDERSTICHELE, H.; IQBAL, K.; GALASKO, D. J. A. O. C. P. Trabalho de consenso de força-tarefa da WFSBP sobre marcadores biológicos das demências: contribuição da análise do LCR e do sangue para o diagnóstico precoce e diferencial das demências. v. 36, p. 1-16, 2009.

WINBLAD, B.; PALMER, K.; KIVIPELTO, M.; JELIC, V.; FRATIGLIONI, L.; WAHLUND, L. O.; NORDBERG, A.; BÄCKMAN, L.; ALBERT, M.; ALMKVIST, O. Mild cognitive impairment—beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. **Journal of internal medicine**, v. 256, n. 3, p. 240-246, 2004.

WOLTERS, F. J.; IKRAM, M. A. Epidemiology of Vascular Dementia. v. 39, n. 8, p. 1542-1549, 2019.

World Health Organization. Fact sheets - Dementia., 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>>. Acesso em: 16/09/2023.

World Health Organization. Global action plan on the public health response to dementia 2017-2025. World Health Organization. Geneva. 2017

WOUTERS, K.; VAN GORP, P. J.; BIEGHS, V.; GIJBELS, M. J.; DUIMEL, H.; LÜTJOHANN, D.; KERKSIEK, A.; VAN KRUCHTEN, R.; MAEDA, N.; STAELS, B.; VAN BILSEN, M.; SHIRI-SVERDLOV, R.; HOFKER, M. H. Dietary

cholesterol, rather than liver steatosis, leads to hepatic inflammation in hyperlipidemic mouse models of nonalcoholic steatohepatitis. *v. 48, n. 2, p. 474-486, 2008.*

WU, Y.; WANG, Z.; JIA, X.; ZHANG, H.; ZHANG, H.; LI, J.; ZHANG, K. Prediction of Alzheimer's disease with serum lipid levels in Asian individuals: a meta-analysis. **Biomarkers**, *v. 24, n. 4, p. 341-351, Jun 2019.*

WU, Y. T.; BEISER, A. S.; BRETELER, M. M. B.; FRATIGLIONI, L.; HELMER, C.; HENDRIE, H. C.; HONDA, H.; IKRAM, M. A.; LANGA, K. M.; LOBO, A.; MATTHEWS, F. E.; OHARA, T.; PÉRÈS, K.; QIU, C.; SESHADRI, S.; SJÖLUND, B. M.; SKOOG, I.; BRAYNE, C. The changing prevalence and incidence of dementia over time - current evidence. **Nat Rev Neurol**, *v. 13, n. 6, p. 327-339, Jun 2017.*

WYSS-CORAY, T.; ROGERS, J. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature. **Cold Spring Harb Perspect Med**, *v. 2, n. 1, p. a006346, 2012.*

XIAO, H.; WANG, Y.; WU, Y.; LI, H.; LIANG, X.; LIN, Y.; KONG, L.; NI, Y.; DENG, Y.; LI, Y.; LI, W.; YANG, J. Osthole ameliorates cognitive impairments via augmenting neuronal population in APP / PS1 transgenic mice. **Neuroscience Research**, *v. 164, p. 33-45, 2021/03/01/ 2021.*

XU, H.; GARCIA-PTACEK, S.; BRUCHFELD, A.; FU, E. L.; SHORI, T. D.; LINDHOLM, B.; ERIKSDOTTER, M.; CARRERO, J. J. Association between cholinesterase inhibitors and kidney function decline in patients with Alzheimer's dementia. **Kidney Int**, *v. 103, n. 1, p. 166-176, Jan 2023.*

YASUTAKE, C.; KURODA, K.; YANAGAWA, T.; OKAMURA, T.; YONEDA, H. Serum BDNF, TNF-alpha and IL-1beta levels in dementia patients: comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, *v. 256, n. 7, p. 402-6, Oct 2006.*

YU, J.-T.; XU, W.; TAN, C.-C.; ANDRIEU, S.; SUCKLING, J.; EVANGELOU, E.; PAN, A.; ZHANG, C.; JIA, J.; FENG, L. Evidence-based prevention of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of 243 observational prospective studies and 153 randomised controlled trials. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, *v. 91, n. 11, p. 1201-1209, 2020.*

YUAN, S.; WU, W.; MA, W.; HUANG, X.; HUANG, T.; PENG, M.; XU, A.; LYU, J. Body mass index, genetic susceptibility, and Alzheimer's disease: a longitudinal study based on 475,813 participants from the UK Biobank. **Journal of Translational Medicine**, *v. 20, n. 1, p. 417, 2022/09/09 2022.*

ZAMBÓN, D.; QUINTANA, M.; MATA, P.; ALONSO, R.; BENAVENT, J.; CRUZ-SÁNCHEZ, F.; GICH, J.; POCOVÍ, M.; CIVEIRA, F.; CAPURRO, S.; BACHMAN, D.; SAMBAMURTI, K.; NICHOLAS, J.; PAPPOLLA, M. A. Higher incidence of mild cognitive impairment in familial hypercholesterolemia. **Am J Med**, v. 123, n. 3, p. 267-74, Mar 2010.

ZHANG, C.; LI, J.; WANG, J.; SONG, X.; ZHANG, J.; WU, S.; HU, C.; GONG, Z.; JIA, L. Antihyperlipidaemic and hepatoprotective activities of acidic and enzymatic hydrolysis exopolysaccharides from *Pleurotus eryngii* SI-04. **BMC Complement Altern Med**, v. 17, n. 1, p. 403, Aug 14 2017.

ZHANG, J.; KE, K.-F.; LIU, Z.; QIU, Y.-H.; PENG, Y.-P. Th17 cell-mediated neuroinflammation is involved in neurodegeneration of A β 1-42-induced Alzheimer's disease model rats. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e75786, 2013.

ZHANG, Y.; DONG, Z.; SONG, W. NLRP3 inflammasome as a novel therapeutic target for Alzheimer's disease. **Signal Transduct Target Ther**, v. 5, n. 1, p. 1-2, 2020.

ZHOU, Y.; SUN, X.; ZHOU, M. Body Shape and Alzheimer's Disease: A Mendelian Randomization Analysis. **Front Neurosci**, v. 13, p. 1084, 2019.

ZHOU, Z.; LIANG, Y.; ZHANG, X.; XU, J.; LIN, J.; ZHANG, R.; KANG, K.; LIU, C.; ZHAO, C.; ZHAO, M. Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Front Aging Neurosci**, v. 12, p. 5, 2020.

ZHU, Y.; CHAI, Y. L.; HILAL, S.; IKRAM, M. K.; VENKETASUBRAMANIAN, N.; WONG, B.-S.; CHEN, C. P.; LAI, M. K. Serum IL-8 is a marker of white-matter hyperintensities in patients with Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring**, v. 7, p. 41-47, 2017.

ZHUANG, J.; WEN, X.; ZHANG, Y. Q.; SHAN, Q.; ZHANG, Z. F.; ZHENG, G. H.; FAN, S. H.; LI, M. Q.; WU, D. M.; HU, B.; LU, J.; ZHENG, Y. L. TDP-43 upregulation mediated by the NLRP3 inflammasome induces cognitive impairment in 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47)-treated mice. **Brain Behav Immun**, v. 65, p. 99-110, Oct 2017.

ZIRLIK, A.; ABDULLAH, S. M.; GERDES, N.; MACFARLANE, L.; SCHÖNBECK, U.; KHERA, A.; MCGUIRE, D. K.; VEGA, G. L.; GRUNDY, S.; LIBBY, P.; DE LEMOS, J. A. Interleukin-18, the metabolic syndrome, and subclinical atherosclerosis: results from the Dallas Heart Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 27, n. 9, p. 2043-9, Sep 2007.

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de Pesquisa **“Papel do inflamassoma NLRP3 associado a dislipidemia e processos neurodegenerativos em modelo animal de Doença de Alzheimer e em humanos.”**

Prezado (a) Sr. (a),

A pesquisa que o (a) senhor (a) está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) é um estudo científico que tem como objetivo avaliar alguns parâmetros relacionados a inflamação, neurodegeneração e colesterol. O benefício que você receberá será através da possibilidade contribuir com o avanço da pesquisa nesses campos citados. Paralelamente, você contará com uma nova bateria de exames rotineiros e do controle laboratorial que auxiliará o seu médico responsável em uma melhor conduta terapêutica.

A pesquisa que o (a) senhor (a) está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) tem o objetivo de coletar dados sobre o processo de neurodegeneração e suas associações com inflamação e colesterol no sangue. O benefício que você receberá será através do melhor conhecimento de seu perfil lipídico. Isso é importante para que seu médico possa planejar melhor o tratamento para você.

Nesta pesquisa, cada participante deverá responder a um questionário, que será aplicado pela equipe da pesquisa, e deverá doar uma única amostra de sangue, na qual serão realizados vários exames laboratoriais gratuitos, cujos resultados serão encaminhados para o seu médico.

A coleta de sangue venoso inclui um pequeno risco de acidente durante a punção, representado, principalmente por extravasamento sanguíneo subcutâneo de pequena gravidade, que pode resultar em leve dor localizada e formação de pequeno hematoma (mancha roxa) que desaparece em poucos dias. Sem nenhuma outra complicação decorrente direta. Para minimizar este risco, a coleta de sangue será realizada em local adequado, por um profissional

com capacidade técnica e experiência que estará atento e tomará todas as providências necessárias. Na coleta de 20 mL de sangue todo o material que será utilizado é descartável, esterilizado e de boa qualidade (agulhas e tubos a vácuo), visando o êxito do procedimento sem riscos adicionais a sua saúde.

As amostras de sangue extraídas da coleta ficarão congeladas em ultra freezer (-80°C) no departamento de Farmacologia (ICB-UFMG) até a realização das dosagens.

O nome do participante e, também, os resultados dos exames serão mantidos em sigilo e privacidade, sob a responsabilidade da equipe de pesquisadores. Os resultados serão apresentados em reuniões clínicas nos setores da instituição ligados ao estudo. Ao final do trabalho estarão disponíveis inclusive para os participantes. Este projeto visa também publicação dos resultados em revistas especializadas da área e em trabalhos de formação de recursos humanos na UFMG, como dissertações de mestrado e/ou tese de doutorado.

Não haverá despesas pessoais para o paciente, ficando o custo (material, recurso humano, despesa com laboratório) para o coordenador/agência financiadora (caso em aprovação por editais de chamada pública), também não haverá compensação financeira pela sua participação, nem remuneração financeira do pesquisador, cujo interesse é apenas científico.

Caso você não queira participar da pesquisa, não haverá qualquer prejuízo no seu tratamento ou na assistência recebida pelo seu médico. Para qualquer dúvida sobre esta pesquisa você deverá entrar em contato, por telefone, com as pessoas responsáveis pela mesma, cujos nomes estão relacionados a seguir:

- Prof. Dr. Helton J Reis – Tel: (31) 3409-2719, 99114-2231.
Professor do Departamento de Farmacologia ICB/UFMG.
Assinatura: _____
- COEP – UFMG: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais. Endereço: Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar - Sala 2005, Campus Pampulha, BH, MG. Tel: (31) 3409-4592.

Agradecemos sua valiosa participação!

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que, após convenientemente esclarecido (a) pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concordo em participar como voluntário (a) do projeto de pesquisa **“Papel do inflamassoma NLRP3 associado a dislipidemia e processos neurodegenerativos em modelo animal de Doença de Alzheimer e em humanos”**, e autorizo a coleta de 20 mL de sangue e que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Nome completo: _____

Documento de identificação: _____

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

APÊNDICE II

FICHA CLÍNICA

Data: ___/___/___

Projeto de Pesquisa: “Papel do inflamassoma NLRP3 associado à dislipidemia e processos neurodegenerativos em modelo animal de Doença de Alzheimer e em humanos”



| | |
|---|---|
| Diagnóstico: | |
| A) IDENTIFICAÇÃO: | |
| 1. Nome: | |
| 2. Data de nascimento: | 3. Idade: |
| 4. Endereço: | |
| 5. Município/UF: | |
| 7. Telefone/celular: | |
| 8. Informante: | Parentesco: _____ Telefone/celular: _____ |
| B) DADOS DEMOGRÁFICOS: | |
| 1. Sexo: () M () F 2. Estado Civil: () solteiro () casado () viúvo () separado () divorciado | |
| 3. Grau de escolaridade: _____ anos | |
| () Fundamental incompleto | () Médio completo |
| () Fundamental completo | () Graduação |
| () Médio incompleto | () Pós-Graduação |
| 4. Profissão: | |
| 5. Renda familiar mensal: | |
| () Até 1 salário mínimo. | () De 6 a 9 salários mínimos. |
| () De 1 a 3 salários mínimos. | () De 9 a 12 salários mínimos. |
| () De 3 a 6 salários mínimos | |
| 6. Etnia: | |
| () Caucasiano | () Asiático |
| () Índio | () Negro |
| () Mestiço: mulato, pardo | () Outros: _____ |
| C) DADOS CLÍNICOS: | |
| 1. Tabagista: () Não () Sim Quantos cigarros por dia, em média: _____ | |
| 2. Ex-tabagista: () Não () Sim Parou há quanto tempo: _____ | |
| 3. Etilista: () Não () Sim Qual bebida: _____ Quantidade/dia: _____ | |
| 4. Ex-etilista: () Não () Sim Parou há quanto tempo: _____ | |
| 5. Doença aguda nos últimos 10 dias (inflamatórias/infeciosas)? () Sim () Não | |
| 6. Condições clínicas crônicas: | |
| () Hipertensão arterial sistêmica | () DPOC / asma / enfisema |
| () Doença arterial coronariana | () Doença tireoidiana |
| () Insuficiência cardíaca congestiva | () Doença hepática |
| () Arritmias | () Doença renal |
| () Doença hemorrágica | () Doença infecciosa. Qual: _____ |
| () Tromboses | () Doença autoimune. Qual: _____ |
| () Diabetes mellitus | () Neoplasia |
| () Intolerância à glicose | () Epilepsia |
| () Obesidade | () Doença psiquiátrica prévia. Qual: _____ |
| () Osteoporose | () Neuroinfecção. Qual: _____ |
| () Apneia Obstrutiva do Sono | () Traumatismo crânio encefálico |
| () AVC prévio. Quantos: _____ | () AVC pós demência |
| Outras: _____ | |

| | | |
|--|------------------------------|----------------|
| 7. Diagnóstico de dislipidemia prévia: () Não () Sim Qual: _____ Tempo de diagnóstico: _____ Em tratamento com estatina? () Não () Sim | | |
| 8. Cirurgias prévias: | | |
| 9. Atividade física regular? () Não () Sim Qual modalidade: _____ Frequência semanal: _____ Duração dos exercícios: _____ | | |
| 10. Medicamentos em uso e posologia: _____ _____ _____ | | |
| D) HISTÓRIA FAMILIAR: | | |
| 1. Parentes de primeiro grau: () Não () Sim Membros afetados e doenças: | | |
| 2. Parentes de segundo grau: () Não () Sim Membros afetados e doenças: | | |
| E) EXAME FÍSICO: | | |
| 1. Peso: | 2. Altura: | 3. IMC: |
| 4. Medida da cintura: | 5. Medida do quadril: | 6. RCQ: |
| 7. Circunferência abdominal: | | |
| F) AVALIAÇÃO NEUROCOGNITIVA: (apenas para pacientes do ambulatório) | | |
| 1. Mini Exame do Estado Mental: Primeiro: Data: Último: Data: | | |
| 2. Teste de memória de figuras: | | |
| 3. Fluência de animais: Primeiro: Data: Último: Data: | | |
| 4. Desenho do relógio: Data: | | |
| 5. Pfeffer: Data: | | |
| G) EXAMES NEUROPATOLÓGICOS: (apenas para pacientes do ambulatório) | | |
| 1. Ressonância magnética: () Não () Sim Data: | | |
| 2. LCR: () Não () Sim Data: Resultado: | | |
| OBSERVAÇÕES: | | |
| | | |

ANEXO I**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS****CEUA****COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação da associação entre dislipidemia e neurodegeneração através da via PI3K/mTOR e do inflamassoma NRLP3 em modelo de Doença de Alzheimer", protocolo do CEUA: 374/2018 sob a responsabilidade de Antonio Carlos Pinheiro de Oliveira que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 03/12/2018.

| | |
|-------------------------|-------------------------|
| Vigência da Autorização | 03/12/2018 a 02/12/2023 |
| Finalidade | Pesquisa |

ANEXO II



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


Projeto: CAAE – 68081416.8.0000.5149

Interessado(a): Prof. Helton José dos Reis
Depto. Farmacologia
ICB- UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 06 de março de 2018, o projeto de pesquisa intitulado **“Papel do inflamassoma NLRP3 associado a dislipidemia e processos neurodegenerativos em modelo animal de Doença de Alzheimer e em humanos”** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

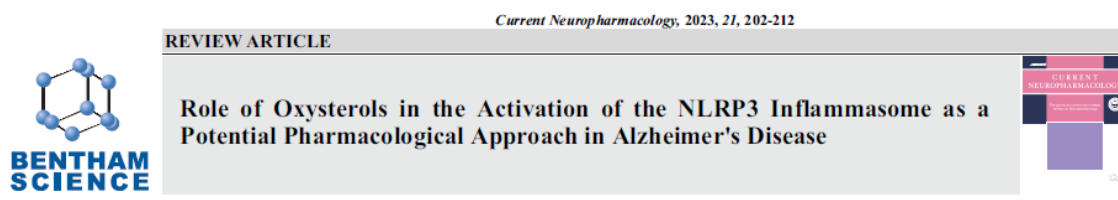
O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.


Prof. Dra. Vivian Resende
Coordenadora do COEP-UFMG

PRODUÇÃO ACADÊMICA RELACIONADA AO TEMA

Artigos científicos publicados

- MARTINS, G. L.; FERREIRA, C. N.; PALOTÁS, A.; ROCHA, N. P.; REIS, H. J. Role of oxysterols in the activation of the NLRP3 inflammasome as a potential pharmacological approach in Alzheimer's. *Current Neuropharmacology*, v. 20, 2023.



Gabriela L. Martins¹, Cláudia N. Ferreira², András Palotás^{3,4}, Natália P. Rocha⁵, Helton J. Reis^{1,*}

¹Laboratório Neurofarmacologia, Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG, Belo Horizonte MG, 31270 - 901, Brazil; ²COLTEC-UFMG, Belo Horizonte MG, 31270 - 901, Brazil; ³Kazan Federal University, Kazan, Russia; ⁴Asklepios Med, Szeged, Hungary; ⁵Department of Neurology, The University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, TX, USA

- MARTINS, G. L.; DUARTE, R. C. F.; MUKHAMEDYAROV, M. A.; PALOTÁS, A.; FERREIRA, C. N.; REIS, H. J. Inflammatory and Infectious Processes Serve as Links between Atrial Fibrillation and Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, p. 3226, 2020.



International Journal of
Molecular Sciences



Review

Inflammatory and Infectious Processes Serve as Links between Atrial Fibrillation and Alzheimer's Disease

Gabriela Lopes Martins¹, Rita Carolina Figueiredo Duarte¹, Marat A. Mukhamedyarov², András Palotás^{3,4,*}, Cláudia Natália Ferreira¹ and Helton José Reis¹

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, Brazil; gabrielalmartins@gmail.com (G.L.M.); ritinhaduarte@yahoo.com.br (R.C.F.D.); ferreiracn@gmail.com (C.N.F.); heltonjr@ufmg.br (H.J.R.)

² Department of Physiology, Kazan State Medical University, Butlerova 49, R-420012 Kazan, Russia; maratm80@list.ru

³ Asklepios-Med (Private Medical Practice and Research Center), H-6722 Szeged, Hungary

⁴ Institute of Fundamental Medicine and Biology, (Volga Region) 18 Kremlyovskaya St., Kazan Federal University, 420008 Kazan, Russia

* Correspondence: palotas@asklepios-med.eu; Tel.: +36-30-255-6225

† Asklepios-Med, H-6722 Szeged, Kossuth Lajos sgt. 23, H-6722 Szeged, Hungary.

Received: 24 November 2019; Accepted: 30 April 2020; Published: 2 May 2020



Resumos apresentados em eventos científicos

1. MARTINS, G. L.; KOERICH, S.; PALMA, G. B.; RESENDE, E. P. F.; SOUZA, L. C.; OLIVEIRA, A. C. P.; CARAMELLI, P.; REIS, H. J. Grau de escolaridade e frequência de dislipidemia em pacientes com doença de Alzheimer em acompanhamento ambulatorial. Simpósio de Neurobiologia da UFMG, 2021.
2. CARVALHO, P. E. P.; MARTINS, G. L.; KOERICH, S.; PALMA, G. B.; RESENDE, E. P. F.; SOUZA, L. C.; REIS, H. J.; CARAMELLI, P.; OLIVEIRA, A. C. P. Relação entre escolaridade e função cognitiva em pacientes com doença de Alzheimer de início precoce ou tardio atendidos em um ambulatório especializado. Semana do Conhecimento UFMG, 2021.
3. MACIEL, A. P. C.; MARTINS, G. L.; KOERICH, S. BRANT, M. L. N.; FERREIRA, C. N.; OLIVEIRA, A. C. P.; REIS, H. J. Avaliação do comportamento social e de parâmetros do perfil lipídico em um modelo animal para a doença de Alzheimer submetido à dieta acrescida de colesterol. Semana do Conhecimento UFMG, 2021.
4. KOERICH, S.; MARTINS, G. L.; BRANT, M. L. N.; FREITAS, G. G.; BRAGA, W. F.; REIS, H. J.; OLIVEIRA, A. C. P. Cholesterol diet promotes improvement of cognitive decline in mice models of Alzheimer's disease. Society for Neuroscience, 2021. Online.
5. MARTINS, G. L.; GOMES, G. F.; KOERICH, S.; SALGADO, A. Z.; OLIVEIRA, A. C. P.; REIS, H. J. Evaluation of anxiety-related behavior in an Alzheimer's disease mice model, AAIC Neuroscience Next, 2020. Online.
6. BRANT, M. L. N.; MARTINS, G. L.; BRUNO, B. C.; KOERICH, S.; BRAGA, W. F.; MORAES, M. C.; FERREIRA, C. N.; REIS, H. J.; OLIVEIRA, A. C. P. Avaliação do estresse oxidativo em fígados de camundongos C57/BL6 submetidos à dieta hipercolesterolêmica. Semana do Conhecimento UFMG, 2020.
7. MARTINS, G. L.; GOMES, G. F.; KOERICH, S.; SALGADO, A. Z.; OLIVEIRA, A. C. P.; REIS, H. J. Comprometimento da memória aversiva em um modelo animal duplo-transgênico para a doença de Alzheimer. Encontro de Pesquisa em Fisiologia e Farmacologia da UFMG, 2019.

8. BRUNO, B. C.; KOERICH, S.; MARTINS, G. L.; BRANT, M. L. N.; FERREIRA, C. N.; REIS, H. J.; OLIVEIRA, A. C. P. Efeito de dieta hipercolesterolêmica sobre níveis séricos de colesterol total e parâmetros comportamentais. Encontro de Pesquisa em Fisiologia e Farmacologia da UFMG, 2019.
9. BRANT, M. L. N.; KOERICH, S.; MARTINS, G. L.; BRUNO, B. C.; FERREIRA, C. N.; REIS, H. J.; OLIVEIRA, A. C. P. Comportamento exploratório e tipo-ansioso de camundongos C57/BL6 submetidos à dieta acrescida de colesterol. Encontro de Pesquisa em Fisiologia e Farmacologia da UFMG, 2019.
10. CARVALHO, P. E. P.; KOERICH, S.; MARTINS, G. L.; PALMA, G. B.; CALDAS, A. C. P.; CARAMELLI, P.; REIS, H. J.; OLIVEIRA, A. C. P. Incidência de dislipidemia e diabetes mellitus em pacientes com doença de Alzheimer atendidos no ambulatório de Neurologia Cognitiva do Hospital das Clínicas da UFMG. Encontro de Pesquisa em Fisiologia e Farmacologia da UFMG, 2019.
11. MARTINS, G. L.; GOMES, G. F.; KOERICH, S.; SALGADO, A. Z.; OLIVEIRA, A. C. P.; REIS, H. J. Avaliação do comportamento frente a uma situação de risco em modelo animal da Doença de Alzheimer. Congress on Brain, Behavior and Emotions, 2019.
12. ROCHA, P. H. A.; CALDAS, A. C. P.; MARTINS, G. L.; KOERICH, S.; FERREIRA, C. N.; OLIVEIRA, A. C. P.; REIS, H. J. Padronização de dieta hipercolesterolêmica em camundongos C57/BL6. Semana do Conhecimento UFMG, 2019.
13. BRANT, M. L. N.; MARTINS, G. L.; KOERICH, S.; BRUNO, B. C.; FERREIRA, C. N.; REIS, H. J.; OLIVEIRA, A. C. P. Avaliação do comportamento de ansiedade em camundongos C57/BL6 submetidos à dieta hipercolesterolêmica. Semana do Conhecimento UFMG, 2019.