

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

ÉRICA PAULINO SILVA

**PERFIL INFLAMATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE
ALZHEIMER COM DIETA ACRESCIDA DE COLESTEROL**

BELO HORIZONTE

2024

ÉRICA PAULINO SILVA

**PERFIL INFLAMATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA
DEALZHEIMER COM DIETA ACRESCIDA DE COLESTEROL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Helton José dos Reis

BELO HORIZONTE

2024

043

Silva, Érica Paulino.

Perfil inflamatório em modelo experimental da Doença de Alzheimer com dieta acrescida de colesterol [manuscrito] / Érica Paulino Silva. – 2024.
67 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Helton José dos Reis.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Doença de Alzheimer. 3. Colesterol. 4. Citocinas. I. Reis, Helton José dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ICB - COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS - SECRETARIA

Ata de defesa de Dissertação

ÉRICA PAULINO SILVA

Realizou-se, no dia 28 de junho de 2024, às 09:00 horas, sala da congregação - ICB, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 240ª defesa de dissertação, intitulada *PERFIL INFLAMATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER COM DIETA ACRESCIDA DE COLESTEROL*, apresentada por ÉRICA PAULINO SILVA, número de registro 2021711140, graduada no curso de FISIOTERAPIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Helton Jose dos Reis - Orientador (UFMG), Profa. Juliana Alves da Silva (UFMG), Prof. Rodrigo Nicolato (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

(X) Aprovada

() Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 28 de junho de 2024.

Carlos Magno Machado Dias - Secretário

Assinatura dos membros da banca examinadora:

Prof. Helton Jose dos Reis (Doutor)

Profa. Juliana Alves da Silva (Doutora)

Prof. Rodrigo Nicolato (Doutor)



Documento assinado eletronicamente por **Helton Jose dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 01/07/2024, às 08:39, 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 **Rodrigo Nicolato, Professor do Magistério Superior**, em 01/07/2024, às 12:00, 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 **Juliana Alves da Silva, Professora do Magistério Superior**, em 01/07/2024, às 16:12, 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 **3304081** e o código CRC **BEE6CC3C**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

PERFIL INFLAMATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER COM DIETA ACRESCIDADA DE COLESTEROL

ÉRICA PAULINO SILVA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em NEUROCIÊNCIAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, área de concentração NEUROCIÊNCIAS BÁSICAS.

Profa. Juliana Alves da Silva
UFMG

Prof. Rodrigo Nicolato
UFMG

Prof. Helton Jose dos Reis - Orientador
UFMG

Belo Horizonte, 28 de junho de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Helton Jose dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 01/07/2024, às 08:40, 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 **Rodrigo Nicolato, Professor do Magistério Superior**, em 01/07/2024, às 12:01, 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 **Juliana Alves da Silva, Professora do Magistério Superior**, em 22/07/2024, às 17:50, 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 **3304101** e o código CRC **B1EFFC7C**.

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação não é apenas a finalização de um projeto de pesquisa, mas também meu retorno à ciência, no qual eu nunca teria conseguido sem o apoio de muitas pessoas. Expresso aqui minha gratidão a todos vocês que estiveram comigo nesta jornada acadêmica. Agradeço primeiramente ao professor Dr. Helton José dos Reis por abrir as portas do laboratório de Neurofarmacologia e por aceitar me orientar com tamanha ética, disponibilidade, paciência e praticidade, obrigada pela confiança. Aos colegas de laboratório pela gentileza que me receberam e pelo convívio compartilhado, em especial à Suelyn Koerich e Gabriela Lopes, essa pesquisa não teria sido realizada sem o trabalho de vocês. Aos professores Dr. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira e Dra. Luciene Bruno Vieira pela atenção e conhecimento compartilhado, docentes fascinantes. Aos colegas do laboratório de Imunobiologia e Controle de Parasitos, Ramayana, Luisa e Jorge, muito obrigada pela colaboração. E aos demais colegas e professores da Pós-Graduação em Neurociências que estiveram comigo nesta caminhada. À minha família que sempre me amparou e estimulou. Nada, absolutamente nada, seria possível se eu não tivesse o apoio de vocês, à minha mãe Maria do Carmo por ser meu alicerce, ao meu pai Anésio por me ensinar a ser destemida e a minha querida irmã Elaine por ser ouvidos e ombros como ninguém poderia ser. Não poderia deixar de agradecer ao Warlem, sua memória sempre irá permanecer. Aos meus amigos sempre presentes e pacientes e aos colegas de trabalho do Hospital da Baleia pela compreensão. Um obrigado especial às amigas Rose, Bruna e Patrícia, presentes da Neurobiologia para vida, vocês sempre me impulsionaram a retornar para pesquisa, o apoio de vocês também foi fundamental.

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”.

(GEORGE BERNARD SHAW)

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) destaca-se como a principal etiologia da demência, caracterizada por uma deterioração progressiva da memória, das funções cognitivas, acompanhada de alterações comportamentais e prejuízo funcional. A complexa interação das cascatas neuroinflamatórias assume um papel fundamental no início e progressão da trajetória patológica da DA, orquestrada por uma miríade de fatores. Embora os mecanismos permaneçam indefinidos, evidências crescentes ressaltam um suposto nexo patológico que liga a desregulação do colesterol à DA. Este estudo se esforça para examinar o impacto do aumento da ingestão de colesterol nos índices inflamatórios em um modelo animal de DA. Camundongos machos e fêmeas com genótipo duplo transgênico APP / PS1 foram utilizados para modelar a DA, justapostos contra WT *littermates* como controles. A partir dos 6 meses de idade, os animais foram submetidos a uma dieta padrão ou a uma dieta equicalórica suplementada com 1,25% de colesterol por um período de dezoito semanas. Após a conclusão da intervenção dietética, os animais foram sacrificados e foram obtidas amostras abrangendo rins, baço, córtex pré-frontal, córtex, hipocampo e corpo estriado. Os mediadores inflamatórios foram avaliados utilizando *Cytometric Bead Array* (CBA) para um painel de citocinas compreendendo IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 e TNF- α . Nossas descobertas revelam uma discrepância notável nas concentrações de TNF- α em amostras esplênicas, manifestando uma abundância maior no grupo controle em comparação ao grupo APP/PS1 após a suplementação de colesterol. No entanto, disparidades discerníveis nos parâmetros inflamatórios entre genótipos e regimes alimentares não foram evidentes em outros órgãos amostrados. Coletivamente, essas observações delineiam que a incorporação de 1,25% de colesterol não consegue provocar alterações perceptíveis no meio inflamatório no córtex pré-frontal, córtex, hipocampo e estriado. Por outro lado, uma redução evidente nos níveis de TNF- α no baço de animais afetados pela DA sublinha um potencial papel modulador do colesterol nas respostas inflamatórias periféricas no contexto da patogênese da DA. Portanto, nossas descobertas ressaltam a necessidade de elucidar ainda mais a intrincada interação entre o metabolismo do colesterol e a neuroinflamação no contexto da DA.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; colesterol; citocinas.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) stands as the foremost etiology of dementia, characterized by a progressive deterioration in memory, cognitive functions, accompanied by behavioral alterations and functional debilitation. The intricate interplay of neuroinflammatory cascades assumes a pivotal role in instigating and perpetuating the pathological trajectory of AD, orchestrated by a myriad of factors. While the precise mechanistic underpinnings remain elusive, mounting evidence underscores a putative pathological nexus linking cholesterol dysregulation with AD. This study endeavors to scrutinize the impact of heightened cholesterol intake on inflammatory indices within an animal model of AD. Male and female mice harboring the APP/PS1 double-transgenic genotype were utilized to model AD, juxtaposed against WT littermates as controls. Commencing at 6 months of age, subjects were subjected to either a standard diet or an equicaloric diet supplemented with 1.25% cholesterol for a duration of eighteen weeks. Upon completion of the dietary intervention, animals were euthanized, and specimens encompassing the kidneys, spleen, prefrontal cortex, cortex, hippocampus, and striatum were procured. Inflammatory mediators were assessed utilizing Cytometric Bead Array (CBA) for a panel of cytokines comprising IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, and TNF- α . Our findings unveil a notable discrepancy in TNF- α concentrations within splenic samples, manifesting a higher abundance in the control cohort compared to the APP/PS1 group following cholesterol supplementation. However, discernible disparities in inflammatory parameters across genotypes and dietary regimens were not evident in other sampled organs. Collectively, these observations delineate that the incorporation of 1.25% cholesterol fails to elicit discernible alterations in the inflammatory milieu within the prefrontal cortex, cortex, hippocampus, and striatum. Conversely, a discernible reduction in TNF- α levels within the spleen of AD-afflicted animals underscores a potential modulatory role of cholesterol in peripheral inflammatory responses in the context of AD pathogenesis. Hence, our findings underscore the imperative for further elucidating the intricate interplay between cholesterol metabolism and neuroinflammation in the context of AD.

Keywords: Alzheimer's disease; cholesterol; cytokines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Clivagem da proteína precursora amiloide: via não-amiloidogênica e amiloidogênica	21
Figura 2: Metabolismo do colesterol em células polarizadas via síntese <i>de novo</i>	27
Figura 3: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no córtex de camundongos WT e APP/PS1	35
Figura 4: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no estriado de camundongos WT e APP/PS1	36
Figura 5: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no córtex pré-frontal de camundongos WT e APP/PS1	37
Figura 6: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no hipocampo de camundongos WT e APP/PS1	38
Figura 7: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no rim de camundongos WT e APP/PS1	39
Figura 8: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no baço de camundongos WT e APP/PS1	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição das dietas	32
---------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

DA	Doença de Alzheimer
NIA-AA	<i>National Institute on Aging and Alzheimer's Association</i>
vlAPP	Variante logopênica da afasia progressiva primária
ACP	Atrofia cortical posterior
SCB	Síndrome corticobasal
vcdDA	Variante comportamental e disexecutiva
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
RM	Ressonância magnética
LCR	Líquido cefalorraquidiano
A β	Proteína beta amiloide
T-tau	Proteína tau total
P-tau	Proteína tau fosforilada
NMDA	N-metil-D-aspartato
ACh	Acetilcolina
IACHe	Inibidor de acetilcolinesterase
AChE	Acetilcolinesterase
BChE	Butirilcolinesterase
SNC	Sistema nervoso central
BHE	Barreira hematoencefálica
APP	Proteína precursora amiloide
sAPP α	<i>soluble APP alpha</i>
α CTF	<i>alpha COOH-terminal fragmente</i>
BACE 1	<i>beta-site APP cleaving enzyme 1</i>
PS1	Presenilina 1
PS2	Presenilina 2
MMP-9	Metaloproteinase-9
GSK3 β	Glicogênio sintase quinase-3 β
CDK5	Quinase dependente de ciclina-5

FHP	Filamentos helicoidais pareados
ApoE	Apolipoproteína E
SORL1	Gene do receptor relacionado à sortilina
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
NFT	Emaranhados neurofibrilares
NACHR	Receptores nicotínicos de acetilcolina
5HT6R	5-Hydroxytryptamine Receptor 6
NO	Óxido nítrico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TREM2	Receptor expresso nas células mieloides 2
HPA	Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal
ATP	Adenosina trifosfato
CoA	Acetil-Coenzima A
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A
LDLR	Receptor de lipoproteína de baixa densidade
OHC	Hidroxicolesterol
LRP1	Proteína 1 relacionada ao receptor de LDL
CH25H	Enzima colesterol 25-hidroxilase
LPS	Lipopolissacarídeo
CT	Colesterol total
MEEM	Mini-exame do estado mental
HDL	Lipoproteína de alta densidade
TG	Triglicérides
PCR	Reação em cadeia da polimerase
CBA	<i>Cytometric Bead Array</i>
INF- γ	Interferon-gama
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6

IL-10	Interleucina 10
IL-17	Interleucina 17
ICE	Enzima conversora de IL-1 β
M-CSF	Fator estimulante de colônias de macrófagos
TGF- β 1	Fator de crescimento transformador beta 1
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
DRC	Doença renal crônica
TFG	Taxa de filtração glomerular
PTH	Hormônio da paratireoide
IS	Indoxil sulfato
NFL	Neurofilamentos leves
DMN	Núcleo motor dorsal do tronco cerebral
NTS	Núcleo do trato solitário
ChAT	Colina-O-Acetil-Transferase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. Doença de Alzheimer.....	17
1.2. Fisiopatologia.....	20
1.3. Neuroinflamação.....	24
1.4. Colesterol e Doença de Alzheimer.....	25
2. OBJETIVOS.....	31
2.1. Objetivo Geral.....	31
2.2. Objetivos Específicos.....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1. Animais.....	32
3.2. Dieta.....	32
3.3. Grupos Experimentais.....	33
3.4. Quantificação de Mediadores Inflamatórios.....	33
3.5. Análise Estatística.....	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1. Córtex.....	35
4.2. Estriado.....	36
4.3. Córtex Pré-Frontal.....	37
4.4. Hipocampo.....	38
4.5. Rim.....	38
4.6. Baço.....	39
5. DISCUSSÃO.....	42
6. CONCLUSÃO.....	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência, representando de 60% a 80% de todos os casos, na qual observa-se uma perda progressiva de memória e declínio de outras funções cognitivas, bem como alterações comportamentais e prejuízo funcional (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2020; DE STROOPER e KARRAN, 2016). Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2023), cerca de 55 milhões de pessoas vivem com demência, a previsão é que este valor triplique até 2050 devido ao aumento da prevalência da doença, conforme o aumento da idade. Além disso, observa-se uma taxa mais elevada entre mulheres e que mais de 60% vivem em países de baixa e média renda. Um terço dos casos de DA são atribuíveis a fatores de risco modificáveis e a prevalência antes dos 50 anos é inferior a 1 por 4.000. (ZHANG *et al.*, 2021).

No Brasil, houve 211.658 óbitos por doença de Alzheimer entre 2000 e 2019, dos quais 64% eram do sexo feminino. Setenta e três por cento dos óbitos tinham 80 anos ou mais de idade, 23% pertenciam à faixa etária de 70-79 anos e 4% à de 60-69. A maioria destas mortes foi registrada na região Sudeste (56%), seguida pelas regiões Sul (20%), Nordeste (16%), Centro-Oeste (6%) e Norte (2%) (PASCHALIDIS *et al.*, 2023).

A DA é confirmada através da análise *post-mortem* usando diretrizes do *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) (RANI *et al.*, 2023). O diagnóstico é clínico e conta com o apoio de biomarcadores. Contudo, dos indivíduos com 70 anos ou mais, 20% a 40% sem comprometimento cognitivo possuem biomarcadores ou evidências de autópsia do processo patológico da DA, portanto, os achados não são suficientes para os sintomas. Através de exames complementares pode-se realizar o diagnóstico preciso em casos atípicos ou de início precoce (SCHILLING *et al.*, 2022; DESCHARENTRE *et al.*, 2009).

A avaliação clínica é baseada especialmente nos domínios cognitivos afetados e no comprometimento funcional do paciente. A DA pode manifestar-se inicialmente com característica típica amnésica, onde há dificuldade predominante da memória episódica associada a lesões degenerativas das estruturas temporais mediais. Esse perfil ocorre em cerca de 85% dos casos. Outras apresentações atípicas e menos

frequentes começam com predomínio de alterações da linguagem, das habilidades visuais-espaciais, das funções executivas ou motoras complexas. As formas atípicas (geralmente pré-senis) mais comuns são a variante logopênica da afasia progressiva primária (vIAPP) e a visual-espacial-aprática da atrofia cortical posterior (ACP); e as menos comuns são a síndrome corticobasal (SCB) e a variante comportamental e disexecutiva (vcdDA) (SCHILLING *et al.*, 2022).

Atualmente, a neuroimagem - seja a tomografia por emissão de pósitrons (PET) ou a ressonância magnética (RM) - e os biomarcadores encontrados no líquido cefalorraquidiano (LCR), são métodos bem estabelecidos que fornecem precisão notável (RANI *et al.*, 2023).

A ressonância magnética estrutural é amplamente utilizada para medir alterações na morfometria cerebral relacionadas à perda de neurônios, sinapses e desarborização dendrítica na progressão da DA ao longo do tempo (FRISONI *et al.*, 2010; VEMURI e JACK, 2010). Os primeiros locais de atrofia normalmente ocorrem no córtex entorrinal no lobo temporal medial, seguido pelo hipocampo e estruturas adjacentes (JOHNSON *et al.*, 2012).

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) permite a aquisição de informações do estado funcional dos órgãos. A detecção acontece por pósitrons liberados de radionuclídeos que são análogos às moléculas biológicas comuns, como a glicose, e em pacientes com demência, apresentam hipometabolismo cerebral (CHÉTELAT *et al.*, 2020). Evidências demonstram que indivíduos assintomáticos com risco genético de DA, apresentam alterações metabólicas que precedem a atrofia, embora a diminuição no metabolismo da glicose também seja encontrada no envelhecimento (MOSCONI *et al.*, 2006; SHEN *et al.*, 2012; YOSHIZAWA *et al.*, 2014). Pacientes com DA possuem padrão de hipometabolismo que envolve os córtices cingulado posterior, pré-cuneo, têmporo-parietal e temporal medial (MOSCONI *et al.*, 2006; SILVERMAN *et al.*, 2001; SILVERMAN *et al.*, 1999).

Os biomarcadores líquóricos na DA utilizados para fins de diagnóstico são o peptídeo A β de 42 aminoácidos (A β ₁₋₄₂) e a proteína tau em sua composição total e porção fosforilada no resíduo de 181 de treonina (T-tau e P-tau, respectivamente). A assinatura patológica da DA no líquido cefalorraquidiano (LCR) consiste em um padrão determinado pela redução da concentração de A β ₁₋₄₂ e aumento das concentrações de T-tau e P-tau. A combinação de A β ₄₂ e P-tau proporciona uma sensibilidade e especificidade de aproximadamente 90% para distinguir a DA de

patologias não DA (DINIZ *et al.*, 2008; FORLENZA *et al.*, 2015; HANSSON *et al.*, 2006).

Embora seja um problema de saúde pública, no momento, existem apenas duas classes de fármacos aprovados para o tratamento da DA. Os inibidores da enzima colinesterase (análogos de origem natural, sintéticos e híbridos) que incluem donepezil, galantamina e rivastigmina. E um fármaco antagonista dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) representado pela memantina. Esses tratamentos são administrados por via oral ou transdérmica (ATRI *et al.*, 2016). Eles são eficazes apenas no tratamento dos sintomas, ajudando a manter a independência e a melhorar a qualidade de vida das pessoas com DA, mas não curam ou previnem a doença (WANG e REDDY, 2017). A hipótese colinérgica é a teoria mais antiga proposta para explicar a etiologia e os mecanismos por trás dos sintomas neuropsiquiátricos associado à DA (DAVIES e MALONEY, 1976; PÁKÁSKI e KÁLMÁN, 2008). O processo patológico da DA leva à destruição de células produtoras de acetilcolina (ACh) reduzindo a transmissão colinérgica através do cérebro. Os inibidores de acetilcolinesterase (IACHÉ) atuam bloqueando as enzimas – AChE e butirilcolinesterase (BChE) – na metabolização de ACh, o que resulta em maior disponibilidade de ACh na fenda sináptica (SINGH e SADIQ, 2023; SHARMA, 2019) com consequente melhora do desempenho da memória. Por outro lado, a superativação dos receptores NMDA leva ao aumento do influxo de Ca^{2+} e promove a morte celular e disfunção sináptica por um mecanismo denominado excitotoxicidade. Glutamato é um neurotransmissor excitatório que desempenha um papel fundamental nas funções cerebrais de aprendizagem e memória. O antagonista de NMDAR evita, portanto, a superativação de receptores de glutamato, regula os níveis do neurotransmissor e restaura a atividade celular normal (WANG e REDDY, 2017).

Estas terapias medicamentosas são eficazes no estágio inicial assintomático, desta forma, a administração em estágios tardios limitam os efeitos benéficos (ZENARO *et al.*, 2017). Uma razão que contribui para menor eficácia, inclui a restrição de passagem da circulação para o sistema nervoso central (SNC) através da barreira hematoencefálica (BHE). A falha da permeabilidade gera a necessidade do aumento de dosagem que pode possibilitar efeitos secundários indesejados (CHAKRABORTY *et al.*, 2017; ABBOTT *et al.*, 2010). Outra razão está relacionada as modificações das membranas neuronais e receptores em função do envelhecimento (COLIN *et al.*, 2017). Atualmente, vários novos caminhos são abordados para o tratamento

integrando nanomateriais, anticorpos, transplante de células-tronco e inserção de ácidos nucleicos para a melhoria na modificação da doença (BANKS, 2012; HUANG *et al.*, 2020; SE THOE *et al.*, 2021).

1.2. Fisiopatologia

A DA é um transtorno de disfunção sináptica que engloba falhas moleculares, celulares e de sistemas de circuitos corticais em macro escala que tem predileção por áreas cognitivas, inicialmente no lobo temporal medial, seguido pelas regiões isocorticais dos lobos temporal, parietal e frontal. A patologia da DA pode ser definida por lesões visualizadas microscopicamente de emaranhados neurofibrilares contendo proteína tau, placas de proteína beta-amiloide (A β), micróglia ativada ou aumento do tamanho de endossomos (ARNOLD *et al.*, 1991; KNOPMAN *et al.*, 2021; MONTINE *et al.*, 2012).

A proteína precursora amiloide (APP) é clivada por duas vias. Na via não amiloidogênica, as APPs de comprimento total são clivadas por α e γ -secretases para produzir um fragmento C-terminal secretado de 83 resíduos de aminoácidos (JUNGSU *et al.*, 2007). A clivagem da APP pela α -secretase gera sAPP α (*soluble APP alpha*) e α CTF (*alpha COOH-terminal fragmente*) e previne a formação de A β , sendo a α CTF posteriormente clivada pela γ -secretase no peptídeo p3 e no domínio intracelular AICD (HAASS e WILLEM, 2019).

A clivagem via β e γ -secretases (conhecida como via amiloidogênica) pode ser promíscua e produzir vários fragmentos beta-amiloides (A β) de diferentes tamanhos (JUNGSU *et al.*, 2007). As espécies mais abundantes de A β têm de 27–43 aminoácidos, dentre elas, a A β_{40} é a mais comum. Após a produção, A β é secretado para o espaço extracelular como um monômero (HOLTZMAN *et al.*, 2011; RANI *et al.*, 2023).

A etapa primária na geração da placa A β é a clivagem da proteína precursora de amiloide (APP) pela β -secretase em fragmento C-terminal de 89 ou 99 aminoácidos. Esta β -secretase inclui BACE 1 (*beta-site APP cleaving enzyme 1*) que cliva em sítios β Asp1 e Glu11. O fragmento C-terminal ligado à membrana de 99 resíduos de aminoácidos são posteriormente clivados pela γ -secretase para produzir as isoformas A β_{1-40} e A β_{1-42} . A γ -secretase inclui principalmente a presenilina 1 (PS1) ou presenilina 2 (PS2). Devido à sua sequência com dois aminoácidos adicionais de isoleucina e alanina, A β (particularmente A β_{42}) tem uma alta propensão a agregar, o

que ocorre de maneira dependente da concentração (GRIMM e HARTMANN, 2011; KNOPMAN *et al.*, 2021). Para detalhes, ver figura 1.

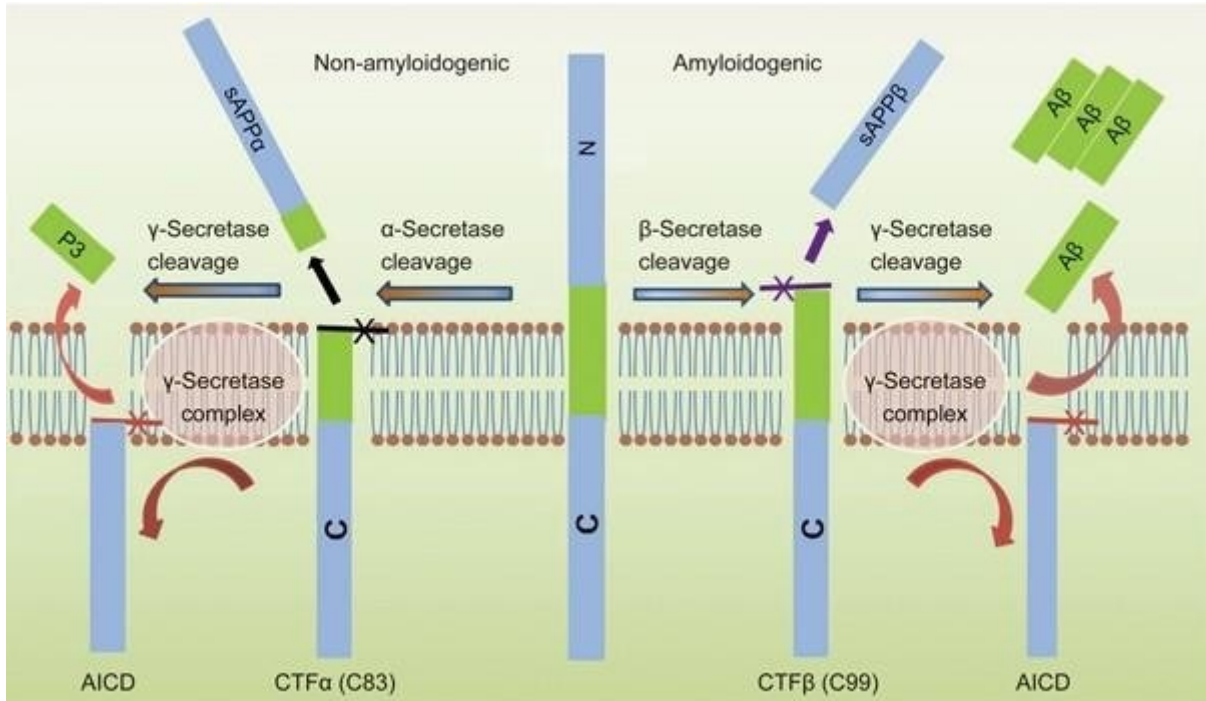


Figura 1: Clivagem da proteína precursora amiloide: via não-amiloidogênica e amiloidogênica. Fonte: CHEN *et al.*, (2017).

As proteínas anômalas no cérebro podem ser removidas por vários mecanismos de depuração, a fim de preservar a função fisiológica do SNC (XIN *et al.*, 2018). De acordo com MAWUENYEGA *et al.*, (2010), na DA tardia, é a depuração de Aβ, e não a sua produção, que está comprometida. A degradação de Aβ pode ocorrer através do sistema ubiquitina-proteassoma, do sistema autofagia-lisossomo, de proteases (CHESSER *et al.*, 2013; MINERS *et al.*, 2011; VILCHEZ *et al.*, 2014) e da fagocitose microglial (LI *et al.*, 2014). A micróglia pode promover a decomposição de fibrilas e oligômeros de Aβ ao secretar proteinases, como a enzima degradadora de insulina, epinefrina e metaloproteinase-9 (MMP-9), além de expressar diversos receptores que aumentam a captação de agregados de Aβ. A eliminação de Aβ do cérebro ocorre a partir do fluido intersticial e do líquido cefalorraquidiano para o sangue através da barreira hematoencefálica, vilosidades aracnoides ou para os gânglios linfáticos cervicais através da drenagem perivascular e da via linfática. Na

periferia, A β é principalmente eliminada por componentes do sangue, como hemácias e monócitos, ou por órgãos como o fígado e os rins (XIN *et al.*, 2018).

Embora todas as células produzam A β , ela é gerada em altos níveis pela atividade sináptica e sua produção e liberação são reguladas pela atividade sináptica (CIRRITO *et al.*, 2005). Os níveis de A β também são modulados pelo ciclo vigília-sono (KANG *et al.*, 2009). A produção e liberação de A β para o espaço extracelular é maior durante a vigília e a depuração de A β através do sistema linfático é maior durante o sono (BOESPFLU e ILIFF, 2018).

A proteína tau é codificada pelo gene MAPT situado no cromossomo 17, composta de quatro domínios primários (NEVE *et al.*, 1986; TAKANASHI *et al.*, 2002). Em cérebros adultos, o *splicing* alternativo dos exons 2, 3 e 10 afeta principalmente a região de projeção N-terminal e o domínio de ligação aos microtúbulos. O *splicing* alternativo do exon 10 produz isoformas 4R ou 3R da tau, dependendo, respectivamente, da presença ou da ausência da sequência de aminoácidos codificada por ele. Estas isoformas são mantidas em proporções equilibradas. Tau 4R demonstra uma atividade mais forte na promoção da montagem de microtúbulos do que 3R, contudo na DA, os emaranhados apresentam ambas as isoformas (NASERI; WANG; GUO; SHARMA *et al.*, 2019). Os domínios de ligação aos microtúbulos estão envolvidos na polimerização e estabilização para manter a conexão de microtúbulos, transporte de axônios, e manutenção da integridade celular. Esta ligação é regulada pela fosforilação dos resíduos serina/treonina por uma variedade de quinases como a glicogênio sintase quinase-3 β (GSK3 β) e a quinase dependente de ciclina-5 (CDK5) (KHAN *et al.*, 2020). As vias de autofagia e ubiquitina-proteassoma estão envolvidas na depuração regular e na manutenção dos níveis de tau (RANI *et al.*, 2023).

A proteína tau pode ser encontrada na forma solúvel ou insolúvel; esta última é identificada nos filamentos helicoidais pareados (FHP), que é o principal componente dos emaranhados neurofibrilares. Os FHPs apresentam de seis a oito grupos fosfato por molécula de proteína tau, o que, em comparação com o grau de fosforilação usual da proteína tau em cérebros saudáveis (em torno de dois grupos fosfato por molécula), permite afirmar que a proteína tau identificada nos FHPs encontra-se em estado hiperfosforilado (BRANDT *et al.*, 2005). O aumento dos níveis de fosfato promove diminuição da afinidade pela tubulina. Quando isso acontece, ela se acumula de forma hiperfosforilada em corpos celulares e dendritos. Tau é liberada no espaço

extracelular pela atividade sináptica e absorvida nos neurônios pós-sinápticos e na microglia (DE CALIGNON *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2016; YAMADA *et al.*, 2014).

Uma pequena porcentagem (5%) (BALLARD *et al.*, 2011) de todos os casos de DA está ligada a mutações genéticas dominantes em três genes codificadores para *APP*, *PSEN1* e *PSEN2* e estão tipicamente associadas a forma precoce da doença, nas quais os sintomas clínicos aparecem antes dos 65 anos de idade (LONG e HOLTZMAN, 2019; ROSTAGNO *et al.*, 2010). Esses genes fornecem apoio à hipótese da cascata amiloide. A maioria dos pacientes apresenta doença de Alzheimer de início tardio, que é de natureza esporádica. Evidências atuais apoiam a existência de uma série de fatores de risco genéticos, entre os quais a presença do alelo E4 no gene da *apolipoproteína E* (ApoE), que ocorre em cerca de 16% da população, é o mais significativo, trata-se de uma proteína reguladora envolvida no metabolismo e tráfico lipídico (KARCH e GOATE, 2015). O *SORL1* também foi identificado como uma importante causa genética da doença de Alzheimer de início tardio (ROGAEVA; MENG; LEE; GU *et al.*, 2007). Além das mutações genéticas, é provável que muitos neuropeptídeos estejam envolvidos na formação de placas, como por exemplo, baixos níveis hormônio liberador de corticotrofina (CRH), somatostatina e neuropeptídeo Y, ao passo que níveis mais elevados de angiotensina II estão provavelmente envolvidos na clivagem irregular da APP ou na remoção prejudicada do fragmento A β ₁₋₄₂ (BARAGE e SONAWANE, 2015).

O sistema colinérgico está envolvido no processo de cognição. Neurônios colinérgicos do núcleo basal de Meynert exibem seletivamente deposição de placas amiloides e NFTs, e eventualmente sofrem degeneração devido ao início dos eventos pró-inflamatórios (HAMPEL *et al.*, 2018). Alterações dos receptores nicotínicos de acetilcolina, ou nAChRs, podem causar prejuízo à integridade sináptica em regiões corticais e de hipocampo onde sabe-se que A β exibe ligações com $\alpha 7$ e $\alpha 4\beta 2$ -nAChR (GRIMM e HARTMANN, 2011; HAMPEL *et al.*, 2018). A depleção de acetilcolina também está ligada a baixa expressão de acetilcolina transferase e aumento da expressão de acetilcolinesterase (AChE), esta, interage com o peptídeo A β e promove formação de placas (FERREIRA-VIEIRA *et al.*, 2016). Foi observado que a degeneração de neurônios noradrenérgicos no *locus coeruleus* está relacionado ao comprometimento cognitivo. Além disso, receptores noradrenérgicos são densamente expressos em astrócitos, cuja ativação melhora a plasticidade sináptica e, portanto, a aprendizagem e memória (LEANZA *et al.*, 2018). Estudos mostram que a serotonina

está presente na patogênese da DA, através da perda de neurônios que levam a diminuição do nível do neurotransmissor em núcleos da rafe do mesencéfalo, responsáveis pela modulação da plasticidade cortical e formação da memória (VAKALOPOULOS, 2017). Isto corrobora com Yun *et al.*, (2015) que relataram melhora do declínio cognitivo com a administração de antagonista de 5HT6R. E como A β também pode induzir hipersensibilidade dos receptores NMDA, este desequilíbrio no metabolismo de glutamato/glutamina causa despolarização persistente dos neurônios que leva ao dano sináptico (GUO *et al.*, 2017).

1.3. Neuroinflamação

A neuroinflamação é uma resposta inflamatória no SNC devido aos danos patológicos que ocorrem, seja na periferia ou no SNC, com importante papel na DA (KHAN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2023). A inflamação aguda tem uma função protetora na defesa contra lesões cerebrais, como a presença de placas A β . A resposta neuroinflamatória envolve todas as células presentes no sistema nervoso central e a comunicação entre micróglia, astrócitos e neurônios é necessária para fornecer homeostase e sobrevivência neuronal (KHAN *et al.*, 2020; SINGH, 2022). No entanto, a ativação persistente da micróglia é incapaz de promover a remoção de placas, enquanto sua capacidade de liberar citocinas pró-inflamatórias é mantida, resultando na produção não só de citocinas pró-inflamatórias, como quimiocinas, fatores do complemento, bem como alguns mensageiros de moléculas pequenas, por exemplo, prostaglandinas, óxido nítrico (NO) e as espécies reativas de oxigênio (ROS), que levam a um desequilíbrio pró e anti-inflamatório (LENG e EDISON, 2021).

Na DA, enquanto a micróglia apresenta principalmente o fenótipo anti-inflamatório ativado M2, caracterizado pela liberação de citocinas anti-inflamatórias, incluindo o fator transformador de crescimento- β (TGF- β), IL-4, IL-10 e IL-13 e fagocitose aumentada (UDEOCHU *et al.*, 2016). A inflamação persistente transforma a micróglia no fenótipo pró-inflamatório M1 ativado, que promove a inflamação e leva ao aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-4, IL-6, IL-12 e IL-18, acompanhada por fagocitose prejudicada (MANTOVANI *et al.*, 2002), enquanto o corpo celular da micróglia é aumentado, os processos tornam-se mais curtos e o contorno das células arredondado. Esses estados polarizados diferem no desencadeamento de estímulos, marcadores fenotípicos e expressão de mediadores secretados. (NIMMERJAHN *et al.*, 2005).

Múltiplos fatores impulsionam o início e a progressão da neuroinflamação na DA, que podem ser classificados em fatores internos e externos. Os fatores internos que poderiam potencializar a neuroinflamação na DA incluem sexo biológico, idade e fatores genéticos. O papel do sexo biológico na neuroinflamação é principalmente devido às alterações nos hormônios esteroides e nos receptores de estrogênio (MOSER e PIKE, 2016). Além do sexo, o envelhecimento (HOOZEMANS *et al.*, 2011) e as mutações genéticas afetam negativamente a neuroinflamação possivelmente pelo acúmulo de proteínas, por alterações na proteostase envolvendo estresse do retículo endoplasmático (UDDIN *et al.*, 2021), desencadeado pelo receptor expresso nas células mieloides 2 (TREM2), R47H (FULLER *et al.*, 2010) e a mutação de ApoE4 (KLOSKE e WILCOCK, 2020).

No que diz respeito aos fatores externos, muitos estudos demonstraram que o estresse está altamente correlacionado com a exacerbação da DA através da ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e aumento dos níveis de cortisol (JUSTICE, 2018). Fatores adicionais que podem induzir neuroinflamação incluem os distúrbios metabólicos, como obesidade e diabetes (NUZZO *et al.*, 2015) e a dieta ocidental (CAVALIERE *et al.*, 2019; MCGRATTAN *et al.*, 2019). O consumo crônico da dieta ocidental pode causar obesidade e disbiose da microbiota intestinal (ANGELUCCI *et al.*, 2019; WIĘCKOWSKA-GACEK *et al.*, 2021). A obesidade a longo prazo e a dieta rica em gordura foram associadas à depressão, ansiedade e aumento dos níveis de marcadores inflamatórios cerebrais (LORENA *et al.*, 2021). Além disso, a dieta ocidental tem sido associada a alterações da microbiota e à produção de endotoxinas, que têm sido associadas à ruptura da barreira hematoencefálica (BHE), resultando no vazamento de toxinas do sangue para o SNC e neuroinflamação (NOBLE *et al.*, 2017).

1.4. Colesterol e Doença de Alzheimer

As membranas celulares são compostas por glicerofosfolipídios (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol), esfingolipídios (esfingomielina, ceramida e gangliosídeos), ésteres de colesterol e colesterol, acilgliceróis e ácidos graxos. A bicamada fosfolipídica e os lipídios associados fornecem não apenas uma barreira de permeabilidade, mas também um ambiente estruturado que é essencial para o bom funcionamento das proteínas ligadas à membrana (MAXFIELD e TABAS, 2005). O colesterol é um dos mais

importantes reguladores da organização lipídica, pois sua estrutura permite preencher espaços intersticiais entre cadeias de ácidos graxos hidrofóbicos de fosfolipídios. A distribuição transbicamada de colesterol entre os folhetos determina a fluidez da membrana e pode alterar sua função (ADIBHATLA e HATCHER, 2008).

O cérebro contém os níveis mais elevados de colesterol do corpo, representando, aproximadamente, 23% do colesterol corporal total (DIETSCHY e TURLEY, 2001). A maior parte do colesterol cerebral está presente na mielina, nas membranas neurais, e pequenas quantidades de colesterol estão associadas ao núcleo celular, que contém atividades de enzimas metabolizadoras do colesterol (ALBI *et al.*, 1999; FAROOQUI, 2009). O colesterol afeta as propriedades físico-químicas das membranas neurais e regula a endocitose, a expressão de antígenos e as atividades de enzimas, receptores e canais iônicos ligados à membrana. É vital nas funções cerebrais, incluindo transdução de sinais, que podem estar envolvidos no crescimento de neuritos, o que, por sua vez, pode levar a plasticidade sináptica, relacionada à aprendizagem e memória (DIETSCHY e TURLEY, 2001; SCHREURS, 2010).

O colesterol pode ser obtido por meio da alimentação ou sintetizado pelo próprio organismo, principalmente no intestino e fígado (ZIPP *et al.*, 2007). No cérebro adulto é sintetizado primariamente pelos astrócitos (QUAN *et al.*, 2003). A síntese *de novo* acontece principalmente no retículo endoplasmático em processo dependente de ATP, mas independente da passagem pelo complexo de Golgi (HEINO *et al.*, 2000; KAPLAN e SIMONI, 1985). O processo começa com a conversão de acetil-Coenzima A em 3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A (HMG-CoA) por ação enzimática da HMG-CoA redutase, esta, faz a redução a mevalonato. Em uma sequência de reações ocorre a conversão de mevalonato em 3-isopenenil pirofosfato, farnesil pirofosfato, esqualeno, lanoesterol e várias etapas até a formação final do colesterol (BERG *et al.*, 2002). As moléculas de colesterol possuem domínios polares e apolares que as tornam insolúveis, por isso, a maior parte encontra-se ligada a proteínas, tal como as apolipoproteínas apoe-I ou apoE no citosol. A transferência para fora da célula em astrócitos ocorre na membrana plasmática via transportador ABCA1 (*ATP-binding cassette A subfamily 1*) e a absorção por neurônios acontece através do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR) e pela proteína 1 relacionada ao LDLR (LRP1) (MARTÍN *et al.*, 2014; PFRIEGER e UNGERER, 2011)

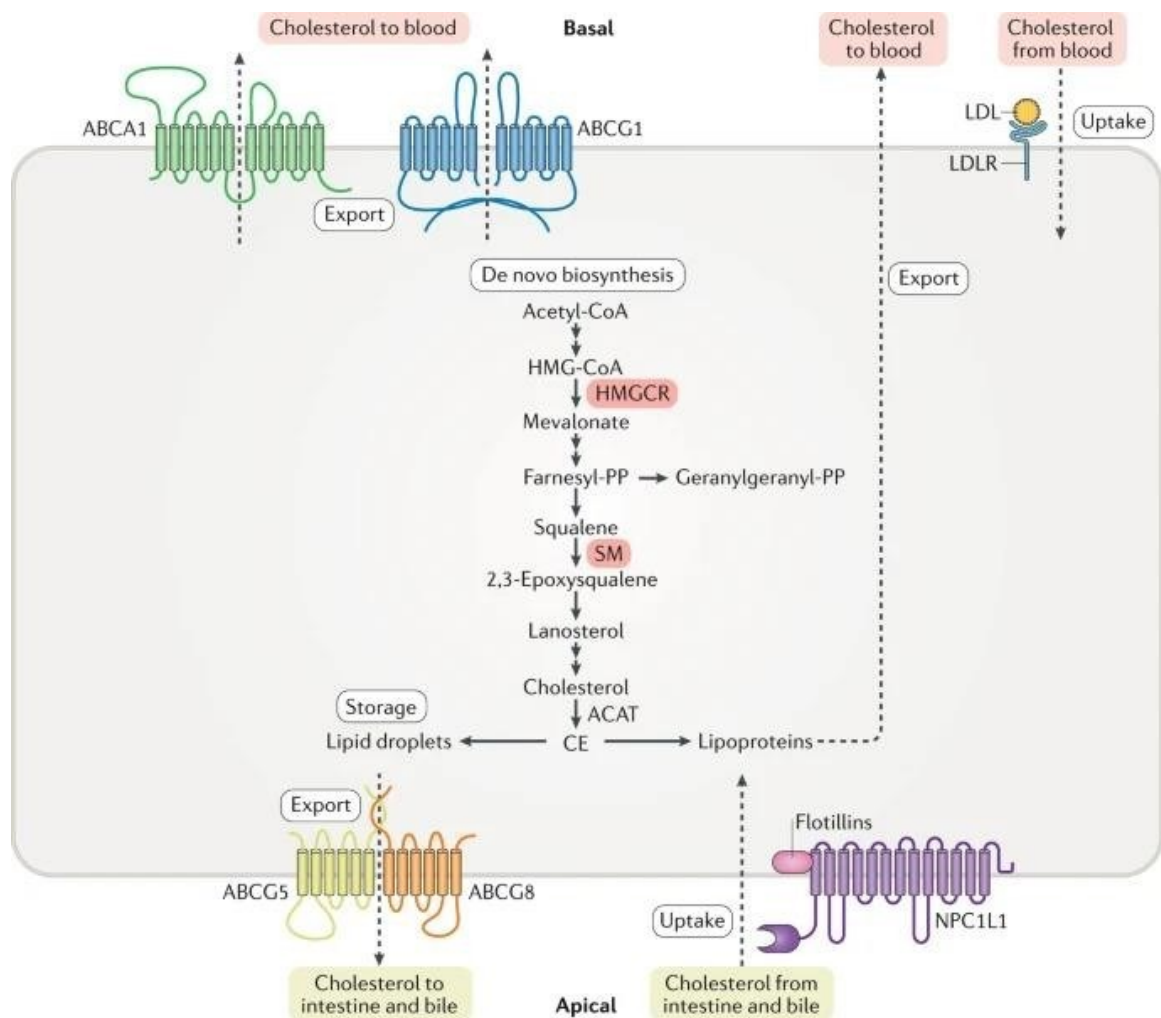


Figura 2: Metabolismo do colesterol em células polarizadas via síntese de novo. O colesterol é sintetizado a partir de uma série de reações usando HMG-CoA redutase e escaloeno monooxigenase como enzimas limitadoras da produção. Além da biossíntese de novo, o colesterol transportado pelas lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue pode ser captado pelo receptor de LDL (LDLR). A absorção de fontes alimentares é mediada por proteínas Niemann-Pick C tipo 1 (NPC1L1) associadas à flotilinas presentes na superfície apical das células. O excesso de colesterol é exportado pelo transportador ABCA1 ou pelo homodímero ABCG1. O colesterol também pode ser convertido em éster de colesterol (CE) pela enzima colesterol aciltransferase (ACAT) para armazenamento em gotículas lipídicas ou para secreção com lipoproteínas. Fonte: LUO *et al.*, (2020)

Sabe-se que o colesterol livre não pode cruzar a BHE, mas pode ser capaz se carreado através de receptores para lipoproteínas, mediando a transcitose e via oxisteróis modificados, que são metabólitos do colesterol (BRANKATSCHK e EATON, 2010). Destes, o 24-hidroxicolesterol (OHC) é sintetizado no sistema nervoso central (SNC) mas, quando em excesso, pode ultrapassar a BHE e alcançar a circulação sistêmica. Já o 27-OHC é um metabólito produzido na periferia, capaz de realizar o caminho inverso. Outro derivado do colesterol presente no SNC é o 25-

OHC, o qual pode ser tanto produzido no cérebro quanto na periferia e atravessa a BHE (GAMBA *et al.*, 2019). Contudo, altas concentrações de derivados da oxidação do colesterol podem induzir apoptose e excitotoxicidade de células neuronais (TROUSSON *et al.*, 2009; MA *et al.*, 2010).

Há evidências de que o colesterol tem papel importante no desenvolvimento e progressão da DA. A ApoE é uma das principais apolipoproteínas no plasma e a principal proteína transportadora de colesterol no cérebro. A identificação do gene que codifica a variante ApoE4 como um fator de risco significativo para DA forneceu evidências de um papel do colesterol na patogênese da DA (PUGLIELLI, 2008). Foi demonstrado que indivíduos portadores do alelo APOE4 têm uma chance duas vezes maior de desenvolver DA, enquanto indivíduos não portadores do alelo APOE4 têm um risco reduzido de DA em 40%. No entanto, menos da metade de todos os pacientes com DA possuem o alelo E4 e nem todos os portadores de E4 desenvolvem a doença (BIRD, 2005; NUSSBAUM e ELLIS, 2003; VASTO *et al.*, 2008). As lipoproteínas APOE dentro do compartimento lisossomal neuronal podem liberar colesterol para as membranas intracelulares, subsequentemente aumentando a taxa de geração de A β a partir de seu precursor APP (PUGLIELLI *et al.*, 2003). Além disso, a ligação da APOE ao A β prejudica a depuração de A β livre através da BHE via LRP1 (DEANE *et al.*, 2008).

O 25-OHC é um potente oxiesterol regulador da biossíntese do colesterol. É convertido do colesterol por ação da enzima colesterol 25-hidroxilase (CH25H), altamente expressa e induzida principalmente em macrófagos periféricos e células dendríticas em resposta a estímulos inflamatórios como LPS e interferon, por exemplo. Embora a deficiência de CH25H não cause defeitos na homeostase do colesterol, 25-OHC parece ter múltiplas funções para regular a imunidade inata e adaptativa (WONG *et al.*, 2020).

O colesterol é o precursor para a biossíntese de neuroesteróides. Em cérebros de indivíduos com DA, uma tendência para a diminuição dos níveis de todos os esteroides foi observada, com quantidades significativamente menores de pregnenolona e desidroepiandrosterona. Esses níveis mais baixos se correlacionaram com quantidades aumentadas de peptídeos A β e proteínas tau fosforiladas. Não se sabe se essas deficiências de neuroesteróides contribuem ou resultam da patologia da DA, mas como muitos neuroesteróides têm ações neuroprotetoras, seus níveis mais baixos poderiam contribuir para a neurotoxicidade da A β (WANG *et al.*, 2008).

Estudos epidemiológicos têm sugerido um possível efeito protetor para as estatinas que inibem a HMG-CoA redutase, a enzima que catalisa a etapa limitante da síntese do colesterol, em pacientes com DA. De fato, do ponto de vista biológico, parece viável que as estatinas possam prevenir a demência devido ao seu papel na redução dos níveis de colesterol e nas atividades anti-inflamatórias que não dependem diretamente da redução do colesterol sanguíneo. No entanto, embora as evidências de estudos retrospectivos de caso-controle sugiram um papel benéfico das estatinas na prevenção da DA, um benefício semelhante não foi estabelecido em estudos de coorte prospectivos ou ensaios clínicos randomizados (KANDIAH e FELDMAN, 2009; MCGUINNESS *et al.*, 2016; VASTO *et al.*, 2008).

Uma grande quantidade de evidências sugere uma ligação patogênica entre hipercolesterolemia e DA, embora os mecanismos exatos ainda não estejam claros (PUGLIELLI *et al.*, 2003; RICCIARELLI *et al.*, 2012; SIMONS *et al.*, 1998). Animais alimentados com dieta rica em colesterol apresentam aumento na geração e acúmulo de A β (GHRIBI *et al.*, 2006; JAYA *et al.*, 2008; SPARKS *et al.*, 1994; THIRUMANGALAKUDI *et al.*, 2008; UMEDA *et al.*, 2012). O metabolismo anormal do colesterol cerebral pode aumentar a expressão e a fosforilação da proteína tau (GHRIBI *et al.*, 2006). Mais importante, a hipercolesterolemia experimental a longo prazo causa neuroinflamação e neurodegeneração hipocampal com déficits cognitivos (LU *et al.*, 2010; MOREIRA *et al.*, 2014; SPARKS *et al.*, 2000; THIRUMANGALAKUDI *et al.*, 2008; UMEDA *et al.*, 2012).

Em um estudo realizado com homens de 70 a 89 anos, níveis elevados de colesterol total (CT) na meia-idade (>250mg/dl) mostraram-se um fator de risco para DA no final da vida, independentemente da presença do alelo ϵ 4 da apoE (NOTKOLA *et al.*, 1998). Outros estudos, entretanto, verificaram que os níveis de CT foram influenciados pelo genótipo da apoE, sexo, idade e estágio da DA (EVANS *et al.*, 2000; JARVIK *et al.*, 1995; PUGLIELLI *et al.*, 2003). A associação de hipercolesterolemia na meia-idade e DA também foi confirmada por outros estudos (SOLOMON *et al.*, 2009; WHITMER *et al.*, 2005). Uma hipótese é que a hipercolesterolemia acelerou o acúmulo de A β e da proteína tau, de modo que a modulação do colesterol poderia ser usada para reduzir o risco de desenvolvimento da DA (PARK *et al.*, 2013). Em outro estudo observacional com mulheres sem demência pós-menopausa (<80 anos), níveis elevados de LDL-C e CT foram correlacionados com piores escores na avaliação do mini-exame do estado mental (MEEM) e maior probabilidade de

desenvolver comprometimento cognitivo, embora os níveis de HDL-C e triglicérides (TG) não tenham sido associados à cognição. Além disso, a redução nos níveis de CT e LDL-C por 4 anos foi associada a melhor função cognitiva (YAFFE *et al.*, 2002).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar, mediante à administração de uma dieta rica em colesterol, os efeitos envolvidos nas citocinas inflamatórias em modelo animal de Doença de Alzheimer.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar quantitativamente os níveis de citocinas no hipocampo de animais controle e com DA;
- Avaliar quantitativamente os níveis de citocinas no córtex pré-frontal de animais controle e com DA;
- Avaliar quantitativamente os níveis de citocinas no estriado de animais controle e com DA;
- Avaliar quantitativamente os níveis de citocinas no córtex de animais controle e com DA;
- Avaliar quantitativamente os níveis de citocinas no rim de animais controle e com DA;
- Avaliar quantitativamente os níveis de citocinas no baço de animais controle e com DA;
- Investigar as diferenças inflamatórias entre estruturas do SNC e órgãos periféricos;
- Relacionar os níveis de citocinas com DA.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Para o estudo foram utilizados camundongos machos e fêmeas, com linhagens distintas, onde *Littermates wild-type* (WT) foram usados como controle, e duplo-transgênicos para DA, APP/PS1 [B6C3-Tg (APP^{swe}, PSEN1^{dE9}) 85Dbo/Mmjax], que super expressam 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. Esses animais foram obtidos por meio de biotério próprio e o genótipo foi diferenciado a partir da reação em cadeia da polimerase (PCR). Os camundongos foram mantidos em biotério com estantes climatizadas, temperatura constante de 24°C, sob regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, acesso livre a água e respectiva alimentação aos seis meses de idade por 18 semanas, dependendo do experimento. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), número de protocolo CEUA: 374/2018.

3.2. Dieta

Os camundongos foram submetidos à dieta padrão AIN-93M, conforme a *American Institute of Nutrition* (Reeves et al., 1993), ou a mesma dieta acrescida de 1,25% de colesterol por dezoito semanas. As rações modificadas foram produzidas no Laboratório de Neurofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, conforme Tabela 1.

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%	12,5
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

3.3. Grupos Experimentais

Os animais foram separados em 4 grupos experimentais: WT controles, alimentados por dieta padrão; WT alimentados por dieta acrescida com colesterol 1,25%; APP/PS1 alimentados por dieta padrão e APP/PS1 alimentados por dieta acrescida com colesterol 1,25%. A massa corporal dos animais foi medida 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, os animais foram eutanasiados para obtenção das amostras de rins, baço, córtex pré-frontal, córtex, hipocampo e estriado. As amostras foram armazenadas a -80°C para avaliação posterior de mediadores inflamatórios.

3.4. Quantificação de Mediadores Inflamatórios

Estas dosagens foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos (LIGP) do ICB. As amostras foram homogeneizadas em tampão de extração de citocinas [Tris-HCl 0,5 M pH 8,0; NaCl 5 M; 1% NP40; glicerol 10%; fluoreto fenilmetilsulfonil (PMSF) 200 mM; pepstatina A 1 µM; 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, procedeu-se ao ensaio por microesferas (CBA - *Cytometric Bead Array*) para quantificação dos analitos.

Os níveis das citocinas IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 e TNF-α, presentes nas amostras dos animais, foram determinados utilizando o kit BD *Cytometric Bead Array* (CBA) *Mouse Th1/Th2/Th17 Cytokine* (BD Bioscience, San Diego, CA, EUA). 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).

3.5. Análise Estatística

Para análise estatística utilizou-se o programa *GraphPad Prism* versão 8.0.2. A avaliação foi feita por comparação entre grupos (dieta-genótipo) para cada citocina analisada. Foi aplicado o teste ANOVA *two-way* com o pós-teste de Tukey. Para diferença estatística significativa considerou-se $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Córtex

Com o intuito de investigar o efeito do colesterol no perfil inflamatório, realizamos a análise de citocinas em diferentes regiões do SNC. Posteriormente, verificamos as interações entre os grupos considerando as variáveis genótipo e dieta. Os níveis das citocinas IL-6 e IL-10 não foram detectáveis nas estruturas estudadas. No córtex não foram observadas concentrações expressivas de IFN- γ e TNF- α , portanto, não houve representação gráfica. Os níveis de IL-2 foram semelhantes entre os grupos ($p=0,1661$), e os fatores genótipo ($p=0,5047$) e dieta ($p=0,7275$), também não foram significativos (Figura 3A). Para IL-4, não foi observada diferença ($p=0,2740$), nem em genótipo ($p=0,8128$) e dieta ($p=0,9730$) (Figura 3B). Também houve semelhança estatística para IL-17 ($p=0,0922$), obteve-se interação com genótipo $p=0,3611$ e dieta $p=0,5544$ (Figura 3C).

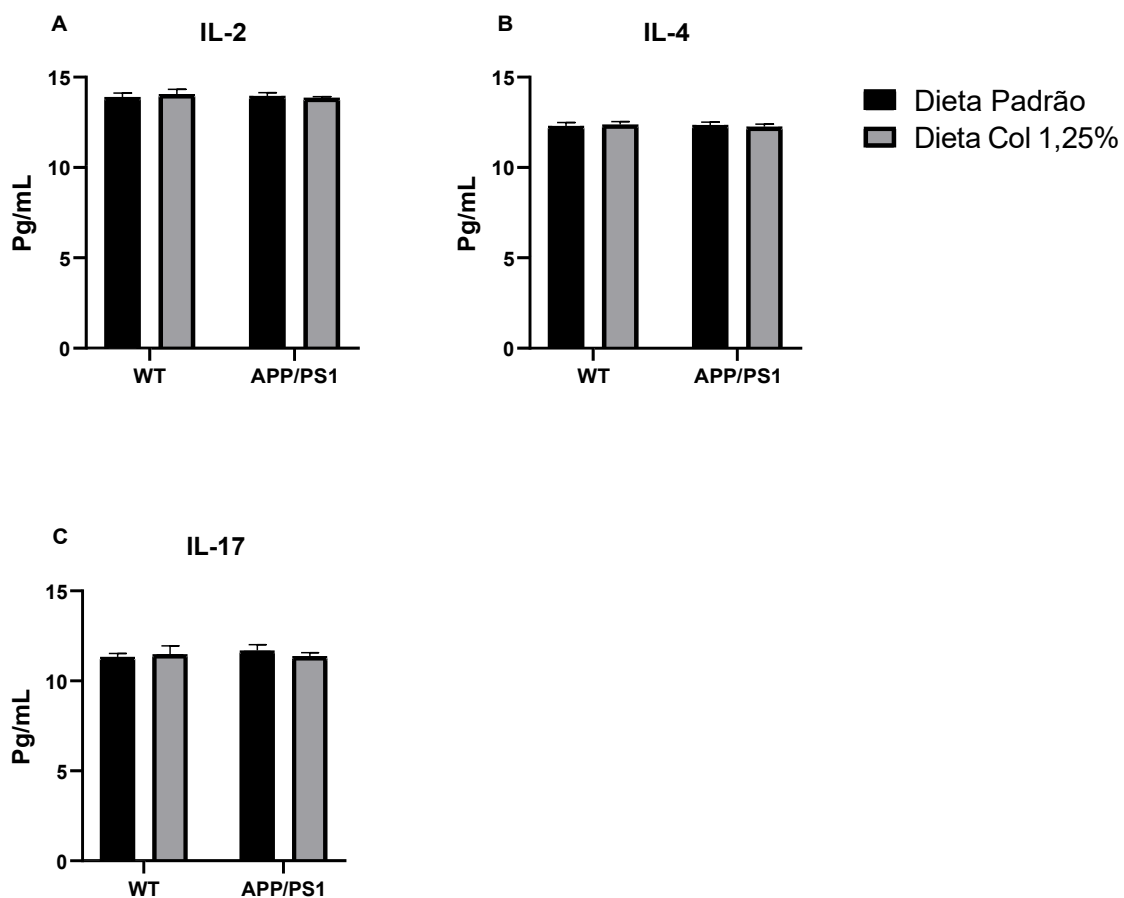


Figura 3: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no córtex de camundongos. Comparação entre os grupos WT e APP/PS1, alimentados com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25% por 18 semanas. N=6 para cada grupo com animais machos e fêmeas. A: Concentração em Pg/mL de

IL-2. B: Concentração em Pg/mL de IL-4. C: Concentração em Pg/mL de IL-17. ANOVA *two way*, pós teste de Tukey. $p < 0,05$.

4.2. Estriado

Tanto camundongos WT quanto APP/PS1 não possuíam níveis detectáveis de IFN- γ e TNF- α no estriado independentemente do tipo de dieta oferecida (sem representação gráfica). Não foram observadas diferenças nas concentrações de IL-2 ($p=0,6077$) e não haviam alterações entre genótipo ($p=0,8402$) e dieta ($p=0,9642$) (Figura 4A). IL-4 possui níveis semelhantes entre os grupos ($p=0,1316$), com genótipo $p=0,5591$ e dieta $p=0,1201$ (Figura 4B). IL-17 não exibiu diferença estatística com $p=0,6630$, o mesmo foi observado na comparação de genótipo ($p=0,2495$) e dieta ($p=0,1010$) (Figura 4C).

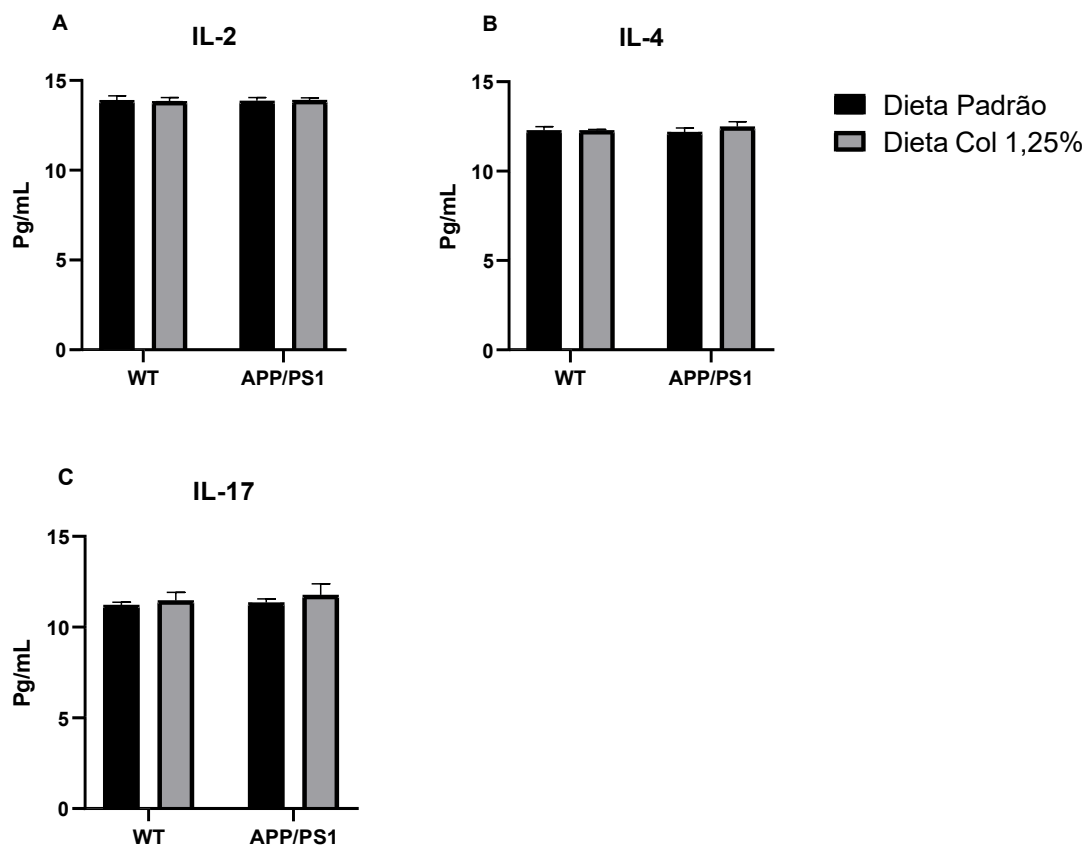


Figura 4: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no estriado de camundongos. Comparação entre os grupos WT e APP/PS1, alimentados com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25% por 18 semanas. N=6 para cada grupo com animais machos e fêmeas. A: Concentração em Pg/mL de IL-2. B: Concentração em Pg/mL de IL-4. C: Concentração em Pg/mL de IL-17. ANOVA *two way*, pós teste de Tukey. $p < 0,05$.

4.3. Córtex Pré-Frontal

A dosagem de IL-2 mostrou-se semelhante para interação entre grupos ($p=0,2943$) e genótipo ($p=0,5717$), já em relação a dieta, apresentou significância com $p=0,0435$, contudo a diferença não foi mantida após o pós-teste (Figura 5A). De forma semelhante se apresentaram os resultados de IL-4 e IL-17, que apesar da diferença estatística para variável dieta com $p=0,0320$ e $p=0,0454$ respectivamente, não mantiveram diferença significativa no pós-teste (Figura 5B e 5C). Isto demonstra que a dieta não causou efeito na concentração destas citocinas. Em IL-4 a interação entre grupos foi de $p=0,5309$ e genótipo $p=0,3249$. Na quantificação de IL-17 obteve-se interação entre grupos com $p=0,8325$ e genótipo $p=0,6617$. Os níveis de IFN- γ e TNF- α não foram detectáveis.

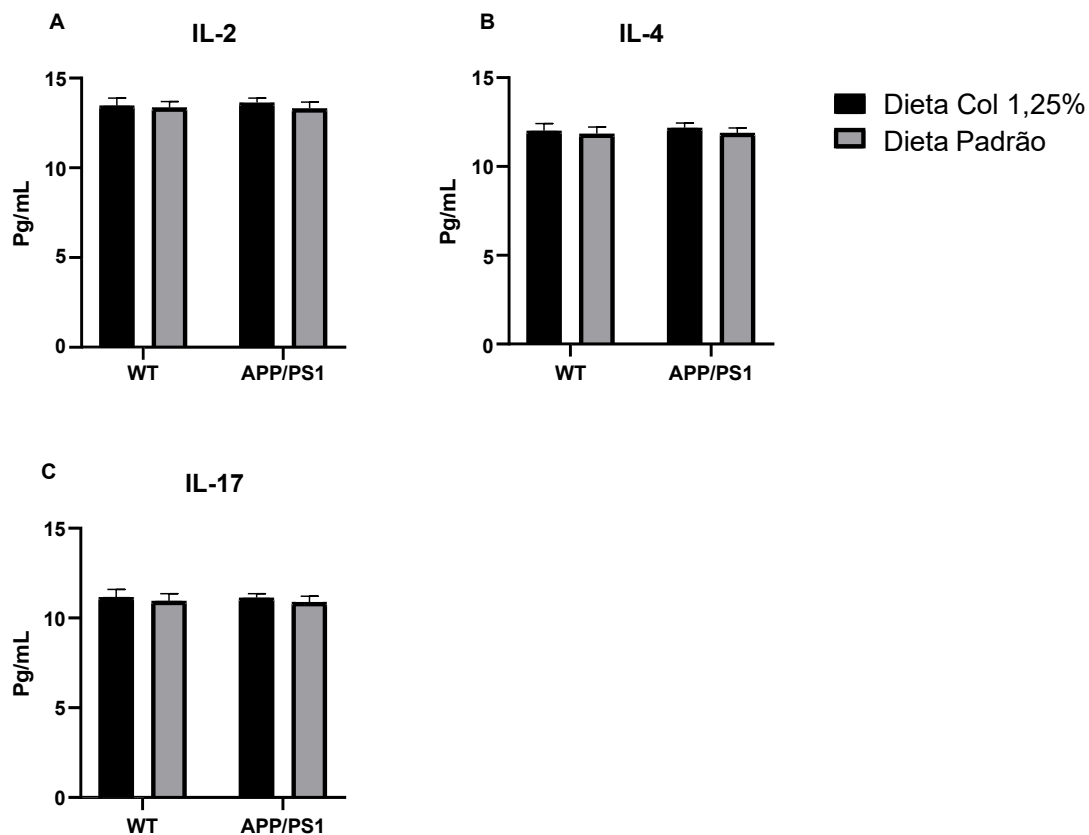


Figura 5: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no córtex pré-frontal de camundongos. Comparação entre os grupos WT e APP/PS1, alimentados com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25% por 18 semanas. N=6 para cada grupo com animais machos e fêmeas. A: Concentração em Pg/mL de IL-2. B: Concentração em Pg/mL de IL-4. C: Concentração em Pg/mL de IL-17. ANOVA two way, pós teste de Tukey. $p<0,05$.

4.4. Hipocampo

As citocinas quantificadas das amostras de hipocampo não mostraram diferença estatística entre animais com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25%, independente do genótipo. Foi observado em IL-2 $p=0,3078$, com genótipo de $p=0,3997$ e dieta $p=0,4270$ (Figura 6A). Na dosagem de IL-4 houve $p=0,8284$, e as variáveis genótipo com $p=0,1409$ e dieta $p=0,1142$ (Figura 6B). E para IL-17 obteve-se $p=0,5185$, com semelhança entre genótipos ($p=0,7502$) e dieta ($p=0,7184$) (Figura 6C). No método utilizado não foram detectáveis as concentrações de IFN- γ e TNF- α .

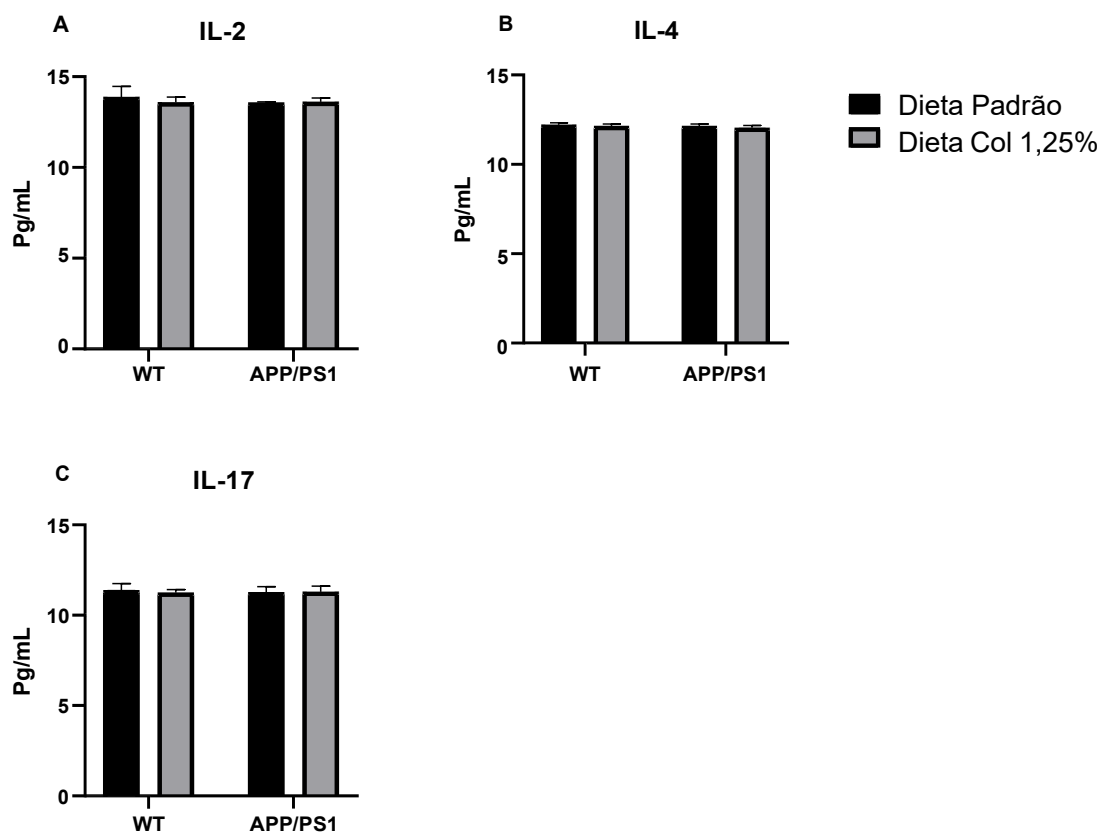


Figura 6: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no hipocampo de camundongos. Comparação entre os grupos WT e APP/PS1, alimentados com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25% por 18 semanas. N=6 para cada grupo com animais machos e fêmeas. A: Concentração em Pg/mL de IL-2. B: Concentração em Pg/mL de IL-4. C: Concentração em Pg/mL de IL-17. ANOVA two way, pós teste de Tukey. $p<0,05$.

4.5. Rim

A dosagem de IFN- γ em amostras renais de camundongos C57BL/6 e WT, submetidos à dieta com acréscimo de colesterol e padrão, foram parcialmente detectáveis, de modo que apenas alguns animais foram positivos quanto a alguma

concentração para análise (Figura 7A). Quanto à TNF- α nenhum grupo experimental exibiu concentração detectável (sem representação gráfica). Na dosagem de IL-2 não se observou diferença estatisticamente significativa ($p=0,3933$), sem distinção entre genótipo ($p=0,0788$) e dieta ($p=0,9915$) (Figura 7B). De forma semelhante IL-4 e IL-17 não apresentaram diferença estatística ($p=0,5064$; $p=0,5101$) e as variáveis genótipo $p=0,3830$ e $p=0,7767$ e dieta $p=0,5872$ e $p=0,5621$, respectivamente, também não exibiam significância (Figura 7C e 7D).

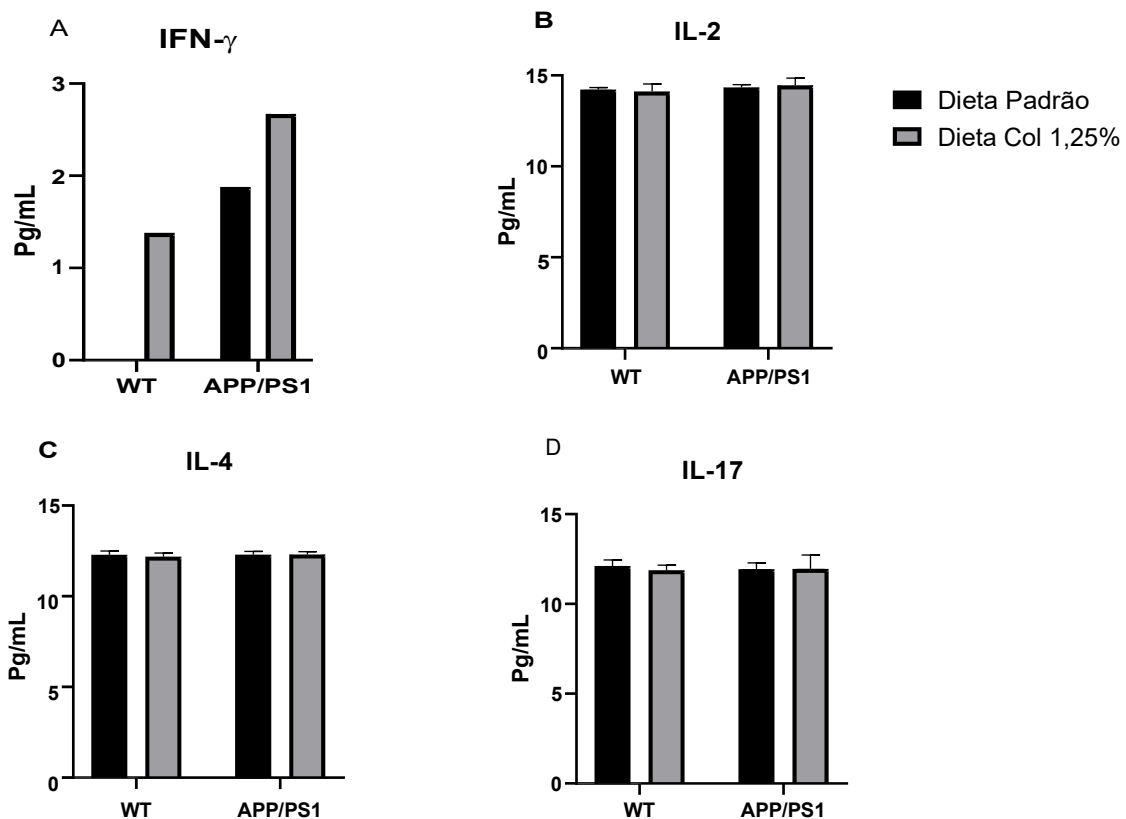


Figura 7: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no rim de camundongos. Comparação entre os grupos WT e APP/PS1, alimentados com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25% por 18 semanas. N=6 para cada grupo com animais machos e fêmeas. A: Concentração em Pg/mL de IFN- γ . B: Concentração em Pg/mL de IL-2. C: Concentração em Pg/mL de IL-4. D: Concentração em Pg/mL de IL-17. ANOVA two way, pós teste de Tukey. $p<0,05$.

4.6. Baço

As amostras de baço dos animais WT e transgênicos, com ou sem dieta acrescida de colesterol apresentaram concentrações detectáveis das citocinas. Não houve diferença estatística para IFN- γ ($p=0,5799$), resultado mantido na comparação de genótipo e dieta ($p=0,6850$; $p=0,6758$) respectivamente (Figura 8A). IL-2 não apresentou diferença significativa entre grupos ($p=0,6626$), sem diferença entre

genótipo ($p=0,4253$) e dieta ($p=0,5007$) (Figura 8B). Para IL-4 não foi observada diferença significativa com $p=0,3768$, obteve-se genótipo com $p=0,8692$ e dieta $p=0,1390$ (Figura 8C). Nenhuma diferença foi encontrada na análise de IL-17 entre grupos ($p=0,2883$), observamos $p=0,0817$ para genótipo e $p=0,1014$ para dieta (Figura 8D). A concentração de TNF- α mostrou-se diferente estatisticamente na interação entre grupos com $p=0,0315$, onde os animais WT que receberam dieta acrescida de 1,25% de colesterol obtiveram níveis maiores da citocina em relação aos camundongos APP/PS1 (Figura 8E).

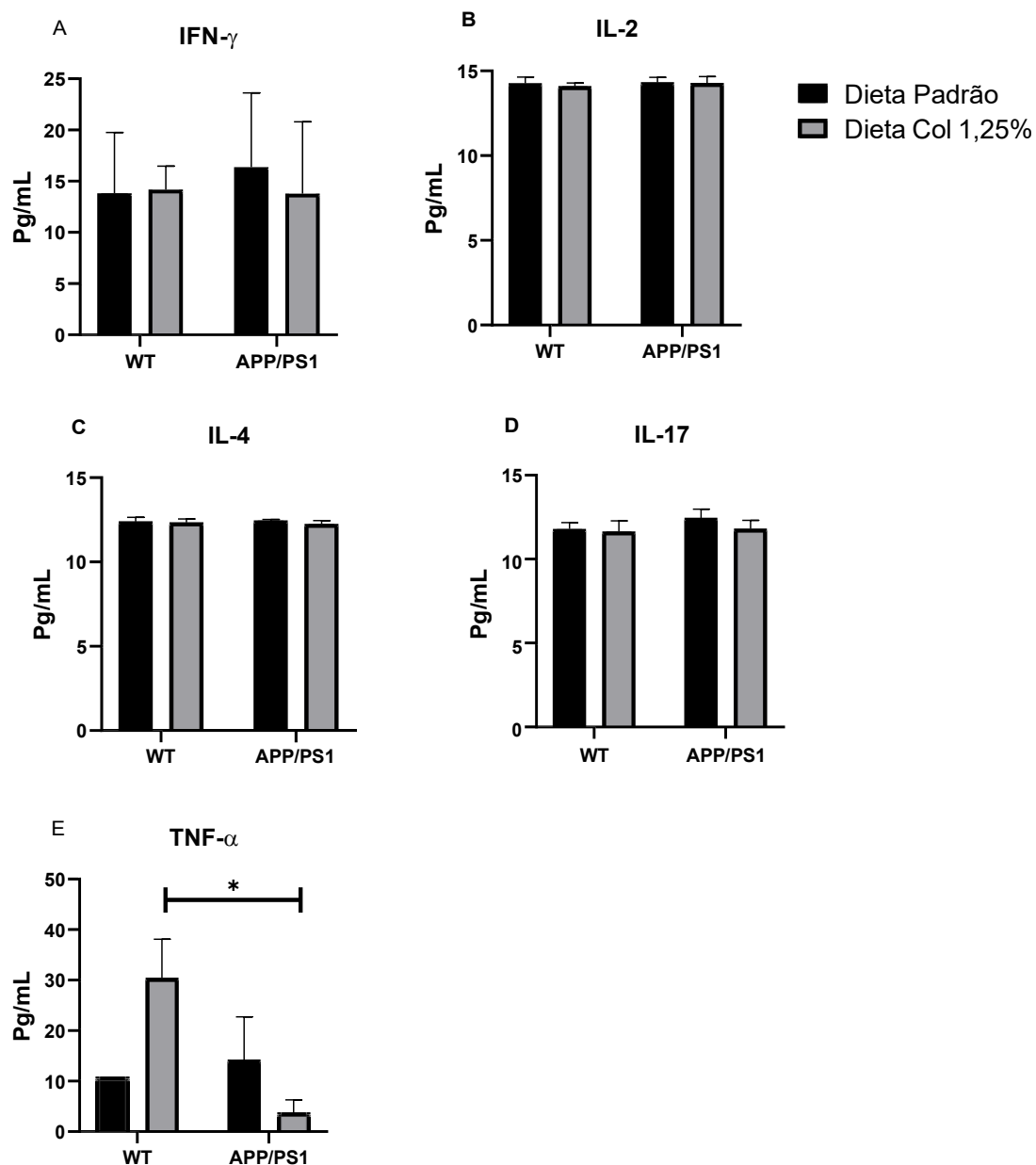


Figura 8: Efeito do colesterol na dosagem de citocinas no baço de camundongos. Comparação entre os grupos WT e APP/PS1, alimentados com dieta padrão versus dieta acrescida de colesterol 1,25% por 18 semanas. N=6 para cada grupo com animais machos e fêmeas. A: Concentração em Pg/mL de

INF- γ . B: Concentração em Pg/mL de IL-2. C: Concentração em Pg/mL de IL-4. D: Concentração em Pg/mL de IL-17. E: Concentração em Pg/mL de TNF- α . ANOVA *two way*, pós teste de Tukey. $p < 0,05$.

5. DISCUSSÃO

O processo inflamatório ocorre claramente em regiões preferenciais no cérebro com DA, com características semelhantes da resposta inflamatória periférica (CANDORE *et al.*, 2010). Na periferia, a presença de degeneração tecidual e deposição de materiais altamente insolúveis são estimulantes clássicos da inflamação. No caso da DA há ocorrência de dano neuronal, neurite, deposição do peptídeo A β altamente insolúvel e emaranhados neurofibrilares, fornecendo estímulos associados a astrócitos reativos e células microgliais ativadas, que super expressam citocinas e proteínas de fase aguda (CANDORE *et al.*, 2010). Segundo ZHANG *et al.*, (2013), a neuroinflamação também é um agente causal no desenvolvimento da DA, e a alteração do sistema imunológico ocorre mais cedo, antes do início dos sintomas. Neste estudo, apresentamos o perfil inflamatório em diferentes estruturas anatômicas do SNC e em alguns órgãos periféricos, em um modelo experimental de DA com dieta rica em colesterol.

A hiperplasia das células gliais é observada no início do desenvolvimento da DA e é considerada um importante marco patológico (HENEKA *et al.*, 2005). A micróglia foi sugerida como participante chave na DA e o declínio cognitivo pode ser induzido, pelo menos em parte, pelo aumento da micróglia, como demonstrado pela superexpressão de seu biomarcador específico IBA-1 (MERIGHI *et al.*, 2022). Esta célula desempenha um papel crucial na manutenção da homeostase cerebral, mesmo quando em estado dormente (M0) (WENDIMU e HOOKS, 2022). Descobertas recentes alteraram nossa compreensão da micróglia, mostrando que elas constantemente monitoram o cérebro, nunca em repouso. Elas ativam em resposta a estímulos prejudiciais, assumindo fenótipos distintos, principalmente M1 (pró-inflamatório) e M2 (anti-inflamatório) (PAWELEC *et al.*, 2020). A ativação de M1 é desencadeada por fatores como LPS e IFN- γ , resultando em uma resposta inflamatória com a produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A ativação prolongada de M1 está associada a neurotoxicidade e inflamação crônica (CHAUHAN *et al.*, 2021; CHHOR *et al.*, 2013; FRANCO e FERNÁNDEZ-SUÁREZ, 2015; NAKAGAWA e CHIBA, 2015). Por outro lado, M2 está ligado à resolução da inflamação e reparo tecidual, ativado por citocinas anti-inflamatórias como IL-4, IL-10 e TGF- β (GADANI *et al.*, 2012; JURGA *et al.*, 2020;

SONG e SUK, 2017; SUBRAMANIAM e FEDEROFF, 2017; TANG e LE, 2016). A micróglia pode alternar dinamicamente entre os estados M1 e M2, e há uma gama de fenótipos intermediários. O papel da micróglia depende do estímulo, do tempo e das moléculas de sinalização envolvidas (SONG e SUK, 2017).

Uma metanálise mostrou que os níveis plasmáticos de fatores inflamatórios (TNF- α , IL-1 β , IL-6) eram mais elevados em indivíduos com DA do que em controles saudáveis (SWARDFAGER *et al.*, 2010). Não apenas várias citocinas inflamatórias, mas também anti-inflamatórias, como IL-10 e IL-13, têm a expressão gênica regulada positivamente no cérebro de pacientes com DA (MORIMOTO *et al.*, 2011). Segundo WILBERDING *et al.*, (2008) o antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra), a enzima conversora de IL-1 β (ICE), IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , o fator estimulante de colônias de macrófagos (M-CSF) e TGF- β 1, possuem níveis aumentados em estágios anteriores ao início da doença. No estudo de SZCZEPANIK e RINGHEIM (2003) foi demonstrado que a injeção intracerebroventricular de A β ₁₋₄₂ em camundongos pode induzir uma produção tempo-dose dependente de IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e MCP-1 no hipocampo e córtex destes animais. Os níveis foram máximos após 9h, com MCP-1 e IL-1 α permanecendo elevados durante um período de 48 horas. Em contraste, pouca produção de TNF- α foi observada sob condições de estímulo agudo de A β . Em outro experimento, (SZCZEPANIK *et al.*, (2001), mostraram que a indução com fragmentos não amiloidogênicos A β _{17-40/42} também pode estimular a produção em micróglia e macrófagos de citocinas pró-inflamatórias, mas a resposta de astrócitos é menos robusta do que diz respeito à IL-6 e MCP-1.

No presente trabalho, o córtex (Figura 3A-C), estriado (Figura 4A-C), córtex pré-frontal (Figura 5A-C) e hipocampo (Figura 6A-C) foram analisados e observou-se que não houve diferença estatística entre animais com dieta padrão *versus* dieta acrescida de colesterol (1,25%), independente do genótipo. Este resultado demonstra que o colesterol administrado por dezoito semanas não promoveu diferença nos níveis das citocinas quantificadas, apresentando um desfecho diferente do esperado, mas não há um consenso sobre o efeito do colesterol na DA.

Estudos de acompanhamento com pacientes demonstraram que níveis elevados de colesterol sérico estão associados a um risco aumentado de desenvolvimento de DA na idade avançada (SOLOMON *et al.*, 2009; WHITMER *et al.*, 2005). Em contraste, MIELKE *et al.*, (2005) examinaram os níveis séricos totais de

colesterol em pacientes com diagnóstico de DA em idade avançada e encontraram uma associação entre níveis elevados de colesterol na idade avançada com risco reduzido de demência. Em modelo *in vitro*, a adição de colesterol exógeno a cultura primária de astrócitos de ratos pode desencadear a ativação, pelo aumento da expressão, da proteína ácida fibrilar glial (GFAP) e levar a efeitos sinaptogênicos (AVILA-MUÑOZ e ARIAS, 2015; STAURENGHI *et al.*, 2021). BARBERO-CAMPS *et al.*, (2013) observaram que os níveis de neuroinflamação eram mais elevados em camundongos APP/PS1/SREBP-2 do que em camundongos APP/PS1, o que demonstra diferenças entre modelos experimentais.

Em nosso laboratório utilizamos o modelo animal com camundongos duplo-transgênicos para DA (APP/PS1) com 10 meses de idade, sendo possível observar a redução da cognição por meio de testes comportamentais realizados previamente (KOERICH, 2022). Os camundongos transgênicos que co-expressam os transgenes mutantes de APP e PSEN1 são empregados como modelos para replicar os déficits de memória e a neuropatologia vinculada à doença de Alzheimer. A deposição de amiloide associada à idade é observável no hipocampo e no neocórtex desses camundongos duplamente transgênicos APP/PSEN1 aos 6-7 meses de idade, um período mais precoce do que em camundongos transgênicos que expressam apenas o transgene mutante de APP (REISERER *et al.*, 2007). De modo interessante, nosso grupo demonstrou que os animais que receberam colesterol apresentaram uma melhora cognitiva, mas não tiveram efeito sobre a atividade locomotora. Além disso, o colesterol na dieta foi capaz de reduzir o acúmulo de placas observadas no hipocampo de animais APP/PS1 (KOERICH, 2022). Estes dados contrastam com estudos na literatura onde existe relatos de aumento da gravidade patológica induzida por A β . Tal qual o modelo transgênico, uma dieta rica em colesterol antes da injeção do peptídeo A β pode aumentar a imunorreatividade de A β e tau fosforilada, bem como déficits de aprendizagem e memória (PARK *et al.*, 2013). CHEN *et al.*, (2016) observaram que camundongos expostos a dieta rica em colesterol apresentam astrócitos levemente ativados, expressão aumentada de ApoE e aquaporina-4 no hipocampo, além de níveis alterados de proteínas associadas ao metabolismo de A β .

A relação entre colesterol e DA está bem estabelecida, mas os mecanismos precisos do impacto do colesterol na fisiopatologia da DA permanecem pouco entendidos (AKYOL *et al.*, 2021). O colesterol cerebral afeta diretamente o

processamento relacionado ao A β . A redução do colesterol nos neurônios do hipocampo tem sido associada a uma diminuição na oligomerização A β (SCHNEIDER *et al.*, 2006), enquanto níveis elevados de colesterol nos cérebros com DA promovem a atividade das γ - e β -secretases (XIONG *et al.*, 2008). No entanto, nosso modelo não promoveu hipercolesterolemia, já que não houve aumento do colesterol sérico (KOERICH, 2022). Poderíamos hipotetizar que a concentração de colesterol não teria sido suficiente para uma hipótese positiva, contudo, estudos utilizando uma dieta com 2% de colesterol (2%), por 2 a 4 meses, observaram uma melhora do aprendizado espacial no labirinto aquático de Morris em ratos Wistar (DUFOR *et al.*, 2006; MICALE *et al.*, 2008). DE OLIVEIRA *et al.*, (2020) submetendo camundongos C57BL/6 tipo selvagem a uma dieta hipercolesterolêmica (20% de gordura e 1,25% de colesterol) por trinta dias, não observaram comprometimento cognitivo, apenas quando utilizada em animais LDLr^{-/-} onde havia ruptura da BHE. Este estudo revelou um efeito significativo na expressão de IL-1 β no córtex pré-frontal e IL-6 no hipocampo e córtex pré-frontal daqueles que receberam dieta modificada, esta diferença foi vista em camundongos do tipo selvagens, mas não em *knock-out*. Vemos, portanto, neste trabalho, onde os níveis de citocinas no SNC não foram significativos, que a utilização de uma dieta rica em colesterol pode levar a um diferente desfecho, e que mais estudos são necessários para que se possa entender os mecanismos envolvidos.

A concentração de A β no cérebro é, aproximadamente, de 10-100 vezes maior do que no sangue, e há um gradiente de concentração entre eles (HASEGAWA *et al.*, 2022). Além da degradação feita no SNC, o peptídeo A β produzido no cérebro é transportado para o sangue periférico via barreira hematoencefálica, líquido cefalorraquidiano e vasos linfáticos (CHENG e WANG, 2020; DEANE *et al.*, 2009; SWEENEY e ZLOKOVIC, 2018; WANG *et al.*, 2017). Estudos sugerem que essa eliminação seja aproximadamente de 40-60% para a periferia (TIAN *et al.*, 2021).

O rim é um órgão importante que excreta metabólitos e mantém a homeostase, mas pouco se conhece sobre como poderia contribuir para a patogênese da DA. Semelhante a DA, múltiplos fatores de risco estão associados a doença renal crônica (DRC). Um dos mecanismos propostos envolve o acúmulo de toxinas urêmicas, que são resultados da diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) e baixa perfusão renal. Entre os compostos urêmicos, o ácido úrico, o PTH (hormônio da paratireoide) e o indoxil sulfato (IS) têm a maior probabilidade de causar o declínio cognitivo de

pacientes com DRC (ZHANG *et al.*, 2020). Além disso, a hipertensão arterial observada na DRC leva à hipoperfusão, hipóxia e isquemia – iniciando lesões vasculares via inflamação, disfunção endotelial, rigidez vascular e calcificações, que podem estar ligadas ao processo patológico da DA (OH *et al.*, 2016).

A função renal diminui com o envelhecimento (O'SULLIVAN *et al.*, 2017). E como o envelhecimento é consistentemente um dos fatores patogênicos mais importantes da DA, a disfunção da depuração de A β pelo rim pode desempenhar um papel crítico na progressão da DA (STANCIU *et al.*, 2020). O estudo de TIAN *et al.*, (2021) observou o acúmulo de A β nos túbulos renais de humanos e em camundongos com DA, A β_{42} mas não A β_{40} foi detectado em urina humana. Indivíduos com nefrectomia unilateral (doadores para transplante renal) apresentam níveis plasmáticos de A β mais elevados do que controles cognitivamente normais (GRONEWOLD *et al.*, 2016).

Sabe-se que a DRC está associada ao comprometimento do desempenho cognitivo (VAN SANDWIJK *et al.*, 2016). Comparado a pessoas sem DRC, o risco de danos é maior (ETGEN *et al.*, 2012). VINOTHKUMAR *et al.*, (2017) observaram que a expressão anormal de A β_{42} e o aumento do estresse oxidativo são encontrados em pacientes com DRC e disfunção cognitiva. No estudo de LIU *et al.*, (2015), os níveis séricos de A β_{40} e A β_{42} foram significativamente maiores em pacientes com DRC. Os pacientes com DRC não dialíticos apresentavam níveis de A β_{40} significativamente mais altos, aqueles com DRC em diálise possuíam níveis mais baixos do que os de pacientes sem diálise e eram comparáveis aos controles. XU *et al.*, (2023) com uma população de pacientes renais crônicos observou que comparado com nenhuma iniciação, o início da terapia de inibidores de AChE dentro de 90 dias, a partir do diagnóstico de DA, foi associado a um risco 18% menor de progressão da DRC. E avaliando outros biomarcadores, os resultados de STOCKER *et al.*, (2023) indicam que a função renal prejudicada, avaliada pela taxa de filtração glomerular, foi significativamente associada a níveis mais elevados tanto de neurofilamentos leves (NfL), quanto de P-tau no sangue, mas não com risco de demência por todas as causas, DA ou demência vascular em uma coorte comunitária acompanhada prospectivamente por 17 anos.

Os potenciais mecanismos na comunicação entre rim e cérebro em relação a moléculas inflamatórias baseia-se no fato de que citocinas, como IL-1 β , IL-6, TNF- α e

o fator transformador de crescimento β (TGF- β) frequentemente estão envolvidas na patogênese da DRC, que poderia influenciar órgãos remotos, como o cérebro, reforçando a ideia de um *crosstalk* inflamatório rim-cérebro (AMDUR *et al.*, 2016; MIRANDA *et al.*, 2017).

Neste trabalho observamos que as citocinas IL-2, IL-4, e IL-17 apesar de presentes nas amostras de rins, não possuem níveis diferentes quando ofertada uma dieta acrescida de colesterol (Figura 7B-D). Em um estudo de LEE e HO (1978), foi relatada a deposição de lipídios nos rins de coelhos alimentados com dieta rica em colesterol. Recentemente em um outro estudo, de coorte prospectivo, indivíduos com hipercolesterolemia familiar apresentavam riscos aumentados de DRC (EMANUELSSON *et al.*, 2018), sugerindo que o excesso de colesterol possivelmente desempenha um papel na patogênese da DRC. Estudos experimentais sugerem que os podócitos no glomérulo são o principal alvo do excesso de colesterol (DUCASA *et al.*, 2019; PEDIGO *et al.*, 2016). Os podócitos (células epiteliais altamente especializadas) são cruciais para manter a barreira de filtração glomerular, uma alteração mínima na função podocitária pode ter um papel importante na progressão da doença renal (TORBAN *et al.*, 2019).

O baço é um importante órgão imunológico do organismo que inclui anatomicamente a artéria esplênica, a veia esplênica e o nervo esplênico (NOBLE *et al.*, 2018). Atua principalmente como um filtro sanguíneo, removendo os eritrócitos, mantendo reserva de sangue, o metabolismo de ferro e ainda exercendo funções imunológicas. O baço é composto por uma variedade de células imunes, delas, 7% a 8% são monócitos/macrófagos, células importantes do sistema imune inato que funcionam como a primeira linha de defesa no hospedeiro através de várias funções efetoras (SWIRSKI *et al.*, 2009).

Em relação ao seu papel na resposta imune, o baço é um importante alvo para o estudo dos marcadores periféricos da DA, e foi demonstrado que há deposição de A β no baço (DI BENEDETTO *et al.*, 2019). A ativação de receptores adrenérgicos e colinérgicos, expressos em macrófagos esplênicos, regulam a secreção de citocinas pró-inflamatórias para a circulação periférica, que passam pela barreira hematoencefálica e aumentam a resposta imunológica (BRONTE e PITTET, 2013; VIDA *et al.*, 2011). A capacidade dos monócitos/macrófagos sanguíneos de eliminar A β foi confirmada (GU *et al.*, 2016). Além disso, sua capacidade de eliminar A β

circulante é significativamente reduzida em pacientes com DA e durante o curso do envelhecimento (CHEN *et al.*, 2020). O eixo cérebro-baço pode também estar envolvido na DA a partir de evidências de que células imunes periféricas podem se infiltrar no cérebro de camundongos APP/PS1, mas notavelmente acontece de forma precoce em camundongos WT envelhecidos (UNGER *et al.*, 2020).

A esplenectomia pode agravar o desenvolvimento da DA, refletido pelo agravamento dos déficits de memória, aumento da deposição de A β e exacerbação da neuroinflamação e hiperfosforilação de tau (YU *et al.*, 2022). É importante ressaltar que a sinalização ativada da tirosina quinase do baço (Syk) é essencial para lesões patológicas da DA na formação de A β e hiperfosforilação de tau (PARIS *et al.*, 2014; SCHWEIG *et al.*, 2017).

Neste trabalho, a concentração de TNF- α no baço mostrou-se diferente estatisticamente entre os grupos de camundongos WT e APP/PS1 que receberam dieta acrescida de colesterol (Figura 8E). De modo interessante, os animais selvagens obtiveram níveis maiores da citocina. PAKRAVAN *et al.*, (2021) analisaram o perfil Th1, Th2 e Th17 do baço em modelo experimental de DA, e observaram que os níveis eram semelhantes a outros tecidos, como nasal e cerebral, com níveis significativamente mais altos de IFN- γ e IL-17 e níveis mais baixos de IL-4 em comparação com animais normais. Nossa concentração no baço de INF- γ , IL-2, IL-4 e IL-17 não foi diferente entre animais WT e APP/PS1 independente da dieta recebida.

BAULCH e colaboradores (2020) utilizando um modelo experimental com camundongos 5xFAD para DA, observaram que as células esplênicas apresentavam secreção significativamente aumentada de IL-17 e IL-21 em relação aos controles. Segundos os autores, IL-21, uma citocina altamente inflamatória, estaria aumentando a diferenciação de IL-17 e produzindo células Th17. No modelo de camundongo triplo transgênico para DA (3xTg-AD) de YANG *et al.*, (2015) os animais exibiam esplenomegalia tanto aos 14 quanto aos 24 meses de idade, alteração da microarquitetura caracterizada pela perda da polpa branca e vermelha e alterações significativas na concentração de citocinas. Onde IL-12 p40 estava aumentada, IL-1 α , IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-12 p70, IL-17, TNF- α , IFN- γ , CCL2, CCL3, CCL5, CCL11 e GM-CSF diminuíram em camundongos transgênicos de 14 meses de idade comparado aos controles. Neste mesmo estudo, IL-2, IL-4 e IL-19 não tinham concentrações

detectáveis e IL-3 apresentou concentração diminuída em ambas as faixas etárias de 3xTg-AD.

Na DA, a internalização de A β ₄₂ parece ser facilitada pela ligação de alta afinidade de A β ₄₂ ao receptor nicotínico de acetilcolina α -7 (D'ANDREA e NAGELE, 2006). Consistente com isso, a estimulação do receptor nicotínico de acetilcolina (α -7) do baço pelo nervo vago, inibe a liberação de citocinas pró-inflamatórias (ROSAS-BALLINA e TRACEY, 2009), sugerindo um mecanismo comum no SNC e no baço para inflamação patológica e vulnerabilidade seletiva dos neurônios (FERTAN *et al.*, 2019).

Ainda sobre comunicação cérebro-baço, o reflexo inflamatório inclui uma projeção aferente do nervo vago que detecta e inflamação pró-inflamatória do baço e de outros órgãos periféricos, e uma outra projeção eferente que sinaliza comandos integrados anti-inflamatórios colinérgicos do cérebro, para regiões como o núcleo motor dorsal do tronco cerebral (DMN), núcleo do trato solitário (NTS) e regiões superiores do prosencéfalo. Por fim, os sinais anti-inflamatórios colinérgicos atuam no baço via nervo esplênico, controlando a ativação imune e inibindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias. (KRESSEL *et al.*, 2020; PAVLOV *et al.*, 2018; PAVLOV e TRACEY, 2012; ROSAS-BALLINA *et al.*, 2009). No baço, os terminais axonais catecolaminérgicos são uma propriedade importante na síntese de acetilcolina para células T secretoras de ChAT (ROSAS-BALLINA *et al.*, 2011). Esse sistema é considerado um reflexo de cooperação não canônica entre os nervos vago e esplênico (PAVLOV *et al.*, 2018). No cérebro, a expressão de acetilcolinesterase também controla os níveis de inflamação sistêmica, como o TNF- α , que depende da α -7 nAChR mediando o reflexo colinérgico anti-inflamatório (PAVLOV *et al.*, 2009). Paradoxalmente, as fibras nervosas do baço, originadas no gânglio celíaco, são adrenérgicas, não colinérgicas, e utilizam a noradrenalina como neurotransmissor primário (BELLINGER *et al.*, 1993). Assim, embora tenha sido demonstrado que o baço contém acetilcolina, a fonte celular desse neurotransmissor terminal no reflexo inflamatório é desconhecida. (DALE e DUDLEY, 1929; TODMAN, 2008).

O estudo de órgãos periféricos na DA é importante para o conhecimento e desenvolvimento diagnósticos por uma via periférica, e a influência de órgãos que não são primariamente o alvo em estudos de DA. Sabe-se que as alterações podem

acontecer em diversos sistemas, contudo, mais estudos são necessários para que se possa entender seus papéis na patologia.

6. CONCLUSÃO

Embora a relação exata entre colesterol e DA ainda esteja sendo pesquisada, é observado que o colesterol desempenha um papel multifacetado na trajetória da doença. Neste estudo demonstramos uma discrepância notável nas concentrações de TNF- α em amostras esplênicas, manifestada por uma abundância maior no grupo controle em comparação ao grupo APP/PS1 após a suplementação de colesterol. No entanto, não houve evidência de que a diferença no regime alimentar modifique o perfil inflamatório no córtex pré-frontal, córtex, hipocampo, estriado e rins. A redução notável nos níveis de TNF- α no baço dos animais com DA sugere que o colesterol pode ter um papel modulador nas respostas inflamatórias periféricas no contexto da DA. A interação entre o sistema nervoso e os órgãos periféricos é complexa. A compreensão dessa relação pode abrir novos caminhos para intervenções terapêuticas, incluindo abordagens que visem a saúde sistêmica e o entendimento do efeito do colesterol para mitigar a progressão da DA.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, N. J. *et al.* Structure and function of the blood–brain barrier. **Neurobiology of Disease**, v. 37, n. 1, p. 13-25, 2010.
- ADIBHATLA, R. M.; HATCHER, J. F. Altered lipid metabolism in brain injury and disorders. **Subcell Biochem**, v. 49, p. 241-268, 2008.
- AKYOL, S. *et al.* Lipid Profiling of Alzheimer's Disease Brain Highlights Enrichment in Glycerol(phospho)lipid, and Sphingolipid Metabolism. **Cells**, v. 10, n. 10, p. 2591, 2021.
- ALBI, E.; PELOSO, I.; MAGNI, M. V. Nuclear membrane sphingomyelin-cholesterol changes in rat liver after hepatectomy. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 262, n. 3, p. 692-695, 1999.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimers Dement**, v.16, n.3, p.391-460, 2020.
- AMDUR, R. L. *et al.* Inflammation and Progression of CKD: The CRIC Study. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 11, n. 9, p. 1546-1556, 2016.
- ANGELUCCI, F. *et al.* Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 108, 2019.
- ARNOLD, S. E. *et al.* The topographical and neuroanatomical distribution of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. **Cereb Cortex**, 1, n. 1, p. 103-116, Jan-Feb 1991.
- ATRI, A. Current and Future Treatments in Alzheimer's Disease. **Semin Neurol**, v. 39, n. 2, p. 227-240, 2019.
- AVILA-MUÑOZ, E.; ARIAS, C. Cholesterol-induced astrocyte activation is associated with increased amyloid precursor protein expression and processing. **Glia**, v. 63, n. 11, p. 2010-2022, 2015.
- BALLARD, C. *et al.* Alzheimer's disease. **Lancet**, v. 377, n. 9770, p. 1019-1031, 2011.
- BANKS, W. A. Drug delivery to the brain in Alzheimer's disease: Consideration of the blood–brain barrier. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 7, p. 629-639, 2012.
- BARAGE, S. H.; SONAWANE, K. D. Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. **Neuropeptides**, v. 52, p. 1-18, 2015.
- BARBERO-CAMPS, E. *et al.* APP/PS1 mice overexpressing SREBP-2 exhibit combined A β accumulation and tau pathology underlying Alzheimer's disease. **Human Molecular Genetics**, v. 22, n. 17, p. 3460-3476, 2013.
- BAULCH, J. E. *et al.* Immune and Inflammatory Determinants Underlying Alzheimer's Disease Pathology. **J Neuroimmune Pharmacol**, v. 15, n.4, p.852-862, Dec 2020.

- BELLINGER, D. L. *et al.* Acetylcholinesterase staining and choline acetyltransferase activity in the young adult rat spleen: lack of evidence for cholinergic innervation. **Brain Behav Immun**, v. 7, n. 3, p. 191-204, Sep 1993.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L.. The Complex Regulation of Cholesterol Biosynthesis Takes Place at Several Levels. **Biochemistry**, 5 ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2002.
- BERTRAM, L. *et al.* Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q. **Science**, v. 290, n. 5500, p. 2302-2303, 2000.
- BIRD, T. D. Genetic Factors in Alzheimer's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 9, p. 862-864, 2005.
- BOESPFLUG, E. L.; ILIFF, J. J. The Emerging Relationship Between Interstitial Fluid-Cerebrospinal Fluid Exchange, Amyloid- β , and Sleep. **Biol Psychiatry**, v. 83, n. 4, p. 328-336, 2018.
- BONDY, S. C. Metal toxicity and neuroinflammation. **Current Opinion in Toxicology**, v. 26, p. 8-13, 2021.
- BRANDT, R.; HUNDELT, M.; SHAHANI, N. Tau alteration and neuronal degeneration in tauopathies: mechanisms and models. **Biochim Biophys Acta**, v. 1739, n. 2-3, p. 331-354, 2005.
- BRANKATSCHK, M., EATON, S. *Lipoprotein particles cross the bloodbrain barrier in Drosophila*. **J Neurosci**, v.30, n.31, p.10441–7, 2010.
- BRIGGS, R.; KENNELLY, S. P.; O'NEILL, D. Drug treatments in Alzheimer's disease. **Clin Med (Lond)**, v. 16, n. 3, p. 247-253, 2016.
- BRONTE, V.; PITTET, M. J. The spleen in local and systemic regulation of immunity. **Immunity**, v. 39, n. 5, p. 806-818, Nov 14 2013.
- CANDORE, G. *et al.* Inflammation, cytokines, immune response, apolipoprotein E, cholesterol, and oxidative stress in Alzheimer disease: therapeutic implications. **Rejuvenation Res**, v. 13, n. 2-3, p. 301-313, Apr-Jun 2010.
- CAVALIERE, G. *et al.* High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 13, 2019.
- CIRRITO, J. *et al.* Synaptic Activity Regulates Interstitial Fluid Amyloid- β Levels In Vivo. **Neuron**, v. 48, n. 6, p. 913-922, 2005.
- CHAKRABORTY, A. *et al.* The blood brain barrier in Alzheimer's disease. **Vascular Pharmacology**, v. 89, p. 12-18, 2017.
- CHAUHAN, P. *et al.* Differential Cytokine-Induced Responses of Polarized Microglia. **Brain Sci**, v. 11, n. 11, 2021.
- CHEN, G.-F. *et al.* Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 38, n. 9, p. 1205-1235, 2017.
- CHEN, S.-H. *et al.* Amyloid-beta uptake by blood monocytes is reduced with ageing and Alzheimer's disease. **Translational Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 423, 2020.

- CHEN, Y. L. *et al.* Changes in astrocyte functional markers and β -amyloid metabolism-related proteins in the early stages of hypercholesterolemia. **Neuroscience**, v. 316, p. 178-191, 2016.
- CHENG, Y.; WANG, Y. J. Meningeal Lymphatic Vessels: A Drain of the Brain Involved in Neurodegeneration? **Neurosci Bull**, v. 36, n. 5, p. 557-560, 2020.
- CHESSER, A.; PRITCHARD, S.; JOHNSON, G. V. Tau Clearance Mechanisms and Their Possible Role in the Pathogenesis of Alzheimer Disease. **Frontiers in Neurology**, v. 4, 2013.
- CHÉTELAT, G. *et al.* Amyloid-PET and ^{18}F -FDG-PET in the diagnostic investigation of Alzheimer's disease and other dementias. **The Lancet Neurology**, v.19, n. 11, p. 951-962, 2020.
- CHHOR, V.; LE CHARPENTIER, T.; LEBON, S.; ORÉ, M. V. *et al.* Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia in vitro. **Brain Behav Immun**, v. 32, p. 70-85, 2013.
- COLIN, J. *et al.* Maintenance of membrane organization in the aging mouse brain as the determining factor for preventing receptor dysfunction and for improving response to anti-Alzheimer treatments. **Neurobiology of Aging**, v. 54, p. 84-93, 2017.
- DALE, H. H.; DUDLEY, H. W. The presence of histamine and acetylcholine in the spleen of the ox and the horse. **J Physiol**, v. 68, n. 2, p. 97-123, 1929.
- D'ANDREA, M. R.; NAGELE, R. G. Targeting the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor to reduce amyloid accumulation in Alzheimer's disease pyramidal neurons. **Curr Pharm Des**, v. 12, n. 6, p. 677-684, 2006.
- DAVIES, P.; MALONEY, A. J. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. **Lancet**, v. 2, p. 1403, 1976.
- DEANE, R.; BELL, R. D.; SAGARE, A.; ZLOKOVIC, B. V. Clearance of amyloid-beta peptide across the blood-brain barrier: implication for therapies in Alzheimer's disease. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, v. 8, n. 1, p. 16-30, 2009.
- DEANE, R. *et al.* ApoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. **J Clin Invest**, v. 118, n. 12, p. 4002-4013, 2008.
- DE CALIGNON, A. *et al.* Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease. **Neuron**, v. 73, n. 4, p. 685-697, 2012.
- DE OLIVEIRA, J. *et al.* High Cholesterol Diet Exacerbates Blood-Brain Barrier Disruption in LDLr $^{-/-}$ Mice: Impact on Cognitive Function. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 78, p. 97-115, 2020.
- DE STROOPER, B., KARRAN, E. The cellular phase of Alzheimer's disease. **Cell**, v.164, p.603–15, 2016.
- DESCHAINTE, Y. *et al.* Treatment of vascular risk factors is associated with slower decline in Alzheimer's disease. **Neurology**, v.73, n.9, p.674–80, 2009.
- DI BENEDETTO, G. *et al.* Beneficial effects of curtailing immune susceptibility in an Alzheimer's disease model. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 166, 2019.

DIETSCHY, J. M.; TURLEY, S. D. Cholesterol metabolism in the brain. **Curr Opin Lipidol**, v. 12, n. 2, p. 105-112, 2001.

DINIZ, B. S. O.; PINTO JR, J. A.; FORLENZA, O. V. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and β -amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 9, n. 3, p. 172-182, 2008.

DUCASA, G. M. *et al.* ATP-binding cassette A1 deficiency causes cardiolipin-driven mitochondrial dysfunction in podocytes. **J Clin Invest**, v. 129, n. 8, p. 3387-3400, 2019.

DUFOUR, F. *et al.* Cholesterol-enriched diet affects spatial learning and synaptic function in hippocampal synapses. **Brain Res**, v. 1103, n. 1, p. 88-98, Aug 4 2006.

EMANUELSSON, F.; NORDESTGAARD, B. G.; BENN, M. Familial Hypercholesterolemia and Risk of Peripheral Arterial Disease and Chronic Kidney Disease. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 103, p. 4491–4500, 2018.

ETGEN, T.; CHONCHOL, M.; FÖRSTL, H.; SANDER, D. Chronic kidney disease and cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. **Am J Nephrol**, v. 35, n. 5, p. 474-482, 2012.

EVANS, R. M. *et al.* Serum cholesterol, APOE genotype, and the risk of Alzheimer's disease: A population-based study of African Americans. **Neurology**, v. 54, p. 240 - 240, 2000.

FAROOQUI, A. A. Neural Membranes: A Pandora's Box of Lipid Mediators. **Hot Topics in Neural Membrane Lipidology**. New York: Springer US, p. 1-36, 2009.

FERREIRA-VIEIRA, T. H. *et al.* Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. **Curr Neuropharmacol**, v. 14, n. 1, p. 101-115, 2016.

FERTAN, E. *et al.* Cognitive Decline, Cerebral-Spleen Tryptophan Metabolism, Oxidative Stress, Cytokine Production, and Regulation of the Txnip Gene in a Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. **Am J Pathol**, v. 189, n. 7, p. 1435-1450, 2019.

FORLENZA, O. V. *et al.* Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. **Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring**, v. 1, n. 4, p. 455-463, 2015.

FRANCO, R.; FERNÁNDEZ-SUÁREZ, D. Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system. **Prog Neurobiol**, v. 131, p. 65-86, 2015.

FRISONI, G. B. *et al.* The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v.6, n. 2, p. 67-77, 2010.

FULLER, S.; STEELE, M.; MÜNCH, G. Activated astroglia during chronic inflammation in Alzheimer's disease—Do they neglect their neurosupportive roles? **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 690, n. 1, p. 40-49, 2010.

GAMBA, P. *et al.* A Crosstalk Between Brain Cholesterol Oxidation and Glucose Metabolism in Alzheimer's Disease. **Front Neurosci**, v.31, n.13, p.556, 2019.

GHRIBI, O. *et al.* High cholesterol content in neurons increases BACE, beta-amyloid, and phosphorylated tau levels in rabbit hippocampus. **Exp Neurol**, v. 200, n. 2, p. 460-467, 2006.

GRIMM, M. O. W.; HARTMANN, T. Recent Understanding of the Molecular Mechanisms of Alzheimer's Disease. **Journal of Addiction Research and Therapy**, v. 2013, p. 1-15, 2011.

GRONEWOLD, J.; KLAFKI, H. W.; BALDELLI, E.; KALTWASSER, B. *et al.* Factors Responsible for Plasma β -Amyloid Accumulation in Chronic Kidney Disease. **Mol Neurobiol**, v. 53, n. 5, p. 3136-3145, 2016.

GU, B. J.; HUANG, X.; OU, A.; REMBACH, A. *et al.* Innate phagocytosis by peripheral blood monocytes is altered in Alzheimer's disease. **Acta Neuropathologica**, v. 132, n. 3, p. 377-389, 2016.

GUO, L.; TIAN, J.; DU, H. Mitochondrial Dysfunction and Synaptic Transmission Failure in Alzheimer's Disease. **J Alzheimers Dis**, v. 57, n. 4, p. 1071-1086, 2017.

HAASS, C.; WILLEM, M. Secreted APP Modulates Synaptic Activity: A Novel Target for Therapeutic Intervention? **Neuron**, v. 101, n. 4, p. 557-559, 2019.

HAMPEL, H. *et al.* The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain**, v. 141, n. 7, p. 1917-1933, 2018.

HANSSON, O. *et al.* Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 3, p. 228-234, 2006.

HARISCHANDRA, D. S. *et al.* Manganese-Induced Neurotoxicity: New Insights Into the Triad of Protein Misfolding, Mitochondrial Impairment, and Neuroinflammation. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, 2019.

HASEGAWA, M. *et al.* First-in-human study of blood amyloid β removal from early Alzheimer's disease patients with normal kidney function. **Therapeutic Apheresis and Dialysis**, v. 26, n. 3, p. 529-536, 2022.

HEINO, S. *et al.* Dissecting the role of the golgi complex and lipid rafts in biosynthetic transport of cholesterol to the cell surface. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 15, p. 8375-8380, 2000.

HENEKA, M. T. *et al.* Focal glial activation coincides with increased BACE1 activation and precedes amyloid plaque deposition in APP[V717I] transgenic mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 2, n. 1, p. 22, 2005.

HOLTZMAN, D. M.; MORRIS, J. C.; GOATE, A. M. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. **Sci Transl Med**, v. 3, n. 77, p. 77sr71, 2011.

HOOZEMANS, J. J. M. *et al.* Neuroinflammation in Alzheimer's disease wanes with age. **Journal of Neuroinflammation**, v. 8, n. 1, p. 171, 2011.

HUANG, L. K.; CHAO, S. P.; HU, C. J. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease. **J Biomed Sci**, v. 27, n. 1, p. 18, 2020.

- HUAT, T. J. *et al.* Metal Toxicity Links to Alzheimer's Disease and Neuroinflammation. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 9, p. 1843-1868, 2019.
- JARVIK, G. P. *et al.* Interactions of apolipoprotein E genotype, total cholesterol level, age, and sex in prediction of Alzheimer's disease. **Neurology**, v. 45, n. 6, p. 1092-1096, 1995.
- JAYA PRASANTHI, R. P. *et al.* Regulation of β -amyloid levels in the brain of cholesterol-fed rabbit, a model system for sporadic Alzheimer's disease. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 129, n. 11, p. 649-655, 2008.
- JOHNSON, K. A. *et al.* Brain imaging in Alzheimer disease. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v.2, n. 4, p. a006213, 2012.
- JUNGSU, K. *et al.* A β 40 Inhibits Amyloid Deposition *In Vivo*. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 3, p. 627, 2007.
- JUSTICE, N. J. The relationship between stress and Alzheimer's disease. **Neurobiology of Stress**, v. 8, p. 127-133, 2018.
- JURGA, A. M.; PALECZNA, M.; KUTER, K. Z. Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. **Front Cell Neurosci**, v. 14, p. 198, 2020.
- KANDIAH, N.; FELDMAN, H. H. Therapeutic potential of statins in Alzheimer's disease. **J Neurol Sci**, v. 283, n. 1-2, p. 230-234, 2009.
- KANG, J. E. *et al.* Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. **Science**, v. 326, n. 5955, p. 1005-1007, 2009.
- KAPLAN, M. R.; SIMONI, R. D. Transport of cholesterol from the endoplasmic reticulum to the plasma membrane. **J Cell Biol**, v. 101, n. 2, p. 446-453, 1985.
- KARCH, C. M.; GOATE, A. M. Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. **Biological Psychiatry**, v. 77, n. 1, p. 43-51, 2015.
- KHAN, S.; BARVE, K. H.; KUMAR, M. S. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. **Curr Neuropharmacol**, v. 18, n. 11, p. 1106-1125, 2020.
- KLOSKE, C. M.; WILCOCK, D. M. The Important Interface Between Apolipoprotein E and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2020.
- KOERICH, S. **Avaliação dos efeitos de dieta acrescida de colesterol em modelos experimentais da Doença de Alzheimer**. 2022. 94 f. - Doutorado em Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2022.
- KNOPMAN, D. S. *et al.* Alzheimer disease. **Nature reviews. Disease primers**, v. 7, n. 1, p. 33-33, 2021.
- KRESSEL, A. M.; TSAAVA, T.; LEVINE, Y. A.; CHANG, E. H. *et al.* Identification of a brainstem locus that inhibits tumor necrosis factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 47, p. 29803-29810, 2020.

KUNS, B.; ROSANI, A.; VARGHESE, D. Memantine. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 17 de Jul. de 2023. Disponível em: <
www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500025/>. Acesso em: 12 de Dez. de 2023.

LEANZA, G.; GULINO, R.; ZOREC, R. Noradrenergic Hypothesis Linking Neurodegeneration-Based Cognitive Decline and Astroglia. **Front Mol Neurosci**, v. 11, p. 254, 2018.

LEE, S.-S.; HO, K.-J. Cholesterol fatty kidney: Morphological changes in the course of its development in rabbits. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 29, n. 3, p. 412-425, 1978.

LENG, F.; EDISON, P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? **Nat Rev Neurol**, v. 17, n. 3, p. 157-172, 2021.

LI, Y.; TAN, M.-S.; JIANG, T.; TAN, L. Microglia in Alzheimer's Disease. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 437483, 2014.

LIU, Y. H.; XIANG, Y.; WANG, Y. R.; JIAO, S. S. *et al.* Association Between Serum Amyloid-Beta and Renal Functions: Implications for Roles of Kidney in Amyloid-Beta Clearance. **Mol Neurobiol**, v. 52, n. 1, p. 115-119, 2015.

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

LORENA, F. B. *et al.* Long-term obesity is associated with depression and neuroinflammation. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 65, n. 5, p. 537-548, 2021.

LU, F.; LI, X.; SUO, A. Q.; ZHANG, J. W. Inhibition of tau hyperphosphorylation and beta amyloid production in rat brain by oral administration of atorvastatin. **Chin Med J (Engl)**, v. 123, n. 14, p. 1864-1870, 2010.

LUO, J.; YANG, H.; SONG, B.-L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 21, n. 4, p. 225-245, 2020/04/01 2020.

MA, M. T. *et al.* Effects of cholesterol oxidation products on exocytosis. **Neurosci Lett**, v.476, n.1, p.36-41, 2010.

MANTOVANI, A. *et al.* Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. **Trends in Immunology**, v. 23, n. 11, p. 549-555, 2002.

MARTÍN, M. G.; PFRIEGER, F.; DOTTI, C. G. Cholesterol in brain disease: sometimes determinant and frequently implicated. **EMBO reports**, v. 15, n. 10, p. 1036-1052, 2014.

MAXFIELD, F. R.; TABAS, I. Role of cholesterol and lipid organization in disease. **Nature**, v. 438, n. 7068, p. 612-621, 2005.

MAWUENYEGA, K. G. *et al.* Decreased Clearance of CNS β -Amyloid in Alzheimer's Disease. **Science**, v. 330, n. 6012, p. 1774-1774, 2010.

MCGRATTAN, A. M. *et al.* Diet and Inflammation in Cognitive Ageing and Alzheimer's Disease. **Current Nutrition Reports**, v. 8, n. 2, p. 53-65, 2019.

- MCGUINNESS, B.; CRAIG, D.; BULLOCK, R.; PASSMORE, P. Statins for the prevention of dementia. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 2016, n. 1, p. Cd003160, 2016.
- MERIGHI, S.; NIGRO, M.; TRAVAGLI, A.; GESSI, S. Microglia and Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, v. 23, n. 21, 2022.
- MICALE, V.; SCAPAGNINI, G.; COLOMBRITA, C.; MAZZOLA, C. *et al.* Behavioral effects of dietary cholesterol in rats tested in experimental models of mild stress and cognition tasks. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 18, n. 6, p. 462-471, 2008.
- MIELKE, M. M. *et al.* High total cholesterol levels in late life associated with a reduced risk of dementia. **Neurology**, v. 64, n. 10, p. 1689-1695, 2005.
- MINERS, J. S.; BARUA, N.; KEHOE, P. G.; GILL, S. *et al.* A β -Degrading Enzymes: Potential for Treatment of Alzheimer Disease. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 70, n. 11, p. 944-959, 2011.
- MIRANDA, ALINE S. *et al.* Kidney–brain axis inflammatory cross-talk: from bench to bedside. **Clinical Science**, v. 131, n. 11, p. 1093-1105, 2017.
- MONTINE, T. J.. *et al.* National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach. **Acta Neuropathol**, v. 123, n. 1, p. 1-11, 2012.
- MOREIRA, E. L. G. *et al.* Hypercholesterolemia induces short-term spatial memory impairments in mice: up-regulation of acetylcholinesterase activity as an early and causal event? **Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)**, v. 121, n. 4, p. 415-426, 2014.
- MORIMOTO, K.; HORIO, J.; SATOH, H.; SUE, L. *et al.* Expression profiles of cytokines in the brains of Alzheimer's disease (AD) patients compared to the brains of non-demented patients with and without increasing AD pathology. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 25, n. 1, p. 59-76, 2011 2011.
- MOSCONI, L. *et al.* Hypometabolism exceeds atrophy in presymptomatic early-onset familial Alzheimer's disease. **J Nucl Med**, v. 47, n. 11, p. 1778-1786, 2006.
- MOSER, V. A.; PIKE, C. J. Obesity and sex interact in the regulation of Alzheimer's disease. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 67, p. 102-118, 2016.
- NAKAGAWA, Y.; CHIBA, K. Diversity and plasticity of microglial cells in psychiatric and neurological disorders. **Pharmacol Ther**, v. 154, p. 21-35, 2015.
- NASERI, N. *et al.* The complexity of tau in Alzheimer's disease. **Neurosci Lett**, v. 705, p. 183-194, 2019.
- NEVE, R. L. *et al.* Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. **Brain Res**, v. 387, n. 3, p. 271-280, 1986.
- NIMMERJAHN, A.; KIRCHHOFF, F.; HELMCHEN, F. Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo. **Science**, v. 308, n. 5726, p. 1314-1318, 2005.

NOBLE, B. T.; BRENNAN, F. H.; POPOVICH, P. G. The spleen as a neuroimmune interface after spinal cord injury. **Journal of Neuroimmunology**, v. 321, p. 1-11, 2018.

NOBLE, E. E.; HSU, T. M.; KANOSKI, S. E. Gut to Brain Dysbiosis: Mechanisms Linking Western Diet Consumption, the Microbiome, and Cognitive Impairment. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 11, 2017.

NOTKOLA, I. L.. *et al.* Serum total cholesterol, apolipoprotein E epsilon 4 allele, and Alzheimer's disease. **Neuroepidemiology**, v. 17, n. 1, p. 14-20, 1998.

NUSSBAUM, R. L.; ELLIS, C. E. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **N Engl J Med**, v. 348, n. 14, p. 1356-1364, 2003.

NUZZO, D. *et al.* Insulin Resistance as Common Molecular Denominator Linking Obesity to Alzheimer's Disease. **Current Alzheimer Research**, v. 12, n. 8, p. 723-735, 2015.

OH, Y. S. *et al.* Arterial stiffness and impaired renal function in patients with Alzheimer's disease. **Neurol Sci**, v. 37, n. 3, p. 451-457, 2016.

O'SULLIVAN, E. D.; HUGHES, J.; FERENBACH, D. A. Renal Aging: Causes and Consequences. **J Am Soc Nephrol**, v. 28, n. 2, p. 407-420, 2017.

PÁKÁSKI, M.; KÁLMÁN, J. Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. **Neurochem Int**, v. 53, n. 5, p. 103-111, 2008.

PAKRAVAN, N. *et al.* Harmony of T cell profile in brain, nasal, spleen, and cervical lymph nodes tissues in Alzheimer's: A systemic disease with local manifestations. **Int Immunopharmacol**, v. 91, p. 107306, Feb 2021.

PARIS, D. *et al.* The Spleen Tyrosine Kinase (Syk) Regulates Alzheimer Amyloid- β Production and Tau Hyperphosphorylation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 49, p. 33927-33944, 2014.

PARK, S. H. *et al.* Hypercholesterolemia accelerates amyloid β -induced cognitive deficits. **Int J Mol Med**, v. 31, n. 3, p. 577-582, 2013.

PASCHALIDIS, M. *et al.* Trends in mortality from Alzheimer's disease in Brazil, 2000-2019. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.32, n.2, 2023.

PAVLOV, V. A.; CHAVAN, S. S.; TRACEY, K. J. Molecular and Functional Neuroscience in Immunity. **Annual Review of Immunology**, v. 36, n. 1, p. 783-812, 2018.

PAVLOV, V. A. *et al.* Brain acetylcholinesterase activity controls systemic cytokine levels through the cholinergic anti-inflammatory pathway. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 23, n. 1, p. 41-45, 2009.

PAVLOV, V. A.; TRACEY, K. J. The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 12, p. 743-754, 2012.

PAWELEC, P.; ZIEMKA-NALECZ, M.; SYPECKA, J.; ZALEWSKA, T. The Impact of the CX3CL1/CX3CR1 Axis in Neurological Disorders. **Cells**, v. 9, n. 10, 2020.

- PEDIGO, C. E.. *et al.* Local TNF causes NFATc1-dependent cholesterol-mediated podocyte injury. **J Clin Invest**, v. 126, n. 9, p. 3336-3350, 2016.
- PFRIEGER, F. W.; UNGERER, N. Cholesterol metabolism in neurons and astrocytes. **Progress in Lipid Research**, v. 50, n. 4, p. 357-371, 2011.
- PUGLIELLI, L. Aging of the brain, neurotrophin signaling, and Alzheimer's disease: is IGF1-R the common culprit? **Neurobiol Aging**, v. 29, n. 6, p. 795-811, 2008.
- PUGLIELLI, L.; TANZI, R. E.; KOVACS, D. M. Alzheimer's disease: the cholesterol connection. **Nat Neurosci**, v. 6, n. 4, p. 345-351, 2003.
- QUAN, G. *et al.* Ontogenesis and regulation of cholesterol metabolism in the central nervous system of the mouse. **Brain Res Dev Brain Res**, v. 146, n. 1-2, p. 87-98, 2003.
- RANI, S. *et al.* Advanced Overview of Biomarkers and Techniques for Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v.43, p.2491-2523, 2023.
- REISERER, R. S.; HARRISON, F. E.; SYVERUD, D. C.; MCDONALD, M. P. Impaired spatial learning in the APPSwe + PSEN1ΔE9 bigenic mouse model of Alzheimer's disease. **Genes, Brain and Behavior**, v. 6, n. 1, p. 54-65, 2007.
- RICCIARELLI, R. *et al.* Cholesterol and Alzheimer's disease: a still poorly understood correlation. **IUBMB Life**, v. 64, n. 12, p. 931-935, 2012.
- ROGAEVA, E. *et al.* The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. **Nat Genet**, v. 39, n. 2, p. 168-177, 2007.
- ROSAS-BALLINA, M. *et al.* Acetylcholine-Synthesizing T Cells Relay Neural Signals in a Vagus Nerve Circuit. **Science**, v. 334, n. 6052, p. 98-101, 2011.
- ROSAS-BALLINA, M.; TRACEY, K. J. Cholinergic control of inflammation. **J Intern Med**, v. 265, n. 6, p. 663-679, 2009.
- ROSAS-BALLINA, M.; TRACEY, K. J. The Neurology of the Immune System: Neural Reflexes Regulate Immunity. **Neuron**, v. 64, n. 1, p. 28-32, 2009.
- ROSTAGNO, A. *et al.* Cerebral amyloidosis: amyloid subunits, mutants and phenotypes. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 4, p. 581-600, 2010.
- SCHILLING, L. P. *et al.* Diagnóstico da doença de Alzheimer: recomendações do departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Dementia & Neuropsychologia**, v.6, n.3, p.25-39, 2022.
- SCHREURS, B. G. The effects of cholesterol on learning and memory. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 34, n. 8, p. 1366-1379, 2010.
- SCHNEIDER, A. *et al.* Cholesterol depletion reduces aggregation of amyloid-beta peptide in hippocampal neurons. **Neurobiology of Disease**, v. 23, n. 3, p. 573-577, 2006.
- SCHWEIG, J. E. *et al.* Alzheimer's disease pathological lesions activate the spleen tyrosine kinase. **Acta Neuropathologica Communications**, v. 5, n. 1, p. 69, 2017.

SE THOE, E. *et al.* A review on advances of treatment modalities for Alzheimer's disease. **Life Sciences**, v. 276, p. 119-129, 2021.

SHARMA, K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). **Mol Med Rep**, v. 20, n. 2, p. 1479-1487, 2019.

SHEN, X. *et al.* The relationship between cerebral glucose metabolism and age: report of a large brain PET data set. **PLoS One**, v. 7, n. 12, p. e51517, 2012.

SILVERMAN, D. H. S. *et al.* Positron Emission Tomography in Evaluation of Dementia Regional Brain Metabolism and Long-term Outcome. **JAMA**, v. 286, n. 17, p. 2120-2127, 2001.

SILVERMAN, D. H. S.; SMALL, G. W.; PHELPS, M. E. Clinical Value of Neuroimaging in the Diagnosis of Dementia: Sensitivity and Specificity of Regional Cerebral Metabolic and Other Parameters for Early Identification of Alzheimer's Disease. **Clinical Positron Imaging**, v. 2, n. 3, p. 119-130, 1999.

SIMONS, M. *et al.* Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 95, n. 11, p. 6460-6464, 1998.

SINGH, D. Astrocytic and microglial cells as the modulators of neuroinflammation in Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 206, 2022.

SINGH, R.; SADIQ, N.M. Cholinesterase inhibitors. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 17 de Jul. de 2023. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544336/>. Acesso em: 12 de Dez. de 2023.

SOLOMON, A. *et al.* Midlife serum cholesterol and increased risk of Alzheimer's and vascular dementia three decades later. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 28, n. 1, p. 75-80, 2009.

SONG, G. J.; SUK, K. Pharmacological Modulation of Functional Phenotypes of Microglia in Neurodegenerative Diseases. **Front Aging Neurosci**, v. 9, p. 139, 2017.

SPARKS, D. L. *et al.* Alterations of Alzheimer's disease in the cholesterol-fed rabbit, including vascular inflammation. Preliminary observations. **Ann N Y Acad Sci**, v. 903, p. 335-344, 2000.

SPARKS, D. L. *et al.* Induction of Alzheimer-like β -Amyloid Immunoreactivity in the Brains of Rabbits with Dietary Cholesterol. **Experimental Neurology**, v. 126, p. 88-94, 1994.

STANCIU, G. D. *et al.* Renal Contributions in the Pathophysiology and Neuropathological Substrates Shared by Chronic Kidney Disease and Alzheimer's Disease. **Brain Sci**, v.10, n. 8, 2020.

STAURENGHI, E. *et al.* Oxysterols present in Alzheimer's disease brain induce synaptotoxicity by activating astrocytes: A major role for lipocalin-2. **Redox Biology**, v. 39, p. 101837, 2021.

STOCKER, H. *et al.* Association of Kidney Function With Development of Alzheimer Disease and Other Dementias and Dementia-Related Blood Biomarkers. **JAMA Netw Open**, v. 6, n. 1, p. e2252387, 2023.

SUBRAMANIAM, S. R.; FEDEROFF, H. J. Targeting Microglial Activation States as a Therapeutic Avenue in Parkinson's Disease. **Front Aging Neurosci**, v. 9, p. 176, 2017.

SWARDFAGER, W. *et al.* A Meta-Analysis of Cytokines in Alzheimer's Disease. **Biological Psychiatry**, v. 68, n. 10, p. 930-941, 2010.

SWEENEY, M. D.; ZLOKOVIC, B. V. A lymphatic waste-disposal system implicated in Alzheimer's disease. *In: Nature*. England, v. 560, p. 172-174, 2018.

SWIRSKI, F. K. *et al.* Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites. **Science**, v. 325, n. 5940, p. 612-616, 2009.

SZCZEPANIK, A. M.; RAMPE, D.; RINGHEIM, G. E. Amyloid- β peptide fragments p3 and p4 induce pro-inflammatory cytokine and chemokine production in vitro and in vivo. **Journal of Neurochemistry**, v. 77, n. 1, p. 304-317, 2001.

SZCZEPANIK, A. M.; RINGHEIM, G. E. IL-10 and glucocorticoids inhibit Abeta(1-42)- and lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine and chemokine induction in the central nervous system. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 5, n. 2, p. 105-117, 2003.

TAKANASHI, M. *et al.* Expression patterns of tau mRNA isoforms correlate with susceptible lesions in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. **Brain research. Molecular brain research**, v. 104, n. 2, p. 210-219, 2002.

TANG, Y.; LE, W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. **Mol Neurobiol**, v. 53, n. 2, p. 1181-1194, 2016.

TELEANU, D. M. *et al.* An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5938, 2022.

THIRUMANGALAKUDI, L. *et al.* High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. **J Neurochem**, v. 106, n. 1, p. 475-485, 2008.

TIAN, D. Y. *et al.* Physiological clearance of amyloid-beta by the kidney and its therapeutic potential for Alzheimer's disease. **Mol Psychiatry**, v. 26, n. 10, p. 6074-6082, 2021.

TODMAN, D. Henry Dale and the discovery of chemical synaptic transmission. **Eur Neurol**, v. 60, n. 3, p. 162-164, 2008.

TORBAN, E. *et al.* From podocyte biology to novel cures for glomerular disease. **Kidney International**, v.96, n. 4, p. 850-861, 2019.

TROUSSON, A. *et al.* 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.945-958, 2009.

UDDIN, M. S.; YU, W. S.; LIM, L. W. Exploring ER stress response in cellular aging and neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**, v. 70, p. 101417, 2021.

- UDEOCHU, J. C.; SHEA, J. M.; VILLEDA, S. A. Microglia communication: Parallels between aging and Alzheimer's disease. **Clinical and Experimental Neuroimmunology**, v. 7, n. 2, p. 114-125, 2016.
- UMEDA, T. *et al.* Hypercholesterolemia accelerates intraneuronal accumulation of A β oligomers resulting in memory impairment in Alzheimer's disease model mice. **Life Sciences**, v. 91, n. 23, p. 1169-1176, 2012.
- UNGER, M. S. *et al.* CD8(+) T-cells infiltrate Alzheimer's disease brains and regulate neuronal- and synapse-related gene expression in APP-PS1 transgenic mice. **Brain Behav Immun**, v. 89, p. 67-86, 2020.
- VAN SANDWIJK, M. S. *et al.* Cognitive Changes in Chronic Kidney Disease and After Transplantation. **Transplantation**, v. 100, n. 4, p. 734-742, 2016.
- VASTO, S. *et al.* Inflammation, genes and zinc in Alzheimer's disease. **Brain Res Rev**, v. 58, n. 1, p. 96-105, 2008.
- VAKALOPOULOS, C. Alzheimer's Disease: The Alternative Serotonergic Hypothesis of Cognitive Decline. **J Alzheimers Dis**, v. 60, n. 3, p. 859-866, 2017.
- VEMURI, P.; JACK, C. R. Role of structural MRI in Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research & Therapy**, v.2, n. 4, p. 23, 2010.
- VIDA, G.; PEÑA, G.; DEITCH, E. A.; ULLOA, L. α 7-Cholinergic Receptor Mediates Vagal Induction of Splenic Norepinephrine. **The Journal of Immunology**, v. 186, n. 7, p. 4340-4346, 2011.
- VILCHEZ, D.; SAEZ, I.; DILLIN, A. The role of protein clearance mechanisms in organismal ageing and age-related diseases. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, p. 5659, 2014.
- VINOTHKUMAR, G. *et al.* Abnormal amyloid β (42) expression and increased oxidative stress in plasma of CKD patients with cognitive dysfunction: A small scale case control study comparison with Alzheimer's disease. **BBA Clin**, v. 8, p. 20-27, 2017.
- WANG, C. *et al.* The effects of microglia-associated neuroinflammation on Alzheimer's disease. **Front Immunol**, v. 14, p. 1117172, 2023.
- WANG, J.; GU, B. J.; MASTERS, C. L.; WANG, Y. J. A systemic view of Alzheimer disease - insights from amyloid- β metabolism beyond the brain. **Nat Rev Neurol**, v. 13, n. 10, p. 612-623, 2017.
- WANG, J. M. *et al.* Regenerative potential of allopregnanolone. **Brain Res Rev**, v. 57, n. 2, p. 398-409, 2008.
- WANG, R.; REDDY, P. H. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 57, p. 1041-1048, 2017.
- WENDIMU, M. Y.; HOOKS, S. B. Microglia Phenotypes in Aging and Neurodegenerative Diseases. **Cells**, v. 11, n. 13, 2022.
- WIECKOWSKA-GACEK, A. *et al.* Western diet as a trigger of Alzheimer's disease: From metabolic syndrome and systemic inflammation to neuroinflammation and neurodegeneration. **Ageing Research Reviews**, v. 70, p. 101397, 2021.

- WHITMER, R. A. *et al.* Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. **Neurology**, v. 64, n. 2, p. 277-281, 2005.
- WILBERDING, A. *et al.* Multiple cytokines are involved in the early events leading to the Alzheimer's disease pathology. **Tottori Rinsho Kagaku Kenkyukai Shi**, v. 1, n. 2, p. 359-373, 2008.
- WONG, M. Y. *et al.* 25-Hydroxycholesterol amplifies microglial IL-1 β production in an apoE isoform-dependent manner. **J Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 192, 2020.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Dementia. 15 de mar. de 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia#>>. Acesso em: 05 de out. de 2023.
- WU, J. W. *et al.* Neuronal activity enhances tau propagation and tau pathology in vivo. **Nat Neurosci**, v. 19, n. 8, p. 1085-1092, 2016.
- XIN, S.-H. *et al.* Clearance of Amyloid Beta and Tau in Alzheimer's Disease: from Mechanisms to Therapy. **Neurotoxicity Research**, v. 34, n. 3, p. 733-748, 2018.
- XIONG, H. *et al.* Cholesterol retention in Alzheimer's brain is responsible for high β - and γ -secretase activities and A β production. **Neurobiology of Disease**, v. 29, n. 3, p. 422-437, 2008.
- XU, H. *et al.* Association between cholinesterase inhibitors and kidney function decline in patients with Alzheimer's dementia. **Kidney Int**, v. 103, n. 1, p. 166-176, 2023.
- YAFFE, K. *et al.* Serum lipoprotein levels, statin use, and cognitive function in older women. **Arch Neurol**, v. 59, n. 3, p. 378-384, 2002.
- YAMADA, K. *et al.* Neuronal activity regulates extracellular tau in vivo. **J Exp Med**, v. 211, n. 3, p. 387-393, 2014.
- YANG, S. H.; KIM, J.; LEE, M. J.; KIM, Y. Abnormalities of plasma cytokines and spleen in senile APP/PS1/Tau transgenic mouse model. **Sci Rep**, v. 5, p. 15703, 2015.
- YOSHIZAWA, H. *et al.* Characterizing the normative profile of 18F-FDG PET brain imaging: sex difference, aging effect, and cognitive reserve. **Psychiatry Res**, v. 221, n. 1, p. 78-85, 2014.
- YU, Z. Y.; CHEN, D. W.; TAN, C. R.; ZENG, G. H. *et al.* Physiological clearance of A β by spleen and splenectomy aggravates Alzheimer-type pathogenesis. **Aging Cell**, v. 21, n. 1, p. e13533, 2022.
- YUN, H. M. *et al.* Serotonin 6 receptor controls Alzheimer's disease and depression. **Oncotarget**, v. 6, n. 29, p. 26716-26728, 2015.
- ZENARO, E.; PIACENTINO, G.; CONSTANTIN, G. The blood-brain barrier in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Disease**, v. 107, p. 41-56, 2017.
- ZHANG, B. *et al.* Integrated Systems Approach Identifies Genetic Nodes and Networks in Late-Onset Alzheimer's Disease. **Cell**, v. 153, n. 3, p. 707-720, 2013.
- ZHANG, C.-Y. *et al.* Association between chronic kidney disease and Alzheimer's disease: an update. **Metabolic Brain Disease**, v. 35, n. 6, p. 883-894, 2020.

ZHANG, X. *et al.* The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. **Journal of Prevention of Alzheimers Disease**, v. 8, n. 3, p.313-321, 2021.

ZIPP, F. *et al.* Impact of HMG-CoA reductase inhibition on brain pathology. **Trends Pharmacol Sci**, v. 28, n. 7, p. 342-349, 2007.