



Universidade Federal do Maranhão
Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa,
Pós-Graduação e Internacionalização
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto
Mestrado Acadêmico



ESPERMIDINA ATENUA DÉFICITS COGNITIVOS E
NEURODEGENERAÇÃO HIPOCAMPAL POR
MODULAÇÃO DE BDNF E APOPTOSE EM MODELO DE
DOENÇA DE ALZHEIMER ESPORÁDICA

NATHÁLIA KÉSSIA CORRÊA RODRIGUES

São Luís
2026

NATHÁLIA KÉSSIA CORRÊA RODRIGUES

**ESPERMIDINA ATENUA DÉFICITS COGNITIVOS E
NEURODEGENERAÇÃO HIPOCAMPAL POR
MODULAÇÃO DE BDNF E APOPTOSE EM MODELO DE
DOENÇA DE ALZHEIMER ESPORÁDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Saúde do Adulto da
Universidade Federal do Maranhão para
obtenção do Grau de Mestre em Saúde do
Adulto.

Área de Concentração: Saúde e
Metabolismo Humano

Linha de Pesquisa: Alterações Endócrinas
e Climatério

Orientador: Bruno Araújo Serra Pinto

Coordenador: Marcelo Souza De Andrade

**São Luís
2026**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a). Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Corrêa Rodrigues, Nathália Késsia.

ESPERMIDINA ATENUA DÉFICITS COGNITIVOS E
NEURODEGENERAÇÃO HIPOCAMPAL POR MODULAÇÃO DE BDNF E
APOPTOSE EM MODELO DE DOENÇA DE ALZHEIMER ESPORÁDICA / Nathália
Késsia Corrêa Rodrigues. - 2026.

85 f.

Orientador(a): Bruno Araújo Serra Pinto Araújo Serra Pinto.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2026.

1. Neuroproteção. 2. Neurogênese. 3.
Estreptozotocina. 4. Hipocampo. I. Araújo Serra Pinto, Bruno. II.
Título.

NATHÁLIA KÉSSIA CORRÊA RODRIGUES

**ESPERMIDINA ATENUA DÉFICITS COGNITIVOS E
NEURODEGENERAÇÃO HIPOCAMPAL POR
MODULAÇÃO DE BDNF E APOPTOSE EM MODELO
DE DOENÇA DE ALZHEIMER ESPORÁDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

A Banca Examinadora da Defesa de Mestrado, apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em: 12/05/2026.

Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão/ PPGSAD

Prof. Dr. Haissa Oliveira Brito (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão/ CCBS

Prof^ª. Dr^ª. Lucas Martins França (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão/ PPGCS

Prof^ª. Dr^ª Antonio Marcus de Andrade Paes (Suplente)
Universidade Federal do Maranhão/ PPGCS

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, ao meu orientador, Bruno Araújo Serra Pinto, por ter aceitado me orientar e por todo o acompanhamento na bancada, sempre com humildade e disponibilidade. Ao Laboratório de Estudos em Fisiologia (LEFISIO), sob coordenação de Marcus Paes, pela estrutura e suporte essenciais para a realização deste trabalho.

À Thamys Marinho, pelos ensinamentos fundamentais sobre manejo, experimentação e farmácia, e também pelas exigências ao longo do caminho, que foram essenciais para o meu crescimento. Ao Caio Coelho, pelo acompanhamento durante o desenvolvimento do projeto, pela contribuição no aprimoramento de protocolos e pelos ensinamentos compartilhados. À Maysa, pelo apoio constante durante a iniciação científica e pela parceria no desenvolvimento deste projeto, juntos, a “neurogang”.

Aos professores Rafael Carvalho, Lucas Martins, Joicy Cortez, Samira Abdalla e Karla Frida, pelas contribuições ao longo da minha formação. Aos colegas que recentemente se integraram ao grupo e àqueles que, mesmo não pertencendo diretamente a ele, colaboraram com os experimentos, com as análises e com a escrita, em especial Rafael, Lúcia, Suzani, Wanderson, Gabriel e Ana Paula.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD), pelo suporte institucional e pelas oportunidades de aprendizado proporcionadas tanto pela coordenação quanto pelo convívio com docentes e discentes.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pelo apoio financeiro.

Por fim, à minha família, majoritariamente formada por professores, que sempre valorizou e incentivou minha trajetória acadêmica, mesmo diante das dificuldades.

“Criar é resistir ao desaparecimento.”

RESUMO

Introdução: A Doença de Alzheimer (DA) é uma condição neurodegenerativa caracterizada por comprometimento progressivo da memória e da cognição, associada a alterações moleculares, estruturais e funcionais no sistema nervoso central. Nesse contexto, compostos com potencial de modular múltiplos mecanismos fisiopatológicos têm sido investigados, destacando-se a espermidina, uma poliamina endógena com propriedades neuroprotetoras descritas na literatura.

Objetivo: Avaliar os efeitos da espermidina sobre alterações comportamentais, histológicas, moleculares e metabólicas em um modelo experimental de DA.

Metodologia: Ratos Wistar machos ($n = 31$) foram distribuídos em grupos controle, DA e tratado com espermidina. A Doença de Alzheimer experimental foi induzida por administração intracerebroventricular de estreptozotocina (3 mg/kg). O grupo tratado recebeu espermidina (50 mg/kg, via oral) diariamente durante 21 dias. Foram realizados testes comportamentais para avaliação da aprendizagem e memória, incluindo o labirinto aquático de Morris e o teste de reconhecimento de objetos. Adicionalmente, foram conduzidas análises histomorfométricas hipocâmpais e avaliação da expressão gênica de BDNF e caspase-3 por qPCR. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) e analisados por ANOVA seguida do pós-teste de Newman-Keuls, considerando significância estatística quando $p \leq 0,05$. **Resultados:** Inicialmente, a indução experimental da Doença de Alzheimer por STZ promoveu alterações metabólicas associadas à resistência à insulina e dislipidemia, incluindo intolerância à glicose, aumento de colesterol total, triglicerídeos, índice TyG e Índice de Lee, efeitos revertidos pelo tratamento com espermidina. Além disso, o modelo experimental induziu déficits cognitivos, alterações estruturais hipocâmpais e desregulação de genes relacionados à neuroplasticidade e apoptose. No labirinto aquático de Morris, animais do grupo DA apresentaram prejuízo na aquisição da tarefa e redução da memória espacial em comparação ao grupo CTR ($p < 0,05$), enquanto o tratamento com espermidina restaurou significativamente esses parâmetros ($p < 0,05$ vs. DA). De forma semelhante, a espermidina preveniu o comprometimento da memória episódica observado no teste de reconhecimento de objetos ($p < 0,05$). Histologicamente, observou-se redução da celularidade no hilo do giro denteado no grupo DA ($p < 0,05$), parcialmente revertida pelo tratamento. Além disso, a espermidina aumentou a expressão hipocâmpal de BDNF e reduziu a expressão de CASP3 em relação ao grupo DA ($p < 0,05$). **Conclusão:** A espermidina apresentou efeitos neuroprotetores no modelo experimental de DA, atuando sobre alterações comportamentais, estruturais e moleculares. Esses achados reforçam seu potencial como estratégia terapêutica promissora, embora estudos adicionais sejam necessários para elucidar seus mecanismos de ação e aplicabilidade clínica.

Palavras-chave: Neuroproteção. Neurogênese. Estreptozotocina. Hipocampo.

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by progressive impairment of memory and cognition, associated with molecular, structural, and functional alterations in the central nervous system. In this context, compounds capable of modulating multiple pathophysiological mechanisms have been investigated, with emphasis on spermidine, an endogenous polyamine with neuroprotective properties described in the literature. **Objective:** To evaluate the effects of spermidine on behavioral, histological, molecular, and metabolic alterations in an experimental model of AD. **Methodology:** Male Wistar rats ($n = 31$) were allocated into control, AD, and spermidine-treated groups. Experimental AD was induced by intracerebroventricular administration of streptozotocin (3 mg/kg). The treated group received spermidine (50 mg/kg, oral gavage) daily for 21 days. Behavioral tests assessing learning and memory were performed, including the Morris water maze and novel object recognition test. In addition, hippocampal histomorphometric analyses and gene expression evaluation of BDNF and CASP3 by qPCR were conducted. Data were expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM) and analyzed using ANOVA followed by Newman–Keuls post hoc test, considering $p \leq 0.05$ as statistically significant. **Results:** Initially, STZ-induced experimental AD promoted metabolic alterations associated with insulin resistance and dyslipidemia, including glucose intolerance, increased total cholesterol, triglycerides, TyG index, and Lee Index, all of which were reversed by spermidine treatment. Furthermore, the experimental model induced cognitive deficits, hippocampal structural alterations, and dysregulation of genes related to neuroplasticity and apoptosis. In the Morris water maze, AD animals showed impaired task acquisition and reduced spatial memory compared to the control group ($p < 0.05$), whereas spermidine treatment significantly restored these parameters ($p < 0.05$ vs. AD). Similarly, spermidine prevented the impairment of episodic memory observed in the novel object recognition test ($p < 0.05$). Histologically, reduced cellularity was observed in the dentate gyrus hilus of the AD group ($p < 0.05$), which was partially reversed by treatment. Moreover, spermidine increased hippocampal BDNF expression and reduced CASP3 expression compared to the AD group ($p < 0.05$). **Conclusion:** Spermidine exhibited neuroprotective effects in the experimental AD model, acting on behavioral, structural, molecular, and metabolic alterations associated with the disease. These findings reinforce its potential as a promising therapeutic strategy, although further studies are required to elucidate its mechanisms of action and clinical applicability.

Keywords: Neuroprotection. Neurogenesis. Streptozotocin. Hippocampus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema integrativo dos fatores etiológicos e mecanismos fisiopatológicos da Doença de Alzheimer.....	22
Figura 2. Esquema representativo do circuito hipocampal com ênfase no microcircuito dentado–CA3.....	26
Figura 3. Teste de reconhecimento de objetos.	28
Figura 4. Labirinto Aquático de Morris.....	29
Figura 5. Estrutura química da espermidina (ESP) e suas propriedades bioquímicas..	35
Figura 6. Principais vias de obtenção e metabolismo da espermidina (ESP).	37
Figura 7 – Principais mecanismos moleculares e efeitos neuroprotetores da espermidina (ESP) no sistema nervoso central..	40
Figura 8 – Procedimento de acesso cirúrgico para administração intracerebroventricular.....	45
Figura 9. Desenho experimental do estudo.....	46
Figura 10 – Metodologia do Reconhecimento de Objetos.....	47
Figura 11 – Metodologia do Labirinto Aquático de Morris.	48
Figura 12 – Déficits de aprendizado e memória espacial no modelo experimental de DA e efeitos da espermidina no labirinto aquático.....	53
Figura 13 – Déficits de memória de reconhecimento (episódica) no modelo de DA e efeitos da espermidina no teste de reconhecimento de objetos.	54
Figura 14 – Redução da densidade celular no hilo do giro dentado no modelo de DA e efeito da espermidina.....	55
Figura 15 – Alterações morfológicas no giro dentado no modelo de DA e efeito da espermidina..	56
Figura 16 – Alterações estruturais no CA1 do hipocampo no modelo de DA e efeito da espermidina.....	58

Figura 17 – Expressão gênica de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e caspase 3 (CASP3) no hipocampo..	59
---	-----------

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

A β – Peptídeo beta-amiloide

AChE – Acetilcolinesterase

AMPA – Receptor de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico

ANOVA – Análise de variância

APOE – Apolipoproteína E

APP – Proteína precursora amiloide

ATP – Adenosina trifosfato

AUC – Área sob a curva (Area Under the Curve)

BACE1 – Beta-secretase 1

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro (Brain-Derived Neurotrophic Factor)

CA1 – Região CA1 do hipocampo (*Cornu Ammonis 1*)

CA3 – Região CA3 do hipocampo (*Cornu Ammonis 3*)

CASP3 – Caspase 3

CD95 – Receptor de morte celular Fas

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

cDNA – DNA complementar

CTR – Grupo controle

DA – Doença de Alzheimer

DG – Giro denteado (Dentate Gyrus)

DL50 – Dose letal média

DP – Desvio padrão

EROs – Espécies reativas de oxigênio

ESP – Espermidina

GAPDH – Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

GFAP – Proteína ácida fibrilar glial

GLT-1 – Transportador de glutamato 1

GLUT1 – Transportador de glicose tipo 1

GLUT3 – Transportador de glicose tipo 3

GSK-3 – Glicogênio sintase quinase 3

GTT – Teste de tolerância à glicose

H&E – Hematoxilina e eosina

HDL – Lipoproteína de alta densidade

ICV – Intracerebroventricular

IM – Intramuscular

INSR – Receptor de insulina

IP – Intraperitoneal

IRS – Substrato do receptor de insulina

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LTP – Potenciação de longa duração (Long-Term Potentiation)

MAPK – Proteína quinase ativada por mitógeno

MAPT – Proteína tau associada a microtúbulos

MAO-B – Monoamina oxidase B

MWM – Labirinto aquático de Morris (Morris Water Maze)

NAD⁺ – Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NCBI – National Center for Biotechnology Information

NMDA – Receptor N-metil-D-aspartato

NOAEL – Nível de efeito adverso não observado

NOR – Teste de reconhecimento de objetos (Novel Object Recognition)

PARP – Poli (ADP-ribose) polimerase

PBS – Solução salina tamponada com fosfato

PFA – Paraformaldeído

PI3K/Akt – Via fosfatidilinositol 3-quinase / proteína quinase B

PSEN1 – Presenilina 1

PSEN2 – Presenilina 2

p-Tau – Tau fosforilada

qPCR – Reação em cadeia da polimerase quantitativa

RNA – Ácido ribonucleico

RPL13A – Proteína ribossomal L13a

SAM – S-adenosilmetionina

SEM – Erro padrão da média

SNC – Sistema nervoso central

STZ – Estreptozotocina

SYBR Green – Corante fluorescente para detecção de DNA em qPCR

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

TyG – Índice triglicerídeos-glicose

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

UPR – Resposta a proteínas mal dobradas (Unfolded Protein Response)

VO – Via oral

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	18
2.1 Doença de Alzheimer	18
2.1.1 Conceito, aspectos epidemiológicos e fatores de risco da Doença de Alzheimer	18
2.1.2 Etiologia e fisiopatologia da Doença de Alzheimer	21
2.1.3 Alterações hipocampais e cognitivas	24
2.1.3. Testes cognitivos aplicados à modelos experimentais de DA	27
2.1.4 Modelo experimental de DA induzido por Estreptozotocina	30
2.1.5. Alternativas terapêuticas	32
2.2. Espermidina	34
2.2.1. Caracterização e papel biológico da espermidina	34
2.2.2. Mecanismos moleculares e efeitos neuroprotetores	39
3. OBJETIVOS	43
3.1 Objetivo geral	43
3.2 Objetivos específicos	43
4. METODOLOGIA	44
4.1 Animais de experimentação	44
4.2 Modelo de indução da Doença de Alzheimer	44
4.3 Grupos experimentais	46
4.4 Testes comportamentais	46
4.4.1 Teste de reconhecimento de objetos	46
4.4.2 Teste do labirinto aquático de Morris	47
4.5 Expressão gênica por qPCR	48
4.6 Análise histológica	49
4.7 Análise estatística	50
4.8 Uso de ferramentas digitais	50
5. RESULTADOS	52
6. DISCUSSÃO	60
7. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICE A – Perfil Metabólico e Morfométrico dos animais do estudo	84
APÊNDICE B – Certificado de autorização da CEUA	85

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa progressiva caracterizada por comprometimento da memória e de outras funções cognitivas, evoluindo para declínio funcional global e perda da autonomia (Rahman *et al.*, 2025). Trata-se da principal causa de demência em escala global e configura um relevante problema de saúde pública, com projeções de crescimento expressivo nas próximas décadas, sobretudo em decorrência do envelhecimento populacional (Better, 2023).

A DA apresenta etiologia multifatorial, resultante da interação dinâmica entre fatores genéticos, ambientais e condições sistêmicas ao longo da vida (Ma; Chen; Hong, 2022). As formas hereditárias representam aproximadamente 0,1% dos casos e, em geral, apresentam início precoce, enquanto a vasta maioria corresponde à forma esporádica, associada à exposição cumulativa a fatores de risco modificáveis (Scarano *et al.*, 2025).

Do ponto de vista neuropatológico, a DA é caracterizada pelo acúmulo extracelular de β -amiloide ($A\beta$) e pela agregação intracelular da proteína tau hiperfosforilada (pTAU), alterações consideradas centrais na progressão da neurodegeneração. A formação de oligômeros solúveis de $A\beta$, bem como sua deposição em placas, está associada à disfunção sináptica e à ativação de vias de morte celular. Paralelamente, a hiperfosforilação da tau compromete a estabilidade dos microtúbulos e o transporte axonal (Ma; Chen; Hong, 2022; Xia; Prokop; Giasson, 2021). Além desses eventos, mecanismos como estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, neuroinflamação e alterações na neurotransmissão atuam de forma integrada, contribuindo para a amplificação do dano neuronal (Merighi *et al.*, 2022).

Entre as estruturas cerebrais afetadas, o hipocampo destaca-se por seu papel central nos processos de aprendizagem e consolidação da memória, sendo particularmente vulnerável à progressão da doença. Essa região integra circuitos neurais essenciais para a codificação, armazenamento e recuperação de informações, permitindo a conversão de memórias de curto em longo prazo (Lazarov *et al.*, 2024). Na DA, alterações estruturais e funcionais no hipocampo estão diretamente associadas a déficits cognitivos, especialmente em memória

espacial, reconhecimento e formação de novas memórias, achados amplamente descritos tanto em pacientes quanto em modelos experimentais (Rao *et al.*, 2022).

Essas alterações estão associadas, em parte, à perda progressiva de neurônios, processo que envolve a ativação de vias reguladas de morte celular. Nesse contexto, a caspase-3 emerge como um mediador central da apoptose, estando implicada tanto na degeneração neuronal quanto no comprometimento da função sináptica observados na doença (Ekundayo *et al.*, 2024).

Em contraponto aos mecanismos de morte celular, fatores associados à sobrevivência neuronal e à plasticidade sináptica exercem papel fundamental na manutenção da função cerebral. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) destaca-se como um dos principais moduladores da plasticidade neuronal, participando da neurogênese, da manutenção da viabilidade neuronal e dos processos de aprendizagem e memória. Evidências indicam que alterações na expressão de BDNF estão diretamente relacionadas ao comprometimento da função hipocampal na DA (Farioli-Vecchioli *et al.*, 2022).

Apesar dos avanços no entendimento da fisiopatologia da doença, as estratégias terapêuticas atualmente disponíveis permanecem limitadas, atuando predominantemente no controle sintomático e sem impacto significativo na progressão da DA. Fármacos como inibidores da acetilcolinesterase e antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) apresentam benefícios modestos sobre a função cognitiva (D'Angremont *et al.*, 2023).

Diante desse cenário, tem-se intensificado o interesse por abordagens não farmacológicas, especialmente aquelas baseadas em modificações do estilo de vida, como intervenções nutricionais. Evidências indicam que padrões alimentares saudáveis estão associados à redução de processos inflamatórios, à melhora da função metabólica e à preservação cognitiva (Doroszkievicz *et al.*, 2023).

Entre esses padrões, a dieta mediterrânea tem sido associada à proteção cognitiva, sendo caracterizada pela elevada ingestão de alimentos ricos em compostos bioativos, incluindo poliaminas (López-González *et al.*, 2025). Nesse contexto, destaca-se a espermidina (ESP), cuja maior ingestão dietética pode contribuir para os efeitos benéficos observados, possivelmente por sua atuação em processos como autofagia e neuroproteção (Pandolfi *et al.*, 2026).

Do ponto de vista biológico, a ESP é uma molécula endógena, também obtida por meio da dieta, associada à regulação da homeostase celular e à manutenção da função neuronal (Makletzova *et al.*, 2022).

Evidências experimentais demonstram que a ESP modula diversos processos envolvidos na neurodegeneração. Em modelos murinos de patologia amiloide, foi demonstrado que sua administração reduz os níveis de A β solúvel e atenua a neuroinflamação associada à doença (Freitag *et al.*, 2022). Além disso, a ESP está associada à diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , e à modulação da atividade microglial, contribuindo para o equilíbrio do ambiente neuroimune (Shu *et al.*, 2025, Zhao *et al.*, 2025).

Adicionalmente, essa poliamina exerce efeitos relevantes sobre a função mitocondrial e a homeostase celular, promovendo a remoção de mitocôndrias disfuncionais e reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio, o que contribui para a prevenção da ativação de vias de morte celular (Fairley *et al.*, 2023). A indução de processos autofágicos também tem sido associada à manutenção da função neuronal e à proteção contra eventos neurodegenerativos (Hofer *et al.*, 2022).

Considerando a participação integrada de processos como disfunção sináptica, neuroinflamação e morte neuronal na fisiopatologia da DA, bem como os efeitos pleiotrópicos da ESP sobre esses mecanismos, levanta-se a hipótese de que sua suplementação oral precoce seja capaz de atenuar déficits cognitivos e alterações neuropatológicas associadas à doença.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Doença de Alzheimer

2.1.1 Conceito, aspectos epidemiológicos e fatores de risco da Doença de Alzheimer

A DA é uma condição neurodegenerativa progressiva caracterizada pelo comprometimento gradual das funções cognitivas, especialmente memória, aprendizagem e funções executivas. Clinicamente, a doença apresenta evolução contínua, com agravamento progressivo dos déficits cognitivos e perda da autonomia funcional, refletindo a degeneração neuronal em diferentes regiões cerebrais ao longo do tempo (Rao *et al.*, 2022).

Do ponto de vista neuropatológico, a DA é caracterizada pela presença de duas lesões principais: as placas senis, compostas por depósitos extracelulares de peptídeo A β , e os emaranhados neurofibrilares intracelulares formados pela proteína tau hiperfosforilada (Ge *et al.*, 2022; Kamble; Patil; Upaganlawar, 2024). Essas alterações estruturais estão associadas à disfunção sináptica, perda neuronal e comprometimento da comunicação entre circuitos neurais, especialmente em regiões envolvidas na memória, como o hipocampo (Ma; Hong; Yang, 2022).

Além dessas características clássicas, a DA também envolve alterações na neurotransmissão, com destaque para a redução da atividade colinérgica, fundamental para aprendizagem e memória (Chen *et al.*, 2022), além de processos como estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e neuroinflamação, que contribuem para a progressão da neurodegeneração (Butterfield; Lauderback, 2002; Wang *et al.*, 2020; Merighi *et al.*, 2022). Assim, a DA configura-se como uma condição multifatorial, resultante da interação de alterações estruturais e funcionais que culminam no declínio cognitivo progressivo (Scarano *et al.*, 2025)

A DA constitui a principal causa de demência no mundo, correspondendo a aproximadamente 60–70% dos casos (Kamble; Patil; Upaganlawar, 2024), e representa um importante problema de saúde pública, em decorrência de sua elevada prevalência, do impacto sobre a funcionalidade dos indivíduos e da significativa carga socioeconômica associada ao cuidado de pacientes e familiares (Jojo *et al.*, 2025; Allegri, 2025). Estimativas globais indicam que a

demência afetava cerca de 57,4 milhões de pessoas em 2019, com projeções que apontam para aproximadamente 152,8 milhões de casos até 2050, impulsionadas principalmente pelo envelhecimento populacional. Apesar desse aumento expressivo no número absoluto de casos, as taxas padronizadas por idade tendem a permanecer relativamente estáveis, sugerindo que o crescimento da carga da doença está fortemente associado às mudanças na estrutura etária da população. Observa-se maior prevalência em mulheres, representando cerca de 60–65% dos casos, padrão que deve persistir nas próximas décadas (Nichols *et al.*, 2022).

O impacto econômico da demência é igualmente expressivo, com custos globais estimados em aproximadamente US\$ 1,3 trilhão em 2024, refletindo o elevado ônus para sistemas de saúde, cuidadores e sociedade (Alzheimer's Disease International, 2024). Além disso, a distribuição da doença é marcada por importantes desigualdades, uma vez que cerca de dois terços das pessoas com demência vivem em países de baixa e média renda, onde os recursos para diagnóstico e cuidado são frequentemente limitados (Kalaria *et al.*, 2024).

Na América Latina, esse cenário é particularmente preocupante, devido à rápida transição demográfica e à elevada prevalência de fatores de risco. Estima-se que o número de pessoas com demência na região aumente de aproximadamente 7,8 milhões para 27 milhões até 2050, acompanhando o crescimento da população idosa (Suemoto *et al.*, 2026). No entanto, apesar dessa elevada carga, a produção científica ainda é desproporcional, com apenas cerca de 10% dos estudos sobre demência sendo conduzidos em países de baixa e média renda, evidenciando lacunas importantes no conhecimento e na formulação de estratégias regionais (Allegri, 2025).

No Brasil, estima-se que cerca de 1,85 milhão de pessoas viviam com demência em 2019, com projeção de aumento para aproximadamente 5,66 milhões até 2050, representando crescimento superior a 200% no número de casos. Esse cenário reflete a rápida transição demográfica no país e reforça o impacto crescente da doença sobre o sistema de saúde (Nichols *et al.*, 2022).

Adicionalmente, a carga global da DA pode ser ainda maior do que as estimativas atuais, uma vez que uma proporção significativa dos casos permanece subdiagnosticada, podendo representar até 60% do total (Major *et al.*, 2026). A prevalência da doença aumenta de forma acentuada com a idade,

aproximadamente dobrando a cada cinco anos, com maior incidência e prevalência em indivíduos acima de 85 anos, evidenciando o envelhecimento como principal fator de risco para o desenvolvimento da doença.

Do ponto de vista da distribuição etária, a DA manifesta-se predominantemente em indivíduos idosos. Entretanto, evidências indicam que fatores de risco acumulados ao longo da vida, particularmente durante a meia-idade, exercem influência significativa sobre o risco de declínio cognitivo e progressão para demência (Cholerton *et al.*, 2016). A doença é atualmente compreendida como multifatorial, resultante da interação entre fatores genéticos, ambientais e condições sistêmicas (Ma; Chen; Hong, 2022). Embora formas hereditárias representem uma parcela muito pequena dos casos, cerca de 0,1%, geralmente com início precoce entre 30 e 50 anos, a maioria dos casos é esporádica e associada a fatores de risco ao longo da vida (Scarano *et al.*, 2025).

Diversos fatores modificáveis têm sido implicados na epidemiologia da DA. Um relatório recente da *Lancet Commission* identificou até 14 fatores de risco potencialmente modificáveis que, quando controlados, poderiam prevenir ou retardar até cerca de 50% dos casos de demência. Entre esses fatores destacam-se condições cardiovasculares e metabólicas, como hipertensão, diabetes, obesidade e dislipidemia, além de fatores comportamentais e ambientais, incluindo sedentarismo, tabagismo, consumo excessivo de álcool, baixa estimulação cognitiva, isolamento social, depressão e exposição à poluição do ar (Livingston *et al.*, 2024).

Além disso, condições genéticas específicas também podem aumentar o risco para o desenvolvimento da doença. Indivíduos com Síndrome de Down, por exemplo, apresentam maior predisposição à DA em função da triplicação do gene APP no cromossomo 21, levando ao aumento da produção de A β (Levin *et al.*, 2023).

No contexto dos fatores de estilo de vida, evidências experimentais e epidemiológicas indicam que padrões alimentares inadequados, sedentarismo, privação de sono e estresse crônico contribuem para a instalação de um estado inflamatório sistêmico de baixo grau e para disfunções metabólicas que podem impactar o sistema nervoso central (Scheltens *et al.*, 2021). Essas condições estão associadas a alterações como inflamação neuroglial, prejuízo da plasticidade sináptica e disfunções no metabolismo cerebral, favorecendo o

desenvolvimento de alterações neuropatológicas relacionadas à DA (Arnold *et al.*, 2018; Pinto *et al.*, 2022; Wakabayashi *et al.*, 2019).

A DA deve ser compreendida como uma condição multifatorial, resultante da interação entre fatores não modificáveis, como idade e genética, e fatores modificáveis ao longo da vida. Esses elementos atuam de forma integrada na ativação de mecanismos biológicos que levam à neurodegeneração e ao comprometimento cognitivo, especialmente em regiões relacionadas à memória. Nesse contexto, a compreensão dos processos envolvidos na gênese e progressão da doença torna-se essencial.

2.1.2 Etiologia e fisiopatologia da Doença de Alzheimer

A DA é uma condição neurodegenerativa complexa e multifatorial, cuja etiologia envolve a interação entre fatores genéticos, ambientais e sistêmicos ao longo da vida.

Embora formas hereditárias estejam associadas a mutações em genes como APP, presenilina 1 (PSEN1), presenilina 2 (PSEN2) e apolipoproteína E (APOE), a maioria dos casos é esporádica e resulta da convergência de múltiplos processos biológicos que culminam na disfunção neuronal progressiva (Kamble *et al.*, 2024).

Historicamente, diferentes hipóteses foram propostas para explicar a patogênese da DA, destacando-se a hipótese da cascata amiloide, a hipótese taupática e modelos mais recentes que integram alterações metabólicas, inflamatórias e vasculares (Scarano *et al.*, 2025). Essas abordagens são complementares, refletindo a natureza multifatorial da doença (Figura 1).

A hipótese amiloidogênica propõe que o acúmulo do peptídeo A β , derivado da clivagem da proteína precursora de amiloide (APP), constitui um evento central na patogênese da DA. A formação de oligômeros solúveis e sua posterior agregação em placas extracelulares estão associadas à disfunção sináptica, à alteração da permeabilidade de membranas e à indução de morte celular (Ma; Chen; Hong, 2022). Além disso, os oligômeros de A β podem interferir diretamente na plasticidade sináptica e comprometer processos relacionados à memória.

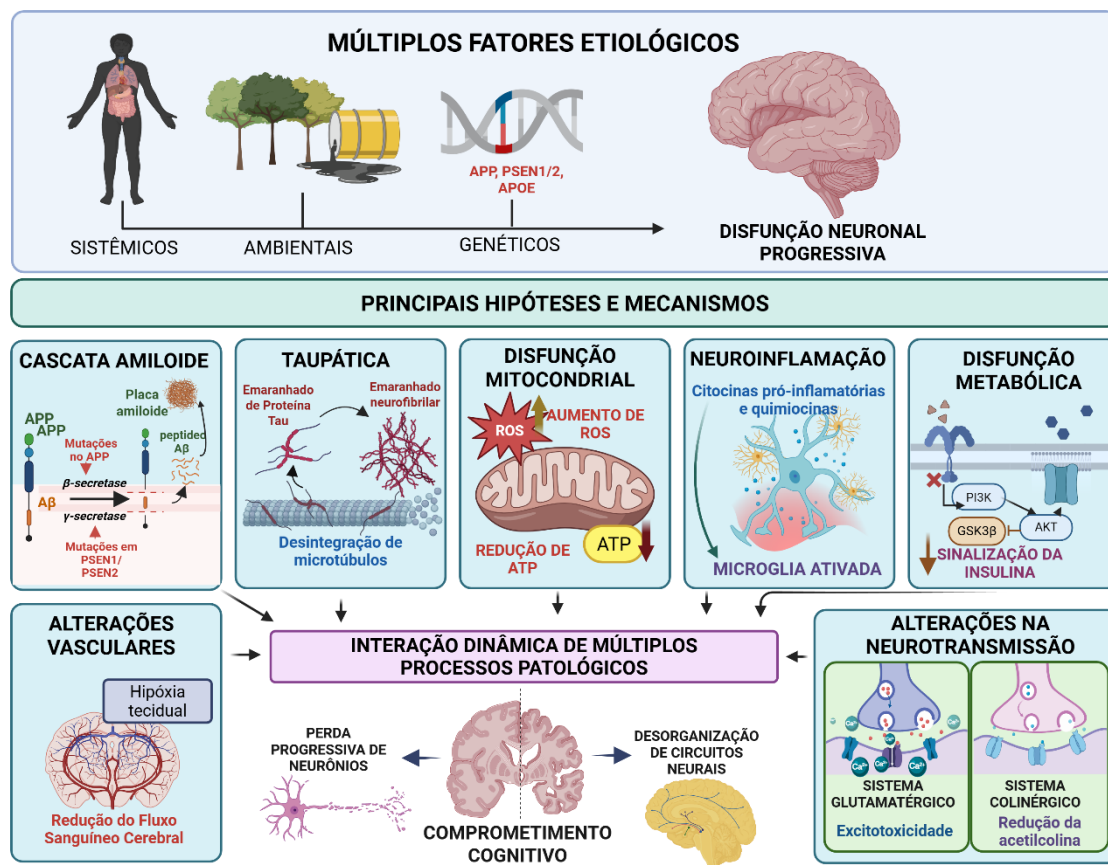


Figura 1. Esquema integrativo dos fatores etiológicos e mecanismos fisiopatológicos da Doença de Alzheimer. Destaca-se a interação entre alterações moleculares, celulares e sistêmicas que levam à disfunção neuronal e ao declínio cognitivo progressivo. **Fonte:** Elaborado pela autora (2026), esquema integrativo baseado na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

Paralelamente, a hiperfosforilação da proteína tau leva à formação de emaranhados neurofibrilares intracelulares, resultando na desorganização dos microtúbulos e no comprometimento do transporte axonal. Esse processo contribui para a disfunção neuronal e está fortemente correlacionado com a gravidade do comprometimento cognitivo observado na doença (Xia; Prokop; Giasson, 2021; Ge *et al.*, 2022).

Além dessas alterações clássicas, outros mecanismos desempenham papel relevante na progressão da DA. A disfunção mitocondrial compromete a produção de ATP e favorece a geração de radicais livres, contribuindo para um ciclo de dano celular progressivo (Wang *et al.*, 2020). Nesse contexto, o estresse oxidativo, resultante do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), está associado a danos em lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, sendo

intensificado pela presença de agregados amiloides (Butterfield; Lauderback, 2002; Sotolongo *et al.*, 2020).

A neuroinflamação também constitui um componente central da fisiopatologia da DA. A ativação crônica da microglia e de outras células gliais resulta na liberação de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e espécies reativas, que, embora inicialmente possam exercer papel protetor, tornam-se prejudiciais em estágios avançados, promovendo dano neuronal e morte celular (Merighi *et al.*, 2022).

Alterações na neurotransmissão contribuem para a disfunção cognitiva característica da doença. A redução dos níveis de acetilcolina, associada à perda de neurônios colinérgicos, está diretamente relacionada ao comprometimento da memória e da aprendizagem (Chen *et al.*, 2022). Paralelamente, a desregulação do sistema glutamatérgico pode levar à excitotoxicidade, com aumento do influxo de cálcio intracelular, disfunção mitocondrial e ativação de vias de morte celular (Soares *et al.*, 2024; Nasb; Tao; Chen, 2024).

Outros mecanismos sistêmicos também têm sido implicados na patogênese da DA, especialmente alterações metabólicas e vasculares. A hipótese metabólica propõe que prejuízos na homeostase energética cerebral, incluindo disfunção mitocondrial, resistência à insulina e comprometimento do metabolismo da glicose, contribuem para a progressão da doença, destacando-se o papel da sinalização insulinérgica no sistema nervoso central (Wang *et al.*, 2020; Scarano *et al.*, 2025). Nesse contexto, a resistência à insulina compromete vias como PI3K/Akt, fundamentais para a sobrevivência neuronal e a plasticidade sináptica, podendo levar à ativação de quinases como a GSK-3 e à redução da expressão de BDNF, favorecendo alterações sinápticas precoces associadas à progressão da DA (Felice; Gonçalves; Ferreira, 2022; Arnold *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2020).

Evidências experimentais demonstram ainda que condições de sobrecarga metabólica, como a exposição crônica a dietas hipersacarídicas, hiperlipídicas e hiperglicêmicas, são capazes de induzir disfunção metabólica sistêmica, promovendo inflamação neuroglial, perda de plasticidade sináptica e alterações no transporte de insulina para o parênquima cerebral. Essas alterações estão associadas ao aumento do estresse celular e à morte neuronal em regiões como o hipocampo, resultando em comprometimento cognitivo e

motor (Pinto *et al.*, 2017; Arnold *et al.*, 2014; Pinto *et al.*, 2022; Wakabayashi *et al.*, 2019).

Paralelamente, alterações vasculares, como redução do fluxo sanguíneo cerebral e comprometimento da perfusão tecidual, podem intensificar hipóxia, disfunção metabólica e favorecer o agravamento da deposição de A β e da patologia tau (Liu *et al.*, 2019; Fazlollahi *et al.*, 2020). Assim, embora não constituam isoladamente a explicação central da DA, os componentes metabólico e vascular parecem atuar como fatores moduladores importantes, interagindo com mecanismos clássicos da doença e contribuindo para a perda progressiva da função neuronal.

A DA deve ser compreendida como o resultado da interação dinâmica entre múltiplos processos patológicos, incluindo acúmulo de proteínas anormais, disfunção sináptica, estresse oxidativo, neuroinflamação, alterações na neurotransmissão e comprometimento energético celular. Esses eventos convergem para a perda progressiva de neurônios e para a desorganização de circuitos neurais envolvidos na cognição.

Tais alterações manifestam-se de forma particularmente evidente em regiões cerebrais altamente especializadas e vulneráveis, como o hipocampo, cuja integridade estrutural e funcional é essencial para os processos de aprendizagem e memória, sendo, portanto, uma das principais regiões afetadas na progressão da DA.

2.1.3 Alterações hipocampus e cognitivas

O hipocampo é uma estrutura fundamental do sistema límbico, amplamente envolvida nos processos de aprendizagem e memória, especialmente na formação, organização e consolidação de novas memórias. Nesse contexto, circuitos hipocampus participam da formação dos chamados engramas de memória, os quais representam conjuntos dinâmicos de neurônios responsáveis pelo armazenamento e recuperação de informações, sendo essenciais para a conversão de memórias de curto prazo em memórias de longo prazo (Lazarov *et al.*, 2024). A neurogênese hipocampus adulta, particularmente no giro denteado, contribui para funções como aprendizado, memória e

discriminação de padrões, desempenhando papel relevante na flexibilidade cognitiva (Kim *et al.*, 2022; Farioli-Vecchioli *et al.*, 2022).

Na DA, o hipocampo está entre as primeiras estruturas cerebrais a apresentar alterações neuropatológicas. A degeneração se inicia no córtex entorrinal e progride para o hipocampo e outras regiões corticais, acompanhando o avanço clínico da doença (Reddy *et al.*, 2018). Esse processo está associado a uma perda neuronal acentuada e à presença de gliose, características consideradas marcadores centrais da neurodegeneração hipocampal na DA. Como consequência, observa-se comprometimento progressivo da memória, particularmente da memória de curto prazo (Rao *et al.*, 2022).

A atrofia hipocampal é uma das alterações estruturais mais consistentes na DA, sendo considerada um importante biomarcador de progressão e associada ao declínio cognitivo. Em pacientes com DA, essa atrofia ocorre de forma mais acentuada, com taxas anuais entre 3% e 5%, em contraste com aproximadamente 1% em indivíduos cognitivamente preservados (Woodward *et al.*, 2024).

Cabe destacar que o hipocampo não constitui uma estrutura homogênea, sendo composto por diferentes subcampos, como CA1, CA3, subículo, giro denteado (DG) e hilo, que apresentam distintas vulnerabilidades à neurodegeneração (Xiao *et al.*, 2023).

Essas regiões integram um circuito altamente organizado e funcionalmente interdependente, no qual alterações localizadas podem repercutir de forma ampla sobre os processos de codificação, armazenamento e evocação de memórias. Nesse contexto, a memória emerge da interação dinâmica entre o córtex entorrinal, o giro denteado, o CA3 e o CA1, compondo o circuito trisáptico clássico do hipocampo (Mather *et al.*, 2016; Jin; Maren, 2015).

Nesse circuito (Figura 2), o giro denteado atua na discriminação de padrões, o CA3 participa da formação de associações e o CA1 está envolvido na integração e consolidação das informações, evidenciando a especialização funcional dessas sub-regiões. O hilo exerce papel modulador importante por meio de suas conexões intrínsecas, influenciando a excitabilidade das células granulares e, conseqüentemente, o fluxo de informação no circuito hipocampal. Assim, alterações estruturais em qualquer um desses componentes pode

comprometer a dinâmica do circuito como um todo, contribuindo para déficits cognitivos.

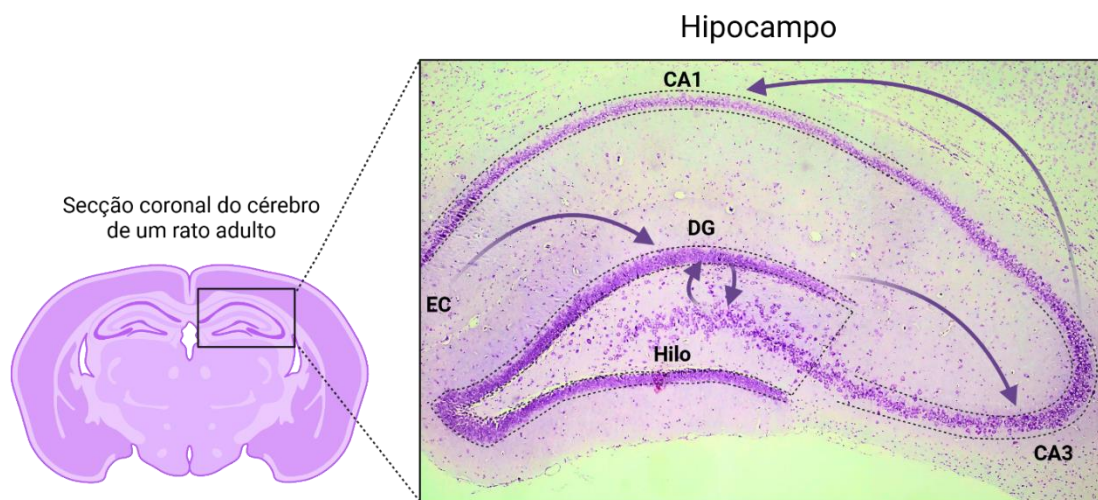


Figura 2. Esquema representativo do circuito hipocampal com ênfase no microcircuito dentado–CA3. À esquerda, representação esquemática do encéfalo de roedor indicando a localização do hipocampo no lobo temporal medial. À direita, fotomicrografia corada por violeta de cresil ilustrando as principais sub-regiões hipocâmpais: córtex entorrinal (EC), giro denteado (DG), hilo, CA3 e CA1 (Cornu Amonis 3 e 1). As setas indicam o fluxo predominante da informação no circuito trisáptico clássico ($EC \rightarrow DG \rightarrow CA3 \rightarrow CA1$), bem como as conexões intrínsecas do microcircuito hilar, incluindo projeções das células granulares para CA3 (fibras musgosas) e para o hilo, onde células musgosas modulam a excitabilidade das células granulares. Fonte: Elaborado pela autora (2026), com base na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

Estudos demonstram que regiões como CA1 e subículo estão entre as primeiras a apresentar redução de volume na DA, enquanto a progressão da doença leva ao comprometimento mais difuso de todas as sub-regiões hipocâmpais (Mueller *et al.*, 2007; Xiao *et al.*, 2023). Essas alterações estruturais refletem perda neuronal e redução da densidade sináptica, impactando diretamente a eficiência do processamento de informações no circuito hipocampal.

A morte neuronal no hipocampo na DA está associada à ativação de vias apoptóticas, caracterizadas por fragmentação de DNA e ativação de caspases, especialmente a caspase-3. O peptídeo A β pode induzir esse processo, contribuindo para a perda neuronal e para a progressão do comprometimento cognitivo (Ekundayo *et al.*, 2024).

Alterações na neurogênese hipocampal também têm sido descritas na DA. Evidências indicam redução da neurogênese adulta no giro denteado, mais especificamente na zona subgranular, tanto em pacientes quanto em modelos experimentais, o que pode contribuir para o comprometimento de funções cognitivas dependentes do hipocampo (Geigenmüller *et al.*, 2024).

Fatores associados à plasticidade neuronal, como o BDNF desempenham papel importante na manutenção da sobrevivência neuronal e na modulação sináptica. Alterações na expressão de BDNF têm sido descritas na DA e podem estar relacionadas ao comprometimento da função hipocampal (Farioli-Vecchioli *et al.*, 2022).

Nesse contexto, as alterações moleculares e estruturais observadas no hipocampo refletem diretamente em prejuízos funcionais, especialmente em processos de aprendizagem e memória. Assim, a avaliação comportamental em modelos experimentais torna-se fundamental para a caracterização desses déficits cognitivos e para a investigação de possíveis estratégias terapêuticas.

2.1.3. Testes cognitivos aplicados à modelos experimentais de DA

A avaliação de funções cognitivas em modelos experimentais de DA constitui uma abordagem essencial para a investigação dos déficits comportamentais associados à neurodegeneração e para a análise da eficácia de intervenções terapêuticas. Nesse contexto, testes comportamentais são amplamente empregados para mensurar diferentes domínios da memória e aprendizagem em roedores, destacando-se o teste de reconhecimento de objetos (Novel Object Recognition – NOR) e o labirinto aquático de Morris (Morris Water Maze – MWM).

O teste de reconhecimento de objetos foi originalmente descrito por Abdelkader Ennaceur e Jean Delacour (1988), sendo baseado na tendência natural dos roedores de explorar estímulos novos em detrimento de estímulos familiares, sem a necessidade de reforço externo. Trata-se de um teste comportamental simples e de baixa indução de estresse, amplamente utilizado para avaliar a memória de reconhecimento, considerada um subtipo da memória declarativa relacionada à identificação de estímulos previamente experienciados (Tropea *et al.*, 2022).

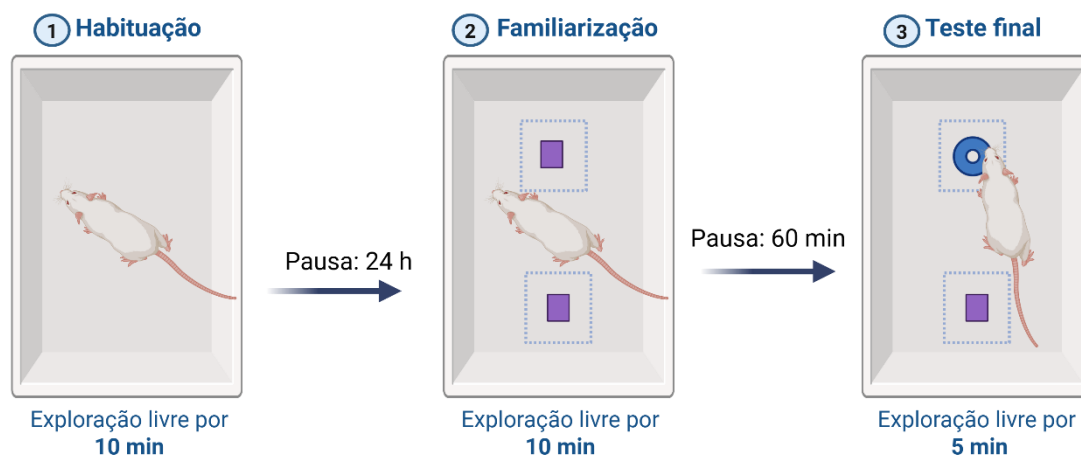


Figura 3. Teste de reconhecimento de objetos. 1) Habituação: Expor o animal ao ambiente de teste por 10 minutos no dia anterior ao experimento. 2) Familiarização: Exploração livre por 10 minutos, contabiliza-se o tempo gasto pelo animal para cada objeto. 3) Teste final: Exploração livre por 5 minutos, contabiliza-se o tempo gasto pelo animal para explorar o novo objeto em relação ao tempo de exploração total. **Fonte:** Elaborado pela autora (2026), com base na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

O teste envolve uma fase de familiarização com objetos idênticos, seguida de uma fase de teste, na qual um dos objetos é substituído por um novo, sendo o desempenho inferido a partir do tempo de exploração diferencial (Figura 3).

A versatilidade do NOR permite a avaliação de diferentes tipos de memória, incluindo memória de curto, médio e longo prazo, por meio da manipulação do intervalo de retenção entre as fases do teste (Tagliabata et al., 2009). Do ponto de vista neurobiológico, a tarefa envolve predominantemente circuitos do lobo temporal medial, com papel central do córtex perirrinal (Antunes; Biala, 2012), além da participação do hipocampo, córtex pré-frontal e tálamo (Warburton; Brown, 2015). Lesões nessas estruturas comprometem significativamente o desempenho na tarefa (Cohen et al., 2013), evidenciando sua relevância na investigação de alterações cognitivas associadas à DA.

Por sua vez, o labirinto aquático de Morris (MWM) (Figura 4) é amplamente utilizado para avaliar aprendizagem espacial e memória dependente do hipocampo. Nesse teste, os animais são inseridos em uma piscina circular contendo uma plataforma submersa, cuja localização deve ser aprendida com base em pistas espaciais externas. Ao longo de sucessivas tentativas, observa-se redução progressiva da latência e da distância percorrida até a plataforma, refletindo o processo de aquisição da memória espacial (Hernández-Mercado; Zepeda, 2022).

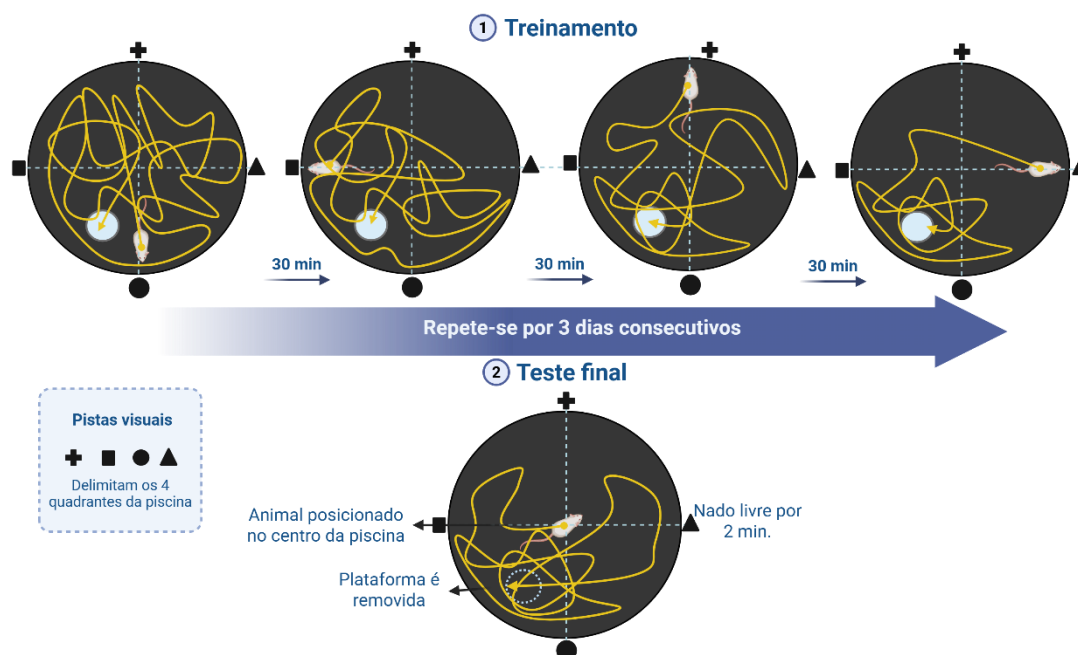


Figura 4. Labirinto Aquático de Morris. 1) Treinamento: Durante 3 dias consecutivos, com intervalo de 30 minutos o animal é colocado em cada quadrante da piscina, com o focinho voltado para a parede. Espera-se 60 segundos até que o animal encontre a plataforma espontaneamente, caso não encontre, recebe auxílio para encontrar a plataforma, onde permanece por 30 segundos. Nesta fase do teste a plataforma é fixa em um dos quadrantes. As pistas visuais indicam a delimitação dos quadrantes. 2) Teste final: a plataforma é removida e o animal colocado no centro da piscina, o nado livre é registrado por 2 minutos. **Fonte:** Elaborado pela autora (2026), com base na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

Além da fase de aprendizagem, o MWM inclui uma fase de teste de retenção (probe test), na qual a plataforma é removida, permitindo avaliar a memória espacial consolidada por meio do tempo gasto no quadrante-alvo e do número de cruzamentos na área onde a plataforma estava previamente localizada. Esse teste é altamente sensível a alterações na função hipocampal, estrutura criticamente envolvida na formação de memórias espaciais (Gil-Mohapel *et al.*, 2013).

Adicionalmente, o desempenho no MWM está associado a processos como consolidação da memória, flexibilidade cognitiva e estratégias de navegação, sendo influenciado pela neurogênese hipocampal adulta, especialmente no giro denteado (Berdugo-Vega *et al.*, 2021). Esses mecanismos estão intimamente relacionados à plasticidade sináptica e à potenciação de longa duração (LTP), fundamentais para a formação e manutenção de memórias de longo prazo (Jeffery; Morris, 1993).

2.1.4 Modelo experimental de DA induzido por Estreptozotocina

O modelo experimental de DA induzido por estreptozotocina intracerebroventricular (STZ-ICV) é amplamente utilizado na investigação de alterações cognitivas e neurodegenerativas associadas à forma esporádica da doença. A administração de STZ, geralmente na dose de 3 mg/kg, induz prejuízos cognitivos progressivos, acompanhados de alterações metabólicas, inflamatórias e estruturais no sistema nervoso central, sem provocar hiperglicemia periférica persistente (Grieb, 2016).

Os protocolos de indução por STZ-ICV apresentam considerável variabilidade quanto à dose, lateralidade e número de administrações. Revisão metodológica recente demonstrou que protocolos bilaterais múltiplos, totalizando dose cumulativa de 3 mg/kg, tendem a produzir alterações neurodegenerativas mais persistentes e reprodutíveis. Entretanto, protocolos unilaterais também são capazes de induzir déficits cognitivos, alterações metabólicas e desregulação molecular relevantes, sendo amplamente utilizados em estudos experimentais devido à menor complexidade cirúrgica e menor taxa de mortalidade associada ao procedimento (More et al., 2026).

Recentemente, uma revisão sistemática abrangendo 402 estudos experimentais consolidou a progressão temporal das alterações induzidas pela STZ-ICV, demonstrando que déficits cognitivos podem surgir nas primeiras 24 horas após a indução, enquanto alterações relacionadas à apoptose, estresse oxidativo, hiperfosforilação de tau e acúmulo de β -amiloide se desenvolvem progressivamente ao longo das semanas subsequentes (Leon-Arcia et al., 2026).

Embora tradicionalmente associado à indução de resistência insulínica cerebral, o modelo STZ-ICV envolve múltiplos mecanismos patofisiológicos. A estreptozotocina apresenta propriedades citotóxicas decorrentes de sua capacidade de alquilar o DNA, promovendo fragmentação do material genético e ativação da poli (ADP-ribose) polimerase (PARP), o que leva à depleção de NAD^+ e ATP e, conseqüentemente, à disfunção e morte celular (Yamamoto *et al.*, 1981; Abeti e Duchon, 2012).

Adicionalmente, a STZ atua como doadora intracelular de óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio (ERO), contribuindo para o estresse oxidativo, dano às membranas celulares e disfunção mitocondrial, o que intensifica processos neurodegenerativos. Esses mecanismos atuam de forma sinérgica na amplificação do dano celular (Lenzen, 2008).

No sistema nervoso central, a STZ interfere no metabolismo da glicose neuronal, possivelmente por meio da modulação de transportadores como GLUT1 e GLUT3, levando à redução da captação de glicose e comprometimento energético cerebral (Shah *et al.*, 2012; Yuliani *et al.*, 2021). Essa disfunção metabólica está associada à diminuição de metabólitos como UDP-GlcNAc, o que impacta processos de O-GlcNAcilação e favorece a hiperfosforilação da proteína tau, contribuindo para a formação de agregados tóxicos e prejuízo cognitivo (Wan Chik *et al.*, 2023).

A administração de STZ-ICV promove ativação de respostas neuroinflamatórias, caracterizadas pelo aumento da expressão de marcadores como a molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizado 1 (Iba-1) e a proteína ácida fibrilar glial (GFAP), indicativos de ativação microglial e astrocitária, respectivamente. Essas alterações são observadas em regiões como o hipocampo, incluindo giro denteado e áreas CA1 e CA3, e tendem a se intensificar ao longo do tempo após a administração da STZ (Marlatt *et al.*, 2014; Goud *et al.*, 2015). A ativação glial prolongada contribui para a liberação de citocinas pró-inflamatórias e pode interferir negativamente na neurogênese hipocampal.

Além da neuroinflamação, estudos recentes demonstram que a progressão temporal das alterações estruturais induzidas pela STZ pode variar entre diferentes regiões hipocampais. Niño-Rivera *et al.* (2025), utilizando protocolo STZ-ICV semelhante, observaram comprometimento progressivo da memória de reconhecimento associado ao aumento precoce da astrogliose, sem evidência de perda neuronal significativa mesmo em fases tardias do modelo. Esses achados sugerem que alterações funcionais e morfológicas podem preceder a neurodegeneração neuronal extensa, reforçando a complexidade temporal do modelo experimental.

Além disso, a STZ está associada à inibição da neurogênese, especialmente no giro denteado, por meio da redução da proliferação de células-

tronco neurais e da diminuição de fatores relacionados à plasticidade neuronal, como o BDNF (Bassani *et al.*, 2018). Essas alterações podem contribuir para déficits cognitivos e comprometimento da função hipocampal observados no modelo.

A disfunção da sinalização insulínica permanece como um componente relevante do modelo, sendo caracterizada por alterações na fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1), redução da ativação da proteína quinase B (Akt) e consequente desregulação de vias associadas à sobrevivência celular e plasticidade neuronal (Lester-Coll *et al.*, 2006; Sims-Robinson *et al.*, 2015). Tais alterações fazem parte de um conjunto mais amplo de eventos que incluem estresse oxidativo, neuroinflamação, disfunção metabólica e morte celular

Diante desse cenário complexo, torna-se evidente a necessidade de abordagens terapêuticas capazes de atuar de forma integrada sobre múltiplos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na doença.

2.1.5. Alternativas terapêuticas

As estratégias terapêuticas para a DA têm evoluído ao longo das últimas décadas, refletindo a complexidade multifatorial de sua etiologia e fisiopatologia. De maneira geral, essas abordagens podem ser agrupadas em terapias farmacológicas sintomáticas, intervenções não farmacológicas e estratégias emergentes voltadas à modulação de múltiplos alvos moleculares (Scarano *et al.*, 2025).

No que se refere às abordagens farmacológicas, os tratamentos atualmente aprovados são predominantemente sintomáticos e baseiam-se na modulação de sistemas de neurotransmissão. Os inibidores da acetilcolinesterase, como donepezil, rivastigmina e galantamina, aumentam a disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica, promovendo melhora cognitiva e podendo influenciar indiretamente a produção de A β , devido à relação da AChE com a regulação da presenilina-1, componente da γ -secretase (Cacabelos *et al.*, 2016).

Outra abordagem farmacológica relevante baseia-se na modulação do sistema glutamatérgico. A excitotoxicidade induzida pelo excesso de glutamato

está associada à morte neuronal na DA, o que levou ao desenvolvimento de antagonistas do receptor NMDA, como a memantina. Esse fármaco apresenta efeito pró-cognitivo moderado em estágios moderados a graves da doença, embora sua eficácia seja limitada em fases iniciais (McShan *et al.*, 2019). Estratégias adicionais incluem a modulação de transportadores de glutamato, como o GLT-1, com o objetivo de reduzir a excitotoxicidade e restaurar a homeostase sináptica (Peterson; Binder, 2019).

Nos últimos anos, terapias modificadoras da doença baseadas em anticorpos monoclonais direcionados ao peptídeo A β têm sido desenvolvidas com o objetivo de reduzir a carga amiloide cerebral. Esses agentes promovem a remoção de agregados de A β e podem desacelerar o declínio cognitivo em estágios iniciais da doença (Das, 2026). No entanto, revisões sistemáticas indicam que esses benefícios são modestos e frequentemente não atingem relevância clínica significativa (Ebell *et al.*, 2024). Além disso, estão associados a eventos adversos, especialmente anormalidades relacionadas à imagem amiloide, como edema cerebral e micro-hemorragias, o que limita sua aplicabilidade clínica (da Silva *et al.*, 2026; Nonino *et al.*, 2026).

Há um interesse no desenvolvimento de terapias multialvo, capazes de atuar simultaneamente em diferentes vias envolvidas na patogênese da doença. Compostos que combinam a inibição da acetilcolinesterase com a modulação de outras enzimas, como a monoamina oxidase B (MAO-B) ou a glicogênio sintase quinase-3 beta (GSK-3 β), têm demonstrado potencial promissor em modelos experimentais, embora resultados clínicos ainda sejam limitados (Schneider *et al.*, 2019; Jiang *et al.*, 2020).

Adicionalmente, abordagens terapêuticas direcionadas a outros mecanismos fisiopatológicos vêm sendo investigadas, incluindo a modulação da sinalização do cálcio, com o uso de bloqueadores de canais de cálcio, e estratégias voltadas à redução da neuroinflamação e do estresse oxidativo (Calvo-Rodriguez *et al.*, 2020). Apesar dos avanços, a eficácia dessas intervenções ainda é variável.

As intervenções não farmacológicas também desempenham papel relevante no manejo da DA, especialmente nas fases iniciais. O treinamento cognitivo tem sido amplamente utilizado com o objetivo de reduzir prejuízos funcionais e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Protocolos

multicomponentes que incluem estimulação cognitiva, interação social e atividades recreativas demonstram efeitos positivos na redução do declínio cognitivo, particularmente em indivíduos com comprometimento cognitivo leve ou demência em estágios iniciais (Scarano *et al.*, 2025).

A atividade física também se destaca como um fator protetor importante, sendo associada à melhora de parâmetros cognitivos, sobretudo quando combinada a outras intervenções comportamentais (Brasure *et al.*, 2018). Nesse contexto, evidências recentes indicam que o exercício aeróbico, especialmente, pode representar uma estratégia eficaz para melhorar a cognição global e a qualidade de vida em idosos com DA, reforçando seu potencial terapêutico como intervenção complementar (Hu *et al.*, 2025).

Por fim, no âmbito nutricional, evidências indicam que padrões alimentares saudáveis podem exercer efeitos benéficos sobre a progressão da doença. Dietas ricas em frutas, vegetais, grãos integrais, peixes e azeite estão associadas à redução de inflamação, estresse oxidativo e disfunções metabólicas, enquanto dietas ricas em gorduras saturadas e açúcares simples contribuem para o agravamento desses processos (Doroszkievicz *et al.*, 2023).

Estudos clínicos também sugerem que intervenções dietéticas específicas, como a dieta mediterrânea enriquecida com óleo de coco, podem promover melhora em domínios cognitivos como memória episódica, orientação temporal e memória semântica, embora esses efeitos variem conforme o sexo e a gravidade da doença (de la Rubia Ortí *et al.*, 2018).

Nesse contexto, tem-se observado um crescente interesse na investigação de compostos bioativos de origem natural, capazes de modular simultaneamente diferentes vias envolvidas na fisiopatologia da DA. Essas substâncias apresentam propriedades pleiotrópicas, atuando sobre processos como neuroinflamação, estresse oxidativo, disfunção sináptica e morte neuronal, o que as torna promissoras no desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais integrativas.

2.2. Espermidina

2.2.1. Caracterização e papel biológico da espermidina

Substâncias bioativas presentes na alimentação têm despertado crescente interesse por seu potencial de modular processos associados ao envelhecimento e à função celular. Entre essas, destaca-se a ESP, uma poliamina de ocorrência natural amplamente distribuída em organismos vivos e encontrada em diversos alimentos, especialmente de origem vegetal e produtos fermentados (Madeo *et al.*, 2020).

Trata-se de uma molécula essencial para a manutenção da homeostase celular, desempenhando funções relevantes na regulação da integridade estrutural e funcional das células, incluindo aquelas do sistema nervoso central (Muñoz *et al.*, 2019).

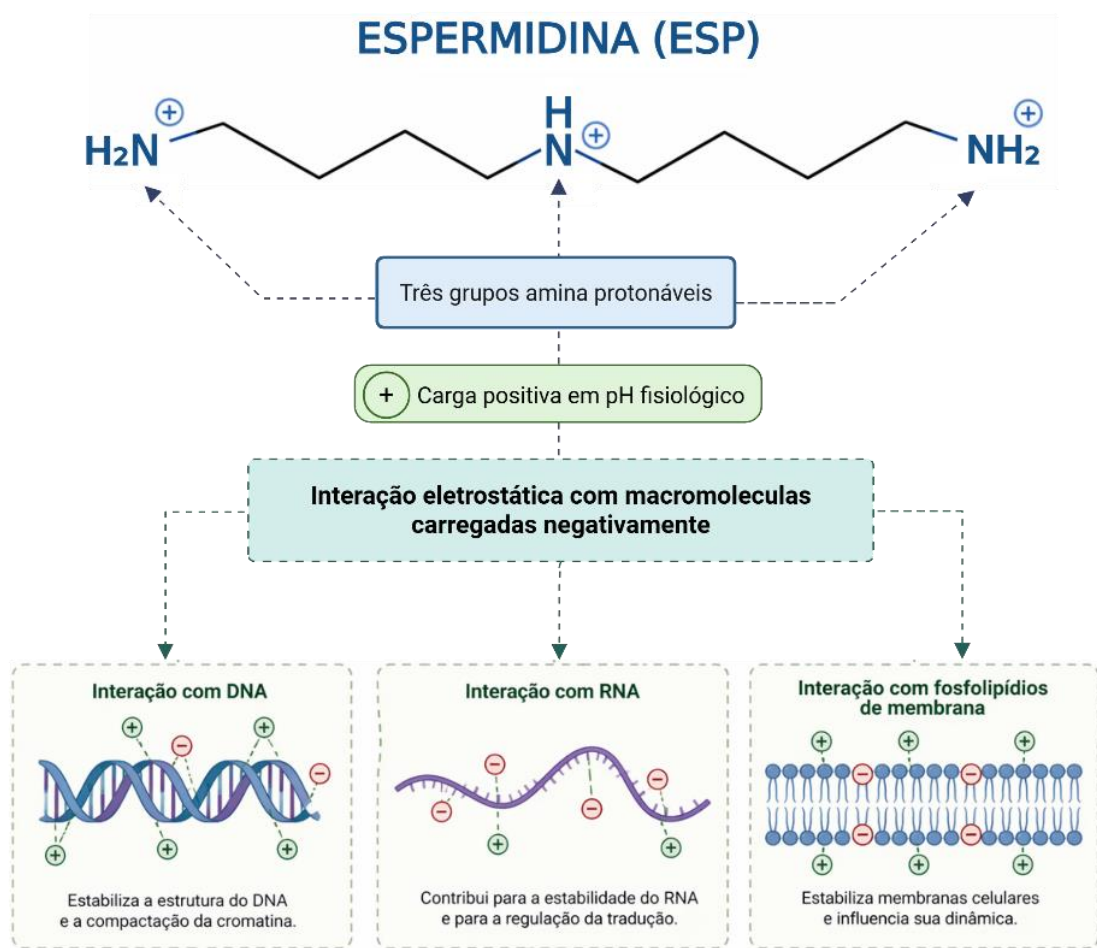


Figura 5. Estrutura química da espermidina (ESP) e suas propriedades bioquímicas. A molécula apresenta três grupos amina protonáveis, conferindo carga positiva em pH fisiológico, o que permite sua interação eletrostática com macromoléculas carregadas negativamente, como DNA, RNA e fosfolipídios de membrana. Essas interações contribuem para a estabilização estrutural de ácidos nucleicos, compactação da cromatina, regulação da tradução e manutenção da integridade e dinâmica das membranas celulares. **Fonte:** Elaborado pela autora (2026), com base na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

Do ponto de vista químico (Figura 5), a ESP é uma poliamina de baixo peso molecular, amplamente distribuída em organismos vivos, caracterizada pela presença de três grupos amina protonáveis, que conferem carga positiva em pH fisiológico. Essa característica estrutural permite sua interação eletrostática com macromoléculas carregadas negativamente, como DNA, RNA e fosfolipídios de membrana, contribuindo para a estabilização dessas estruturas e para a regulação de processos celulares fundamentais (Zou et al., 2022).

A biossíntese da ESP (Figura 6) ocorre por meio da transferência de grupos aminopropil catalisada por enzimas da família das aminopropiltransferases, que utilizam a S-adenosilmetionina descarboxilada (dcAdoMet) como doadora de aminopropil, sendo esse processo essencial para o crescimento, viabilidade e função celular em organismos eucarióticos (Wu et al., 2007). A relevância biológica das poliaminas é reforçada por evidências experimentais que demonstram que alterações em sua síntese estão associadas a comprometimentos no desenvolvimento e na função celular, incluindo alterações neurológicas (Wang et al., 2004).

Do ponto de vista funcional, a ESP apresenta caráter pleiotrópico, participando da regulação da síntese proteica, da estabilidade de ácidos nucleicos e da manutenção da integridade celular. Além disso, está associada à modulação do metabolismo energético e à preservação da função mitocondrial, contribuindo para o equilíbrio celular em diferentes contextos fisiológicos (Madeo et al., 2018).

A concentração de poliaminas, especialmente da ESP, é rigidamente regulada e considerada fundamental para o funcionamento adequado do sistema nervoso. Evidências experimentais indicam que essas moléculas são essenciais para processos celulares básicos, uma vez que alterações em sua síntese estão associadas a prejuízos no desenvolvimento, crescimento e função neurológica (Wang et al., 2004).

SÍNTESE DA ESPERMIDINA

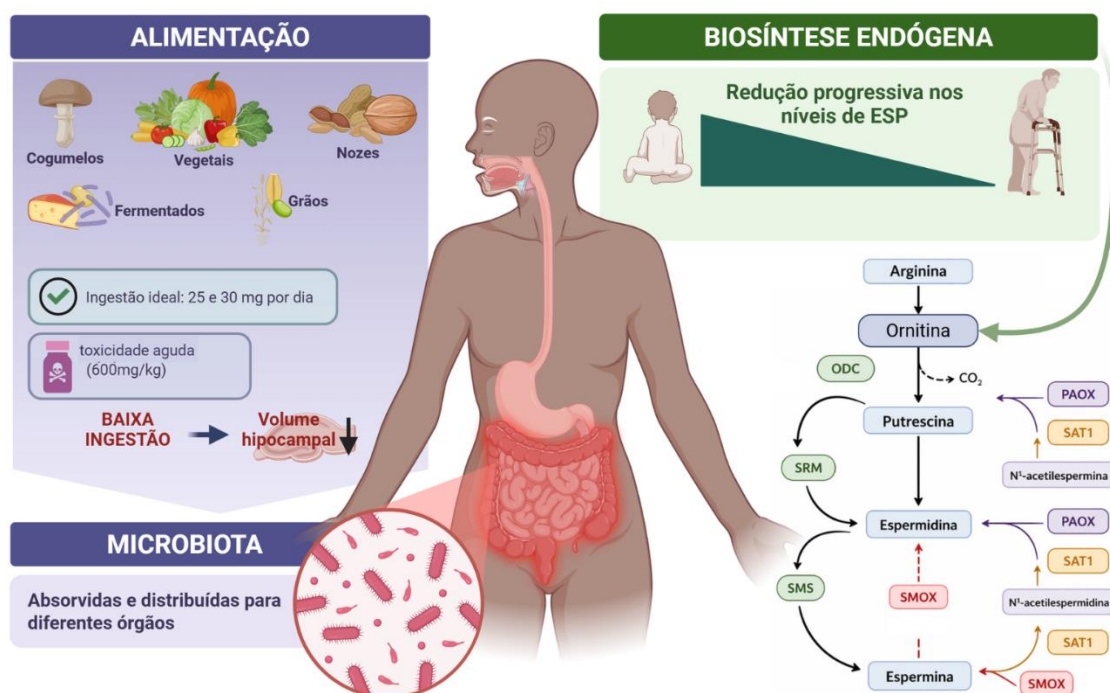


Figura 6. Principais vias de obtenção e metabolismo da espermidina (ESP). A ESP pode ser adquirida por meio da alimentação, estando presente em alimentos como cogumelos, vegetais, nozes, grãos e produtos fermentados, além de ser produzida pela microbiota intestinal e absorvida pelo organismo. Paralelamente, a biossíntese endógena ocorre a partir da arginina, com formação de ornitina e putrescina, culminando na produção de espermidina e espermina por meio da ação de enzimas como ornitina descarboxilase (ODC), espermidina sintase (SRM) e espermina sintase (SMS). O metabolismo das poliaminas também envolve vias de acetilação e oxidação, mediadas por enzimas como SAT1, PAOX e SMOX. Destaca-se ainda a redução progressiva dos níveis endógenos de espermidina ao longo do envelhecimento. **Fonte:** Elaborado pela autora (2026), com base na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

Ao longo do envelhecimento, observa-se uma redução progressiva nos níveis de ESP, tanto em modelos animais quanto em humanos, estando essa diminuição associada a alterações na plasticidade neuronal, comprometimento da rede neural e maior vulnerabilidade celular (Pekar *et al.*, 2020).

Em humanos, a ingestão dietética de ESP está positivamente relacionada a parâmetros estruturais cerebrais, como volume hipocampal e espessura cortical média, sugerindo um papel relevante dessa poliamina na manutenção da integridade cerebral durante o envelhecimento (Schwarz *et al.*, 2020).

Em mamíferos, os níveis de ESP resultam da interação entre diferentes fontes e processos metabólicos, incluindo biossíntese endógena, ingestão dietética e produção pela microbiota intestinal. No trato gastrointestinal, as poliaminas derivam principalmente da alimentação e da atividade microbiana,

sendo posteriormente absorvidas e distribuídas para diferentes órgãos (Madeo *et al.*, 2020). A biossíntese endógena ocorre a partir da ornitina, com formação sequencial de putrescina, ESP e espermina, enquanto processos catabólicos contribuem para sua regulação dinâmica no organismo.

A ingestão alimentar representa uma fonte relevante de ESP, sendo particularmente elevada em alimentos de origem vegetal e fúngica. Produtos integrais, leguminosas, vegetais, cogumelos, nozes e sementes apresentam concentrações significativas dessa poliamina, com destaque para o gérmen de trigo, a soja e determinados cogumelos (Atiya Ali *et al.*, 2011). Além disso, processos de fermentação podem aumentar o conteúdo de amins biológicas nos alimentos, contribuindo para a ingestão dietética de ESP (Yankah *et al.*, 1993).

A ingestão diária de ESP varia de acordo com padrões alimentares e contextos culturais, podendo atingir valores mais elevados em dietas específicas, como a dieta mediterrânea, que apresenta maior teor dessa poliamina em comparação a outros padrões alimentares (Bardócz, 1995). Estimativas sugerem ingestões médias entre 25 e 30 mg por dia em dietas consideradas saudáveis, embora esses valores possam variar conforme hábitos alimentares individuais (Atiya Ali *et al.*, 2011).

No presente estudo, a dose utilizada de ESP foi de 50 mg/kg, inferior ao nível sem efeito adverso observado (NOAEL) de aproximadamente 83 mg/kg/dia descrito por Til *et al.* (1997) em ratos Wistar. Embora a ESP apresente toxicidade aguda moderada em doses elevadas, com DL50 oral aproximada de 600 mg/kg, no estudo subcrônico conduzido por esses autores foi observado um perfil de segurança mais favorável, indicando que a dose empregada neste estudo se encontra abaixo da faixa associada a efeitos adversos relevantes.

Com o envelhecimento, a redução da biossíntese endógena torna a ingestão dietética e a contribuição da microbiota intestinal particularmente relevantes para a manutenção dos níveis sistêmicos de ESP. Portanto, estratégias como suplementação alimentar ou consumo de alimentos enriquecidos têm sido propostas como alternativas para aumentar sua disponibilidade no organismo (Madeo *et al.*, 2020).

Além de seu papel no sistema nervoso, a ESP apresenta efeitos sistêmicos relevantes, estando associada à modulação de processos

inflamatórios, metabólicos e cardiovasculares. Estudos experimentais indicam que essa poliamina pode contribuir para a redução de marcadores inflamatórios, como TNF- α , e para a melhora de parâmetros metabólicos, incluindo redução da adiposidade e melhora da tolerância à glicose (Kibe *et al.*, 2014; Sadasivan *et al.*, 2014).

Estudos epidemiológicos, observacionais e experimentais apontam que níveis adequados de espermidina estão associados à melhora de parâmetros cognitivos, aumento da expectativa de vida e atenuação de alterações relacionadas ao envelhecimento (Wirth *et al.*, 2018). Em modelos experimentais, incluindo *Drosophila melanogaster*, esses efeitos têm sido relacionados à manutenção da homeostase celular, ao aumento da resistência ao estresse e à preservação da integridade neuronal (Gupta *et al.*, 2013; Schroeder *et al.*, 2021).

Evidências translacionais recentes reforçam esse potencial neuroprotetor. Em revisão abrangendo 22 estudos observacionais e de intervenção, Yu *et al.* (2025) observaram associação consistente entre maiores níveis de espermidina e melhor desempenho cognitivo em populações idosas. Além disso, estudos de suplementação indicaram benefícios cognitivos particularmente em indivíduos com comprometimento cognitivo subjetivo e demência, embora ainda sejam necessários estudos clínicos mais robustos para estabelecer protocolos padronizados de dose e duração do tratamento.

2.2.2. Mecanismos moleculares e efeitos neuroprotetores

Os mecanismos moleculares associados à ESP envolvem a modulação integrada de processos celulares fundamentais, incluindo autofagia, plasticidade sináptica, inflamação e metabolismo energético, os quais estão diretamente relacionados à manutenção da função neuronal e à prevenção da neurodegeneração (Figura 7).

A modulação da plasticidade sináptica constitui um dos efeitos relevantes da ESP no sistema nervoso central. A fosforilação da subunidade GluA1 do receptor Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA), por exemplo, é essencial para a transmissão sináptica e para a formação de memória dependente do hipocampo (Fortin *et al.*, 2010). Em modelos experimentais de DA, a administração de ESP foi capaz de restaurar a

fosforilação de GluA1 previamente comprometida, contribuindo para a reversão de déficits cognitivos e sinápticos (Risi *et al.*, 2020).

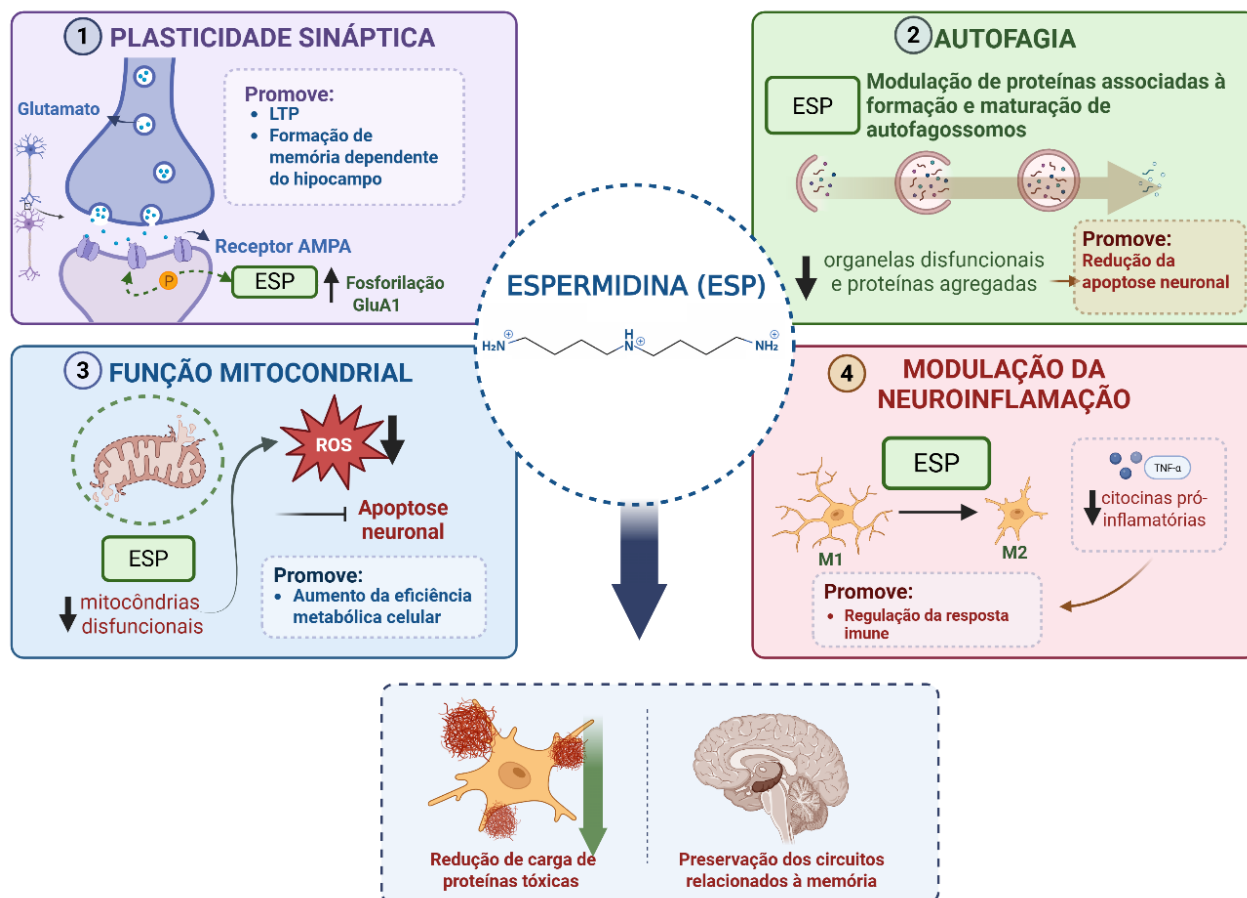


Figura 7 – Principais mecanismos moleculares e efeitos neuroprotetores da espermidina (ESP) no sistema nervoso central. A ESP atua na modulação da plasticidade sináptica por meio do aumento da fosforilação da subunidade GluA1 de receptores Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA), favorecendo processos como potenciação de longa duração (LTP) e formação de memória dependente do hipocampo. Adicionalmente, induz a autofagia, promovendo a remoção de proteínas agregadas e organelas disfuncionais, com consequente redução da apoptose neuronal. A ESP também melhora a função mitocondrial, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e aumentando a eficiência metabólica celular. Além disso, exerce efeitos imunomoduladores, favorecendo a polarização microglial para o fenótipo anti-inflamatório (M2) e reduzindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Em conjunto, esses mecanismos contribuem para a redução de cargas proteicas tóxicas e preservação dos circuitos neurais associados à memória.
Fonte: Elaborado pela autora (2026), com base na literatura discutida ao longo deste capítulo. Criado com BioRender.com.

Dentre os mecanismos celulares envolvidos, a indução da autofagia destaca-se como um dos principais eixos de ação da ESP. A autofagia é um processo essencial para a manutenção da homeostase celular, promovendo a remoção de organelas disfuncionais e proteínas agregadas. Evidências indicam que a capacidade pró-autofágica da ESP está associada à manutenção da

função neuronal e à proteção contra processos neurodegenerativos relacionados à apoptose (Frake *et al.*, 2015). De forma integrada, a ativação de vias autofágicas pela ESP envolve a modulação de proteínas associadas à formação e maturação de autofagossomos, além de influenciar a dinâmica mitocondrial e o metabolismo energético celular (Xu *et al.*, 2020; Freitag *et al.*, 2022).

A regulação da função mitocondrial constitui outro componente importante dos efeitos da ESP que pode induzir processos como a mitofagia, favorecendo a remoção de mitocôndrias disfuncionais e contribuindo para a manutenção da integridade celular. Esse efeito está associado à redução da produção de espécies reativas de oxigênio e à prevenção da ativação de vias de morte celular (Eisenberg *et al.*, 2016).

Além disso, a ESP exerce efeitos relevantes sobre a modulação da resposta inflamatória. Em modelos experimentais, a administração dessa poliamina está associada à redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e outras moléculas envolvidas na resposta neuroimune, sugerindo um papel importante na regulação da inflamação crônica (Kibe *et al.*, 2014). A modulação da atividade microglial também tem sido descrita como um dos mecanismos envolvidos nesse efeito, contribuindo para o equilíbrio do ambiente neuroinflamatório (Patel; Anchordoquy, 2006).

No contexto da patologia amiloide, o estudo de Freitag e colaboradores (2022) em modelo experimental murino demonstrou que a administração de ESP pode reduzir os níveis de A β solúvel e atenuar a neuroinflamação associada à doença. Considerando que as formas solúveis de A β apresentam elevada toxicidade sináptica, esses achados reforçam o potencial da ESP na modulação de eventos precoces da neurodegeneração.

Outro aspecto relevante refere-se à biodisponibilidade da ESP no sistema nervoso central. Embora sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica ainda não esteja completamente elucidada, estudos experimentais indicam que a ESP pode atingir o cérebro por meio de mecanismos específicos de transporte, ainda que em níveis relativamente limitados, o que sugere a necessidade de investigações adicionais sobre sua farmacocinética e distribuição tecidual (Guerra *et al.*, 2016; Diler *et al.*, 2002).

Além de seus efeitos no sistema nervoso central, a ESP também atua na modulação da homeostase metabólica sistêmica. Evidências experimentais

demonstram que essa poliamina está associada à melhora da tolerância à glicose, redução da adiposidade e modulação do metabolismo energético, efeitos que podem contribuir indiretamente para a proteção contra alterações metabólicas relacionadas à neurodegeneração (Sadasivan *et al.*, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da ESP sobre alterações comportamentais, histológicas, moleculares e metabólicas em modelo experimental de DA.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar déficits cognitivos associados ao modelo experimental de DA, com ênfase em processos de aprendizagem e memória dependentes do hipocampo;
- Investigar alterações histomorfométricas hipocampais, com foco na integridade estrutural e na celularidade.
- Avaliar a expressão gênica hipocampal de BDNF e CASP3 como marcadores de neurotrofia e apoptose.
- Avaliar alterações metabólicas periféricas associadas ao modelo experimental de DA.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais de experimentação

Foram utilizados 31 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar. A indução experimental foi realizada quando os animais apresentavam cerca de 90 dias de idade, com peso médio de 400 g. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), umidade relativa ($55 \pm 10\%$) e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso à água e ração padrão (Nuvilab®, Nuvital). Foram alojados em grupos de 3–4 animais por gaiola de polycarbonato. Antes do início dos procedimentos experimentais, os ratos foram aclimatados por um período de 1 semana, com o objetivo de reduzir o estresse ambiental. Além disso, foi fornecido enriquecimento ambiental, por meio de material de ninho (*cotton nesting material*). Todos os procedimentos seguiram as normas éticas para experimentação animal de acordo com a SBCAL e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMA), sob protocolo nº 23115.006182/2023-35.

4.2 Modelo de indução da Doença de Alzheimer

A DA foi induzida experimentalmente por administração intracerebroventricular (ICV) de STZ, modelo amplamente validado para o estudo de alterações cognitivas e metabólicas associadas à neurodegeneração (Grieb, 2016; Silva *et al.*, 2024).

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com uma solução contendo midazolam (5 mg/mL), dexmedetomidina (100 µg/mL) e tramadol (50 mg/mL), sendo a manutenção do plano anestésico realizada com isoflurano a 2% em máscara. Durante todo o procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos a monitoramento dos parâmetros vitais, incluindo frequência cardíaca. Após a obtenção de plano anestésico adequado, os animais foram posicionados em aparelho estereotático (Kopf, EUA). A região dorsolateral da cabeça foi tricotomizada, seguida de incisão longitudinal no escalpe para exposição do bregma, que foi utilizado como ponto de referência para a determinação das coordenadas estereotáticas (Figura 8).

As coordenadas estereotáticas foram definidas com base no Atlas de Paxinos e Watson (2006): anteroposterior +0,2 mm; mediolateral +1,0 mm;

dorsoventral $-2,3$ mm, para inoculação unilateral no ventrículo lateral direito.

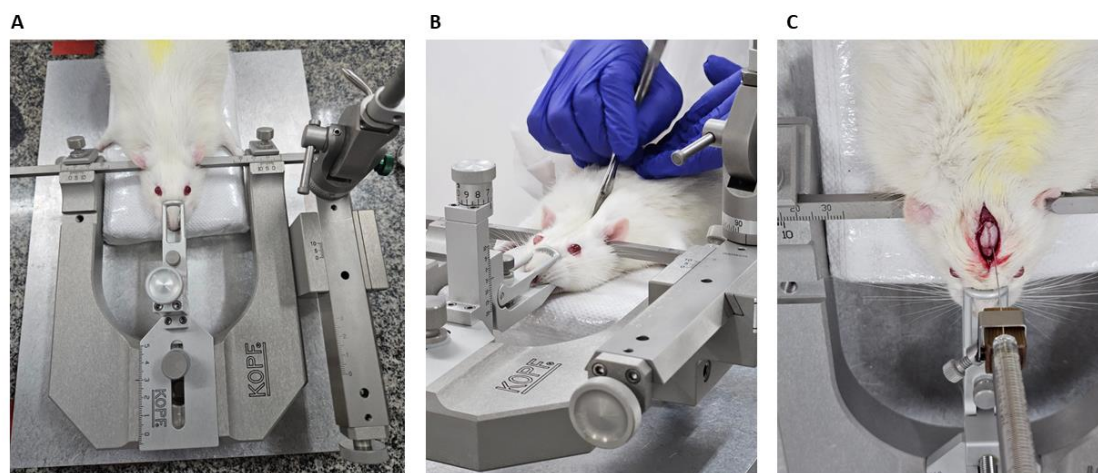


Figura 8 – Procedimento de acesso cirúrgico para administração intracerebroventricular. (A) Animal posicionado e fixado no aparelho estereotáxico; (B) realização da incisão na região craniana para exposição do osso; (C) visualização da calvária após a incisão, utilizada como referência para determinação das coordenadas estereotáxicas. **Fonte:** Registros do procedimento realizados pela autora (2026).

Após a marcação do ponto de perfuração, o crânio foi perfurado com broca de baixa rotação (broca carbide, fresa de carbeto PM 10, Angelus®, Prima Dental), e a administração foi realizada com o uso de microseringa Hamilton® de 3 μ L. Foram injetados citrato de sódio a 1% (pH 4,2; veículo) ou STZ (3 mg/kg, dissolvida no veículo), de acordo com os grupos experimentais descritos a seguir.

Ao término do procedimento cirúrgico, os animais receberam reversão anestésica com atipamezol por via intramuscular, além de suporte com oxigênio até a recuperação do reflexo de endireitamento. A incisão cutânea foi devidamente suturada e o local da cirurgia higienizado com solução de clorexidina.

No pós-operatório imediato, os animais foram mantidos sob aquecimento em gaiola apropriada, com monitoramento contínuo dos sinais de dor e da temperatura corporal. Foi administrada glicose a 50% por via sublingual e solução de Ringer com lactato (2 mL, via subcutânea) para suporte metabólico e hidratação. Para analgesia, foi administrado cloridrato de tramadol (10 mg/kg, via intramuscular), duas vezes ao dia, nos dois dias subsequentes ao procedimento.

4.3 Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos em três grupos (n=10-11 animais/grupo):

- **Grupo controle (CTR):** recebeu administração intracerebroventricular (ICV) de veículo (dose única) e, posteriormente, água ultrapura por via oral (V.O.; gavagem), diariamente, por 21 dias;
- **Grupo Doença de Alzheimer (DA):** recebeu STZ por via intracerebroventricular (ICV), em dose única, para indução do modelo experimental, e, posteriormente, água ultrapura por via oral (V.O.; gavagem), diariamente, por 21 dias;
- **Grupo Espermidina (ESP):** recebeu STZ por via intracerebroventricular (ICV), em dose única, para indução do modelo experimental, seguido da administração diária de espermidina (50 mg/kg; V.O.; gavagem) por 21 dias.

A abordagem experimental encontra-se ilustrada no esquema abaixo:

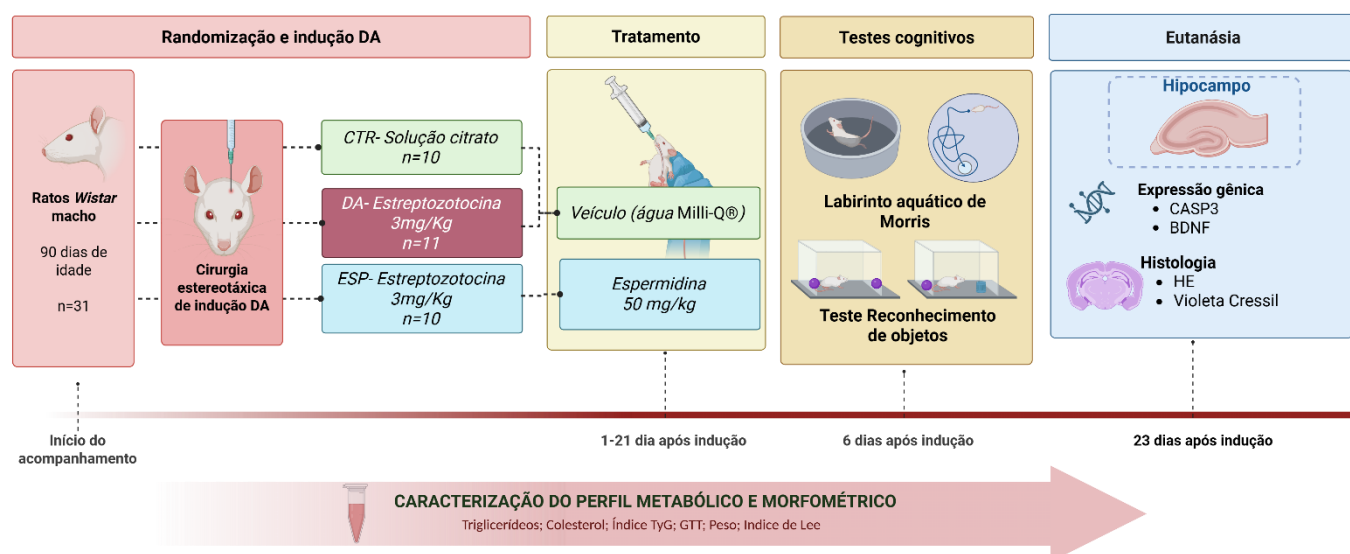


Figura 9. Desenho experimental do estudo. Ratos Wistar (90 dias de idade, n=31) foram randomizados em três grupos experimentais: CTR (solução citrato, via ICV, n=10), DA (estreptozotocina 3 mg/kg, via ICV, n=11) e ESP (estreptozotocina 3 mg/Kg, via ICV, n=10). Após a cirurgia estereotáxica para indução de DA, os animais iniciaram o tratamento diário via gavagem de veículo (água ultrapura), grupos CTR E DA, ou de Espermidina (50 mg/kg), grupo ESP. Os testes Cognitivos iniciaram-se no 6º dia após a indução, Na eutanásia, ocorrida no 23º dia foram coletadas dos animais o cérebro a fresco para realização do PCR e parafinizado para histologia. Parâmetros morfométricos e metabólicos foram monitorados ao longo do tratamento. **Fonte:** Elaborado pela autora (2026). Criado com BioRender.com.

4.4 Testes comportamentais

4.4.1 Teste de reconhecimento de objetos

5 dias após a cirurgia de indução, foi realizado o teste de reconhecimento de objetos para avaliação de memória episódica (Ennaceur, Meliani, 1992).

O protocolo é dividido em três etapas: habituação, familiarização e teste. Durante a habituação, os animais foram inseridos individualmente em uma caixa idêntica à utilizada nas etapas seguintes e mantidos por 5 minutos para livre exploração. Após 24 horas, na fase de familiarização, os animais foram introduzidos individualmente no centro da caixa, contendo dois objetos idênticos em cantos opostos, com tempo de exploração de 10 minutos contabilizado. Uma hora após, ocorreu o teste de reconhecimento propriamente dito, no qual um dos objetos foi substituído por um novo, e o tempo de exploração do objeto novo em relação ao tempo total foi registrado.

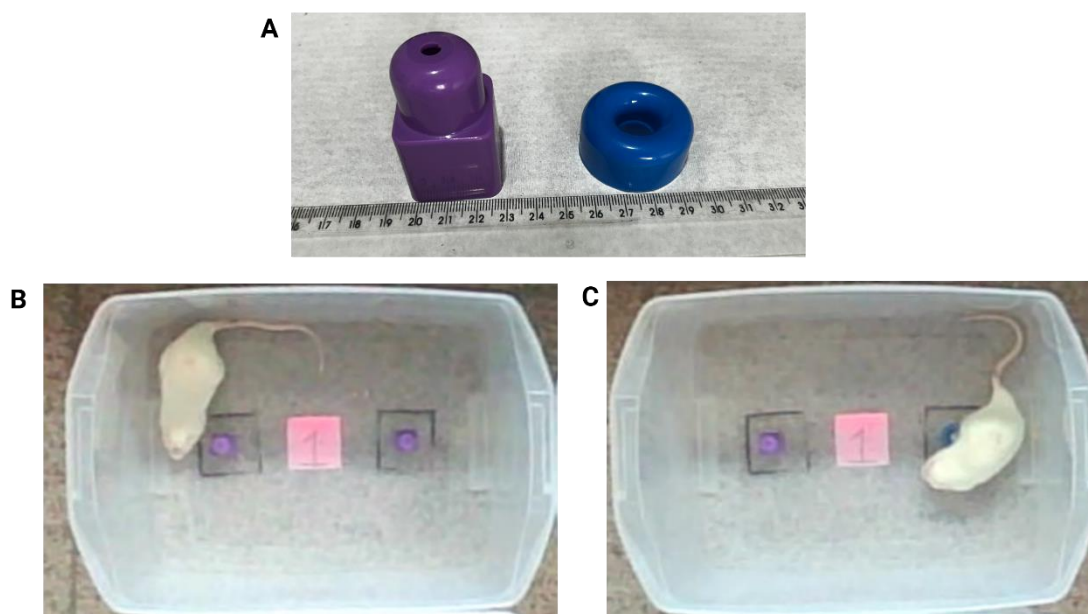


Figura 10 – Metodologia do Reconhecimento de Objetos. A) Objetos utilizados no reconhecimento. B) Familiarização com objetos idênticos. C) Teste final com a introdução de um objeto diferente. **Fonte:** Registros do teste realizados pela autora (2026).

4.4.2 Teste do labirinto aquático de Morris

Com 1 semana de tratamento, os animais foram submetidos ao teste do labirinto aquático, que avalia memória espacial dependente do hipocampo (Morris, 1984). O teste foi realizado em uma piscina circular (1,2 m de diâmetro; água a 22 °C) dividida em quatro quadrantes, com plataforma submersa fixa 2 cm abaixo do nível da água e dividido em duas fases: a primeira, a fase de avaliação da capacidade de aprendizado (3 dias) e, por último, a fase de avaliação da memória.

Para aprendizado, os animais nadaram até localizar a plataforma (tempo máximo de 2 minutos), sendo mantidos sobre ela por 30 s; aqueles que não localizaram foram conduzidos à plataforma.

A média da latência nos três dias consecutivos de treinamento foi calculada. No quarto dia, a consolidação de memória foi avaliada retirando a plataforma e registrando o tempo de permanência no quadrante originalmente contendo a plataforma (Morris, 1984). A análise dos parâmetros comportamentais foi realizada por meio do software ToxTrac (versão 1.1, 2025), permitindo quantificação de latência, distância percorrida, velocidade média e padrão de deslocamento (Rodrigues *et al.*, 2018).

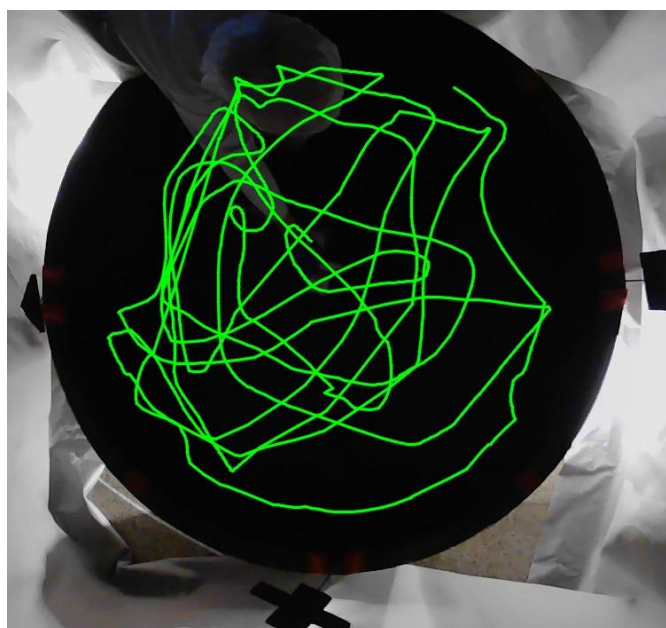


Figura 11 – Metodologia do Labirinto Aquático de Morris. Registro fotográfico da piscina utilizada no experimento e representação do percurso dos animais obtida por meio do software ToxTrac. **Fonte:** Registros do teste realizados pela autora (2026).

4.5 Expressão gênica por qPCR

Os hipocampus isolados foram rapidamente dissecados, congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C até o processamento. A extração do RNA total foi realizada utilizando o reagente Trizol[®] (Invitrogen), de acordo com as instruções do fabricante. A concentração e a pureza do RNA foram determinadas em NanoDrop (Thermofisher), e amostras com razão A260/A280 adequada foram utilizadas para síntese de cDNA.

A transcrição reversa foi realizada a partir de 3 µg de RNA total, utilizando a enzima SuperScript™ II Reverse Transcriptase (Invitrogen), conforme protocolo recomendado pelo fabricante. As reações de PCR em tempo real (qPCR) foram conduzidas na presença de Platinum™ SYBR™ Green qPCR SuperMix-UDG (Invitrogen) e primers específicos para cada gene de interesse.

As condições de amplificação consistiram em um holding stage inicial de 2 minutos a 50 °C, seguido de 2 minutos a 95 °C. Em seguida, foram realizados 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 10 segundos (cycling stage). Ao final da amplificação, foi realizada a análise da curva de dissociação (melting curve), com incubação de 15 segundos a 95 °C, 1 minuto a 60 °C e novamente 15 segundos a 95 °C, a fim de confirmar a especificidade dos amplicons.

Os primers foram desenhados utilizando o software Primer Express® (Applied Biosystems) com base nas sequências depositadas no banco de dados NCBI (RefSeq) e customizados pela Invitrogen (Brasil). Foram avaliados genes relacionados à apoptose e neurotrofismo, incluindo: CASP3 (NM_012922) e BDNF (NM_012513).

A expressão gênica relativa foi determinada pelo método de $2^{-\Delta\Delta CT}$, conforme descrito por Livak e Schmittgen (2001), utilizando RPL13A e GAPDH como genes constitutivos (*housekeeping*) para normalização dos dados.

4.6 Análise histológica

Para a análise histológica, 13 animais foram submetidos à perfusão transcardíaca com solução salina 0,9%, seguida de fixação com paraformaldeído a 4% em tampão fosfato (PBS, pH 7,4). Os animais foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais: controle (n = 4), DA (n = 5) e ESP (n = 4).

Os encéfalos foram removidos cuidadosamente e pós-fixados na mesma solução de paraformaldeído por 24 horas.

Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (70%, 80%, 95% em duas etapas), seguidas de sucessivos banhos em etanol absoluto (PA), em seguida foram clarificadas em xilol e incluídas em parafina histológica. Após o emblocamento, os cérebros foram seccionados em micrótomo e divididos em três regiões de interesse: cortical, hipocampal e cerebelar.

As lâminas obtidas foram submetidas a diferentes técnicas histológicas:

- Hematoxilina e eosina (H&E), para avaliação geral da morfologia e integridade celular;
- Violeta de cresil (Nissl), para análise da organização neuronal e detecção de alterações citoplasmáticas.

A análise morfométrica foi realizada a partir das lâminas cortadas na espessura de 3,5 μm , coradas com violeta de cresil, utilizando o software ImageJ (National Institutes of Health, EUA). As regiões do giro denteado (DG) e campo CA1 do hipocampo foram identificadas com base em critérios anatômicos clássicos. Nessas regiões, foram avaliados os seguintes parâmetros: área total da região, espessura da camada celular e contagem de células, bem como a contagem total de células por campo analisado.

No hilo do DG, foi realizada exclusivamente a contagem celular, considerando-se células com morfologia compatível com neurônios corados por violeta de cresil.

As análises foram conduzidas em imagens digitais capturadas em aumento padronizado, mantendo-se as mesmas condições de iluminação e calibração para todos os grupos experimentais. Para cada animal, foram analisadas múltiplas seções representativas da região de interesse, e os valores obtidos foram posteriormente utilizados para análise estatística.

4.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*, seguida de análise de variância (ANOVA) com pós-teste de *Newman-Keuls*. Diferenças com $p \leq 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

4.8 Uso de ferramentas digitais

Ferramentas de inteligência artificial, incluindo o modelo ChatGPT (OpenAI), foram utilizadas exclusivamente como apoio na revisão linguística, aprimoramento da clareza e fluidez do texto e sugestões estruturais durante a elaboração desta dissertação. A ferramenta não foi empregada para geração de

dados, realização de análises estatísticas, interpretação dos resultados ou formulação das conclusões científicas. Todo o conteúdo produzido com auxílio da ferramenta foi criticamente revisado, validado e aprovado pela autora e orientador, sendo estes integralmente responsáveis pela precisão, integridade e originalidade do trabalho. O uso da ferramenta seguiu princípios de boas práticas científicas e integridade acadêmica.

5. RESULTADOS

Inicialmente, foram caracterizados os parâmetros metabólicos e morfométricos dos animais. A indução da DA por STZ (ICV) promoveu alterações metabólicas, evidenciadas por intolerância à glicose no GTT, aumento de colesterol total, triglicerídeos e índice TyG, indicando dislipidemia associada à resistência à insulina, além de aumento do Índice de Lee. O tratamento com espermidina atenuou esses efeitos. Não foram observadas diferenças na glicemia de jejum ou alteração no peso corporal entre os grupos. Os dados completos encontram-se no Apêndice A.

Ao avaliar o desempenho no labirinto aquático de Morris, observou-se que, nos parâmetros relacionados ao aprendizado (Figura 12 A–B), o grupo DA apresentou aumento da latência para localizar a plataforma ao longo dos dias de treinamento, refletido em maior área sob a curva (AUC) de aprendizado em comparação ao grupo CTR ($p < 0,05$). Por outro lado, o grupo tratado com ESP apresentou desempenho semelhante ao grupo CTR, além de redução significativa da AUC em relação ao grupo DA ($p < 0,05$), indicando melhora no processo de aquisição da tarefa.

Em relação à memória espacial (Figura 12C), o grupo DA apresentou redução significativa do tempo de permanência no quadrante alvo em comparação ao grupo CTR ($p < 0,05$). O tratamento com ESP promoveu aumento desse parâmetro em relação ao grupo DA ($p < 0,05$), com valores comparáveis aos do grupo CTR, sugerindo reversão do déficit de memória espacial.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos quanto à velocidade média de nado ou à distância total percorrida (Figura 12D–E; $p > 0,05$), indicando que as alterações observadas não foram influenciadas por déficits motores ou alterações locomotoras.

A análise qualitativa dos trajetos (Figura 12F–H) revelou que o grupo DA apresentou padrão de busca predominantemente periférico (estratégia não espacial), enquanto os grupos CTR e tratado com ESP exibiram trajetórias mais diretas e organizadas, compatíveis com estratégias espaciais eficientes.

No teste de reconhecimento de objetos, o tempo de interação com objetos idênticos durante a fase de familiarização (Figura 2A) não diferiu

significativamente entre os grupos ($p > 0,05$), indicando comportamento exploratório semelhante.

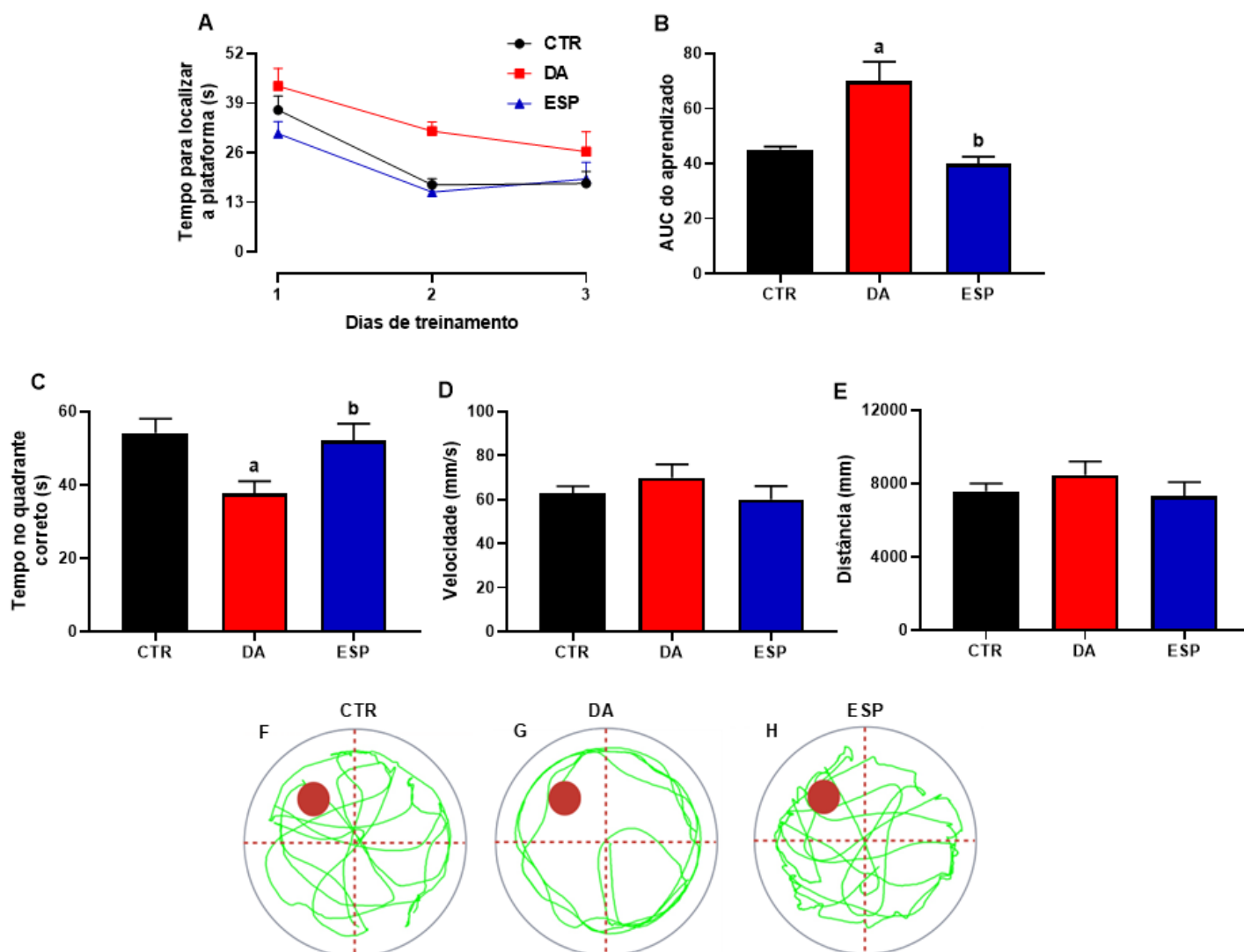


Figura 12 – Déficits de aprendizado e memória espacial no modelo experimental de DA e efeitos da espermidina no labirinto aquático. (A) Latência para localizar a plataforma durante a etapa de aprendizagem (s); (B) Área sob a curva (AUC) da latência de escape durante a fase de treinamento; (C) Tempo de permanência no quadrante correto no último dia de teste (s); (D) Velocidade média do nado (mm/s); (E) Distância total percorrida (mm); (F-H) Trajetos percorridos pelos grupos experimentais avaliados em ratos controle (CTR), com indução de Doença de Alzheimer (DA) e tratados com espermidina 50mg/Kg (ESP) após indução de DA. Pontos e barras representam média $\pm$ SEM (ANOVA Newman Keuls). ^a $p < 0,05$ vs. CTR, ^b $p < 0,05$ vs. DA.

Entretanto, na avaliação da memória de reconhecimento (Figura 13B), o grupo DA apresentou redução significativa na porcentagem de interação com o objeto novo em comparação ao grupo CTR ($p < 0,05$). O grupo tratado com ESP apresentou aumento significativo desse parâmetro em relação ao grupo DA ($p < 0,05$), com desempenho semelhante ao grupo CTR, sugerindo preservação da memória episódica.

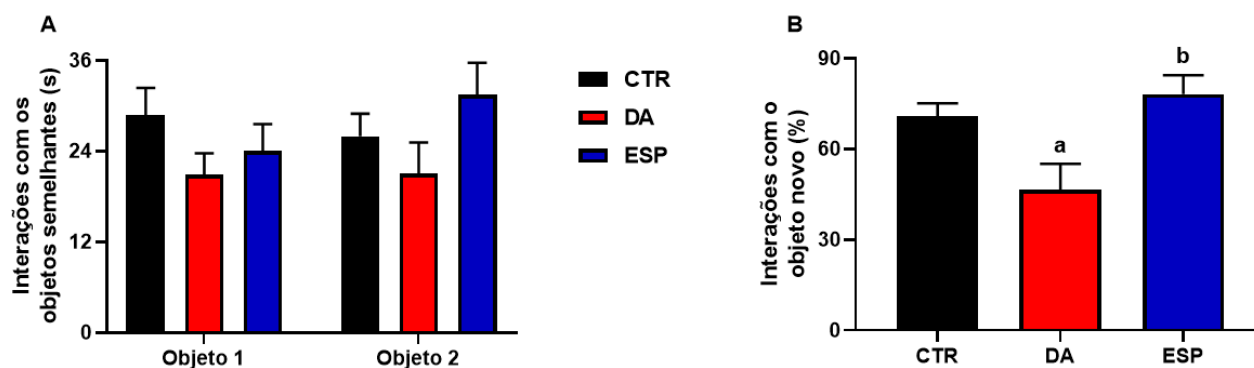


Figura 13 – Déficits de memória de reconhecimento (episódica) no modelo de DA e efeitos da espermidina no teste de reconhecimento de objetos. (A) Tempo de interação com objetos semelhantes (s); (B) Percentual de interação com o objeto novo em relação às interações totais avaliados em ratos controle (CTR), com indução de Doença de Alzheimer (DA) e tratados com espermidina 50mg/Kg (ESP) após indução de DA. Barras representam média $\pm$ SEM (ANOVA Newman Keuls). ^a $p < 0,05$ vs. CTR, ^b $p < 0,05$ vs. DA.

Em conjunto, os prejuízos observados nas tarefas de memória espacial e de reconhecimento de objetos indicam disfunção hipocampal. Considerando que essas funções dependem criticamente da integridade estrutural e celular dessa região, procedeu-se à análise histológica do hipocampo, com o objetivo de investigar possíveis alterações estruturais e celulares subjacentes ao fenótipo comportamental observado.

A contagem total de células no hilo do giro denteado (Figura 14A) demonstrou redução significativa no grupo DA em comparação ao grupo CTR ($p < 0,05$). O tratamento com ESP promoveu aumento significativo desse parâmetro em relação ao grupo DA ($p < 0,05$), embora os valores não tenham sido completamente restaurados aos níveis do grupo CTR, indicando efeito neuroprotetor parcial.

A análise morfológica (Figura 14B–J) corroborou esses achados, evidenciando desorganização estrutural e redução da densidade celular no grupo DA. As setas indicam células musgosas localizadas no hilo do giro denteado. No grupo CTR, essas células apresentam morfologia preservada, com corpos celulares bem definidos e núcleos arredondados e evidentes. Em contraste, no grupo DA, observa-se não apenas redução na densidade dessas células, mas também alterações morfológicas, caracterizadas por núcleos menos evidentes e com contornos irregulares, sugerindo comprometimento estrutural compatível com processo neurodegenerativo. Em contrapartida, o grupo tratado com ESP apresentou preservação parcial da arquitetura tecidual,

com maior manutenção da densidade celular e morfologia mais semelhante ao grupo CTR.

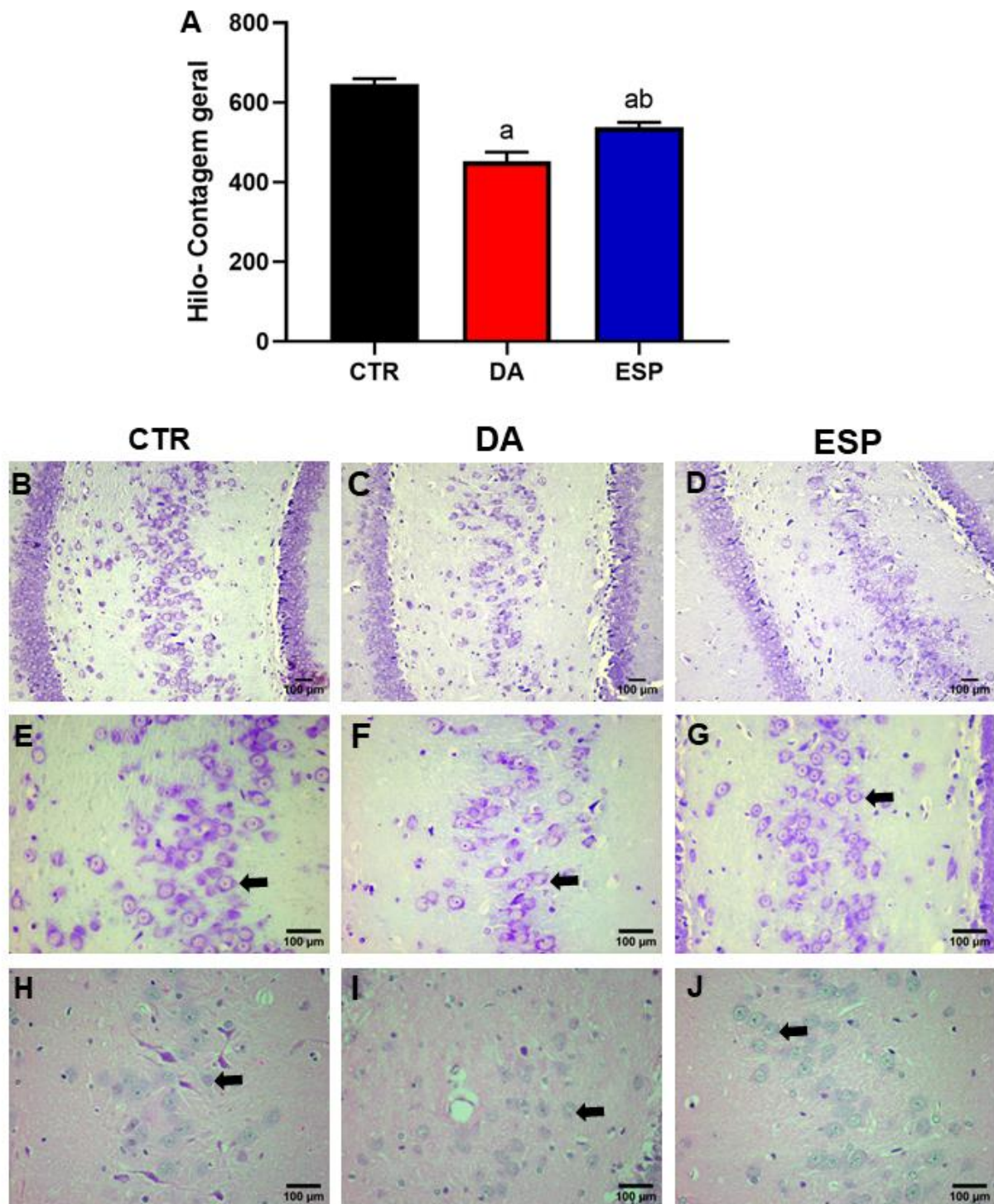


Figura 14 – Redução da densidade celular no hilo do giro dentado no modelo de DA e efeito da espermidina. (A) Contagem celular no hilo; (B–D) Fotomicrografias representativas do hilo do giro dentado (20×; violeta de cresil); (E–G) Ampliações das mesmas regiões evidenciando a morfologia celular e organização da população neuronal (40×; violeta de cresil); (H–J) Células musgosas indicadas por setas pretas (40×; H&E) avaliadas em ratos controle (CTR), com indução de Doença de Alzheimer (DA) e tratados com espermidina 50mg/Kg (ESP) após indução de DA. Barras de escalas de 100 µm. Dados expressos como média ± SEM (ANOVA one-way, pós-teste de Newman Keuls). ^a $p < 0,05$ vs. CTR, ^b $p < 0,05$ vs. DA.

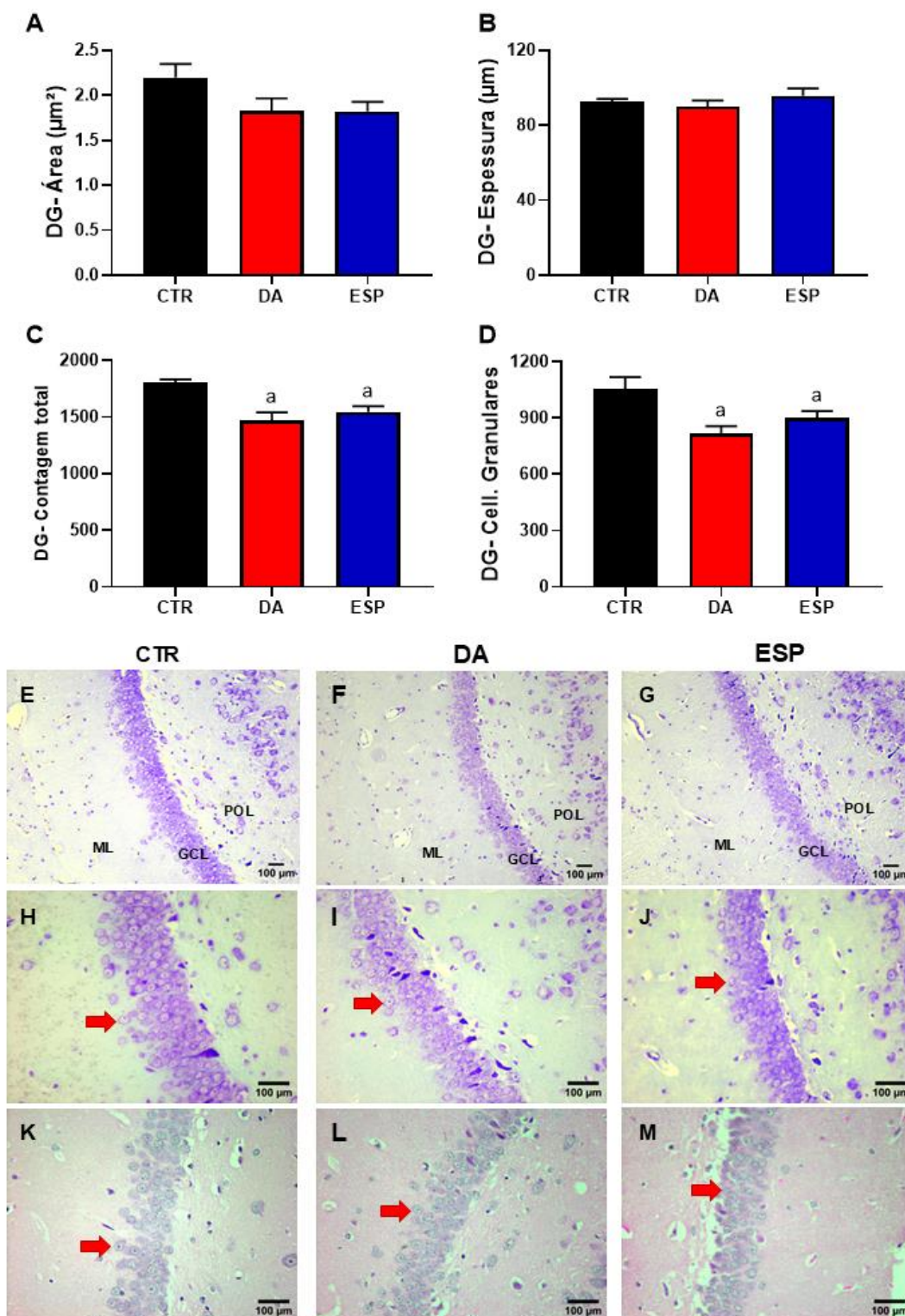


Figura 15 – Alterações morfológicas no giro denteado no modelo de DA e efeito da espermidina. (A) Área do giro denteado – DG (μm^2); (B) Espessura da camada granular (μm); (C) Contagem total de células. (D) Contagem de células granulares maduras e morfologicamente preservadas; (E–J) Fotomicrografias mostrando organização em três camadas: camada molecular (ML), camada de células granulares (GCL) e camada polimórfica (POL) (20× e 40×; violeta de cresil); (K–M) Células granulares maduras apontadas por setas vermelhas (40×; violeta de cresil e H&E) em ratos controle (CTR), com indução de Doença de Alzheimer (DA) e tratados com espermidina 50mg/Kg (ESP) após indução de DA. Barras de escalas de 100 μm . Dados expressos como média $\pm$ EPM (ANOVA one-way, pós-teste de Newman Keuls). ^a $p < 0,05$ vs. CTR.

No giro denteado, os parâmetros estruturais globais, como área e espessura da camada granular, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Figura 15A–B; $p > 0,05$).

Por outro lado, a análise da celularidade (Figura 15C–D) revelou redução significativa na contagem total de células nos grupos DA e ESP em comparação ao grupo CTR ($p < 0,05$). Para a contagem de células granulares maduras, observou-se redução significativa no grupo DA e no grupo tratado ($p < 0,05$). A avaliação morfológica (Figura 15E–M) permitiu a visualização clara da organização das camadas do giro denteado, bem como da morfologia das células granulares nos diferentes grupos experimentais, sem evidência de alterações estruturais grosseiras nos parâmetros globais.

Na região CA1 do hipocampo, observou-se redução significativa da área nos grupos DA e tratado com ESP em comparação ao grupo CTR (Figura 16A; $p < 0,05$). No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto à espessura da camada piramidal, à contagem total de células ou à densidade de neurônios piramidais (Figura 16B–D; $p > 0,05$). A análise morfológica (Figura 16E–M) evidenciou organização tecidual preservada e morfologia celular semelhante entre os grupos, reforçando a ausência de alterações estruturais marcantes nesses parâmetros.

Considerando a estreita relação entre a integridade funcional do hipocampo e a sinalização neurotrófica, avaliou-se a expressão gênica de BDNF nessa estrutura. Observou-se redução significativa da expressão de BDNF no grupo DA em comparação ao grupo CTR (Figura 17A; $p < 0,05$). O tratamento com ESP promoveu aumento significativo dessa expressão em relação ao grupo DA (Figura 17A; $p < 0,05$), com níveis comparáveis aos do grupo CTR, indicando reversão do comprometimento neurotrófico induzido pelo modelo experimental.

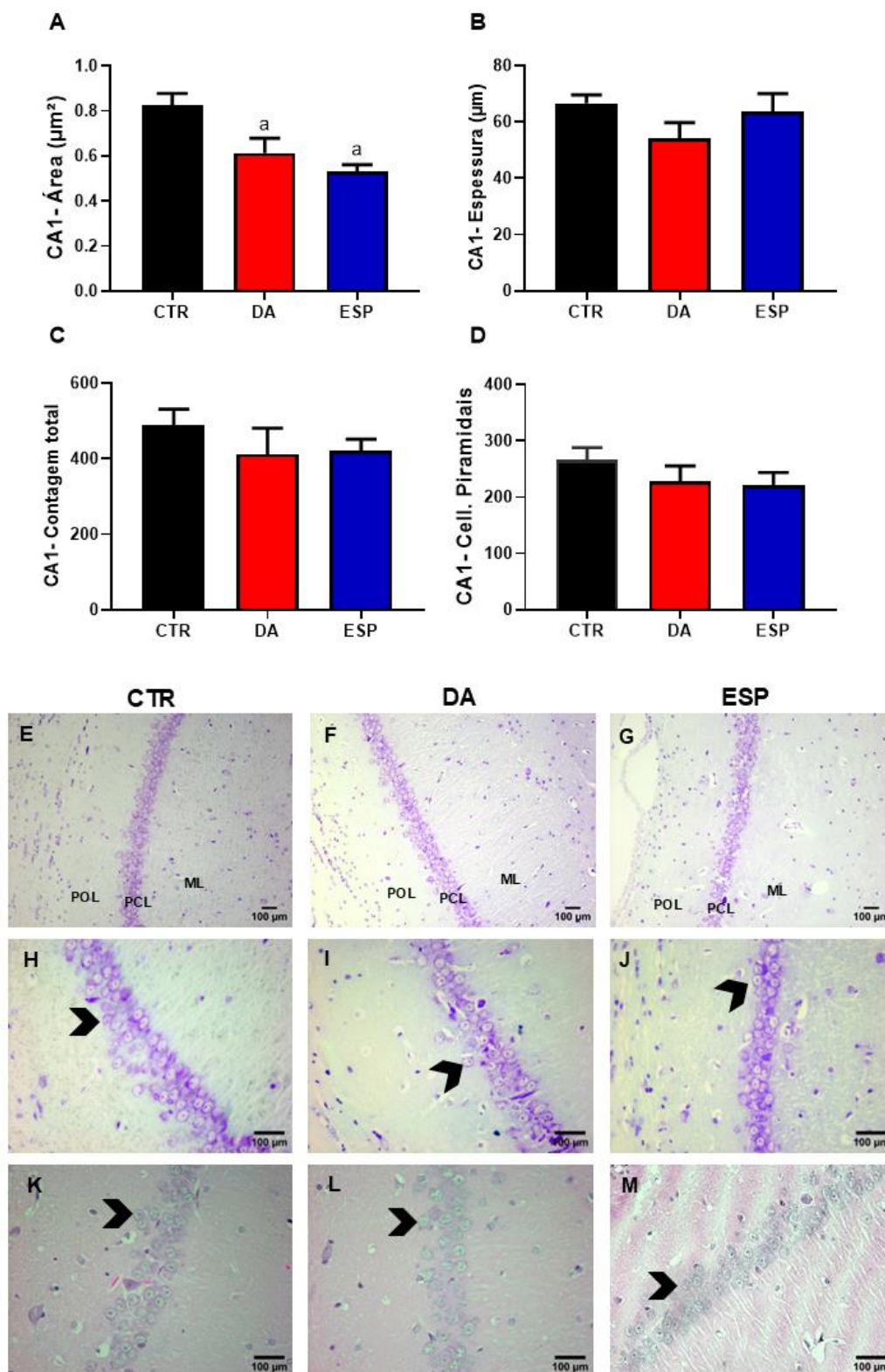


Figura 16 – Alterações estruturais no CA1 do hipocampo no modelo de DA e efeito da espermidina. (A) Área do CA1 (μm^2); (B) Espessura da camada piramidal (μm); (C) Contagem total de células; (D) Células piramidais maduras e morfologicamente preservadas no CA1; (E–M) Fotomicrografias mostrando organização em três camadas: camada molecular (ML), camada de células granulares (GCL) e camada polimórfica (POL), bem como a indicação de neurônios piramidais com morfologia preservada por pontas de setas (20× e 40×; violeta de cresil) em ratos controle (CTR), com indução de Doença de Alzheimer (DA) e tratados com espermidina 50mg/Kg (ESP) após indução de DA. Barras de escalas de 100 μm . Dados expressos como média $\pm$ EPM (ANOVA one-way, pós-teste de Tukey). ^a $p < 0,05$ vs. CTR.

Em seguida, foi avaliada a expressão gênica de CASP3 no hipocampo como marcador de ativação de vias apoptóticas. Observou-se aumento significativo no grupo DA em comparação ao grupo CTR (Figura 17B; $p < 0,05$). O tratamento com ESP resultou em redução significativa da expressão de CASP3 em relação ao grupo DA (Figura 17B; $p < 0,05$), com valores semelhantes aos do grupo CTR, sugerindo atenuação de processos pró-apoptóticos.

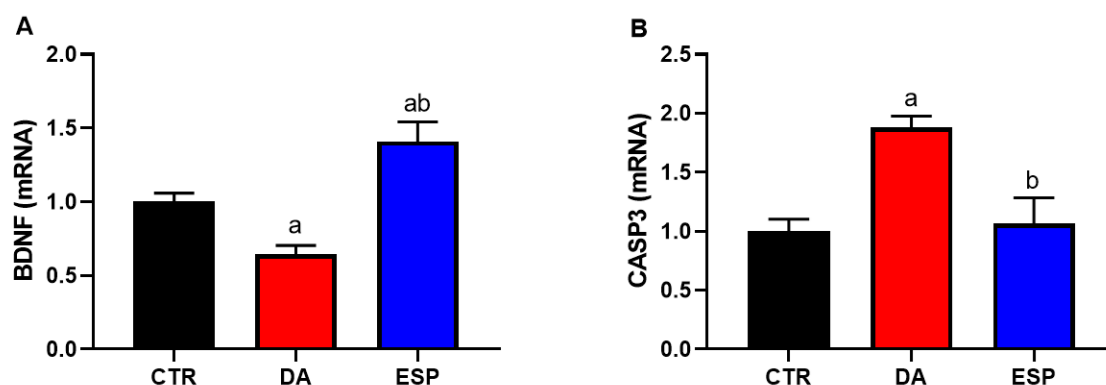


Figura 17 – Expressão gênica de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e caspase 3 (CASP3) no hipocampo. (A) Expressão relativa de mRNA de BDNF e (B) de CASP3 avaliado em ratos controle (CTR), com indução de Doença de Alzheimer (DA) e tratados com espermidina 50mg/Kg (ESP) após indução de DA. Valores normalizados por GAPDH e expressos como $2^{\Delta\Delta CT}$. Dados expressos como média $\pm$ SEM (one-way ANOVA, pós-teste de Newman-Keuls). ^a $p < 0,05$ vs. CTR e ^b: $p < 0,05$ vs. DA.

6. DISCUSSÃO

A DA é caracterizada por um conjunto complexo de alterações moleculares, celulares e estruturais que, de forma integrada, comprometem a homeostase neuronal e a funcionalidade das redes cerebrais envolvidas na memória e na cognição. Nesse contexto, além dos processos clássicos associados à deposição de A β e à hiperfosforilação da proteína tau, destaca-se a disfunção de mecanismos fundamentais para a manutenção da plasticidade sináptica e da sobrevivência neuronal. Dentre esses, o BDNF emerge como um dos principais moduladores da integridade funcional do sistema nervoso central.

Na DA, há redução dos níveis de BDNF em regiões como hipocampo e córtex, associada à perda de plasticidade sináptica e comprometimento cognitivo (Yan *et al.*, 2021). Essa redução compromete a sinalização neurotrófica mediada pelo receptor TrkB, essencial para a ativação de vias intracelulares como PI3K/Akt e MAPK, diretamente envolvidas na sobrevivência neuronal e na manutenção da função sináptica (Nagahara; Tuszynski, 2011).

O modelo experimental utilizado neste estudo, baseou-se na administração ICV de STZ, que induz resistência à insulina no sistema nervoso central, comprometendo a via PI3K/Akt, um dos principais eixos reguladores da sobrevivência neuronal (Yuliani *et al.*, 2021). Além disso, a STZ promove estresse oxidativo, com aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Lenzen, 2008), disfunção mitocondrial e danos a macromoléculas, incluindo o DNA, contribuindo para a ativação de vias neurodegenerativas. Em conjunto, essas alterações reproduzem características centrais da fisiopatologia da DA esporádica, tornando esse modelo consistente por mimetizar múltiplos aspectos da doença observada em humanos (Grieb, 2016).

Neste estudo, observou-se redução da expressão de mRNA de BDNF no grupo DA em relação ao grupo controle, em concordância com evidências que associam essa deficiência ao comprometimento da plasticidade sináptica e da função cognitiva. Essa diminuição pode impactar a ativação do receptor TrkB e de vias como PI3K/Akt, fundamentais para a sobrevivência neuronal e a integridade sináptica.

Por outro lado, o tratamento com ESP reverteu esse padrão, promovendo aumento significativo da expressão de BDNF, o que sugere modulação positiva de vias neurotróficas no contexto neurodegenerativo.

Esse resultado está em consonância com evidências experimentais que demonstram que a ESP é capaz de aumentar os níveis de BDNF e favorecer processos relacionados à plasticidade sináptica e à persistência da memória (Signor *et al.*, 2017). Além disso, Xu *et al.* (2020) demonstraram aumento da expressão de BDNF associado à elevação de proteínas sinápticas, como PSD-95, sugerindo fortalecimento estrutural e funcional das sinapses.

Em nível molecular, o BDNF é sintetizado como um precursor que necessita ser processado para sua forma biologicamente ativa, a qual atua principalmente por meio da ativação do receptor TrkB e de vias intracelulares como PI3K/Akt/mTOR, associadas à sobrevivência neuronal e à plasticidade sináptica (Miranda *et al.*, 2019; Kowianski *et al.*, 2018). Em condições patológicas, como na DA, alterações nesse eixo podem comprometer essa sinalização, contribuindo para disfunção sináptica e maior vulnerabilidade neuronal (Alqathani *et al.*, 2025).

Essa via também participa na regulação da autofagia, sendo o BDNF um modulador direto desse processo, sua deficiência leva à desregulação desse processo e a prejuízos sinápticos (Nikoletopoulou *et al.*, 2017; Tavernarakis, 2020). Consequentemente, a redução de BDNF pode comprometer a autofagia e favorecer o acúmulo de proteínas patológicas, contribuindo para alterações neurodegenerativas e déficits cognitivos (Huang *et al.*, 2025).

Nesse contexto, o estudo de Shu *et al.* (2025) indica que a ESP pode restaurar a atividade do eixo BDNF/TrkB–PI3K/Akt em condições de dano neuronal, promovendo efeitos neuroprotetores. A ativação dessa via está diretamente associada à inibição de mecanismos apoptóticos, uma vez que a sinalização via Akt exerce efeitos antiapoptóticos e favorece a sobrevivência neuronal (Gonzales *et al.*, 2016).

Além dessa modulação direta, a ESP apresenta efeitos pleiotrópicos relevantes no contexto neurodegenerativo, incluindo a indução da autofagia, a melhora da função mitocondrial e a redução do estresse oxidativo, contribuindo para a manutenção da proteostase celular e a remoção de proteínas agregadas (Hofer *et al.*, 2022; Fairley *et al.*, 2023).

Esses processos estão intimamente relacionados à manutenção da fisiologia sináptica, na qual o BDNF exerce papel central. Essa neurotrofina regula a transmissão sináptica por meio da modulação de receptores glutamatérgicos, como NMDA e AMPA, e da indução e manutenção do LTP, mecanismo fundamental para a consolidação da memória (Kowianski *et al.*, 2018). Dessa forma, o aumento de BDNF observado no grupo tratado pode contribuir para a preservação da função sináptica hipocampal, possivelmente por meio da modulação de mecanismos dependentes de plasticidade sináptica.

Evidências clínicas preliminares sugerem que a suplementação com ESP pode aumentar os níveis periféricos de BDNF em humanos, reforçando o potencial translacional desse efeito (Bruno *et al.*, 2025). Considerando o papel do BDNF na ativação de vias pró-sobrevivência neuronal, especialmente aquelas mediadas por PI3K/Akt, é plausível que sua modulação esteja associada à regulação de mecanismos apoptóticos.

No presente estudo, observou-se aumento significativo da expressão de mRNA de caspase-3 (CASP3) no grupo DA, indicando ativação de mecanismos pró-apoptóticos. Por outro lado, o tratamento com ESP preveniu esse aumento, sugerindo efeito modulador sobre a sinalização de morte celular.

As caspases são proteases de cisteína ativadas em cascata durante a apoptose, sendo a caspase-3 a principal enzima executora desse processo, responsável pela clivagem de múltiplos substratos celulares e pela desestruturação da célula (Wójcik *et al.*, 2024; Liu; Chen; Sun, 2025).

Na DA, a ativação da caspase-3 tem sido amplamente descrita tanto em cérebros humanos quanto em modelos experimentais, estando associada à neurodegeneração (Su *et al.*, 2001; Bagheri-Mohammadi *et al.*, 2022). Essa ativação pode ocorrer por diferentes vias. A via intrínseca é frequentemente desencadeada por eventos como estresse oxidativo e dano ao DNA, levando à disfunção mitocondrial e ativação de caspase-9. Já a via extrínseca envolve a ativação de receptores de morte, como TNFR e CD95, culminando na ativação de caspase-8, que por sua vez ativa caspase-3 (Wójcik *et al.*, 2024).

Além disso, a toxicidade do A β desempenha papel central na ativação dessas vias, sendo capaz de induzir diretamente a ativação de caspase-3 e interferir na sinalização insulinérgica, comprometendo a autofosforilação do receptor de insulina e a ativação de cascatas intracelulares associadas à

sobrevivência celular (Bagheri-Mohammadi *et al.*, 2022). Esse processo estabelece uma conexão importante entre disfunção metabólica e apoptose neuronal no contexto da DA.

De forma particularmente relevante, a relação entre a via PI3K/Akt e a caspase-3 é bidirecional. Enquanto a ativação de Akt exerce efeitos antiapoptóticos, a ativação de caspase-3 pode levar à clivagem proteolítica de Akt, comprometendo sua atividade e amplificando a progressão da morte celular (Bhatia *et al.*, 2025). Esse mecanismo sugere a existência de um ciclo de retroalimentação negativa, no qual a ativação de vias pró-apoptóticas contribui para a inibição de mecanismos de sobrevivência neuronal.

Além disso, a caspase-3 pode interferir na regulação da autofagia, uma vez que a clivagem de proteínas como Beclin-1 por caspases contribui para a inativação desse processo e para o aumento da apoptose (La Rosa *et al.*, 2022).

Além de sua função clássica na apoptose, a caspase-3 também pode participar de outros processos de morte celular, como a piroptose, por meio da clivagem de proteínas como a gasdermina E (GSDME), levando à formação de poros na membrana celular e amplificação do dano celular (Liu; Chen; Sun, 2025). Adicionalmente, a ativação de caspase-3 pode comprometer processos como a neurogênese e a plasticidade hipocampal, impactando diretamente a função cognitiva (Bellido *et al.*, 2023; Miller; Sahay, 2019).

O aumento da expressão de CASP3 observado no grupo DA é coerente com a ativação de vias apoptóticas associadas à neurodegeneração, as quais, conforme discutido, podem ser desencadeadas no modelo STZ por estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e comprometimento da sinalização PI3K/Akt. Essa ativação contribui diretamente para alterações estruturais e funcionais neuronais.

Por outro lado, a redução da expressão de CASP3 no grupo tratado com ESP sugere efeito modulador sobre a sinalização apoptótica, indicando que essa poliamina pode atenuar a ativação dessas vias. Esse achado é consistente com estudos experimentais que demonstram a capacidade da ESP de reduzir a expressão de caspase-3 clivada e a apoptose neuronal, reforçando seu potencial neuroprotetor (Zhao *et al.*, 2025).

Adicionalmente, a caspase-3 pode interferir na regulação da autofagia, uma vez que a clivagem de proteínas como Beclin-1 contribui para a inativação

desse processo e para o aumento da apoptose (La Rosa *et al.*, 2022). Assim, a modulação dessa via pela ESP pode favorecer a redução da morte celular e a manutenção de mecanismos celulares associados à homeostase neuronal.

Essa modulação de vias apoptóticas repercute diretamente na integridade estrutural do tecido neural, refletindo-se nas alterações histomorfométricas hipocampus observadas neste estudo. Nesse contexto, a preservação estrutural pode representar um dos mecanismos centrais associados aos efeitos cognitivos observados no grupo tratado.

Evidências em humanos reforçam essa hipótese, uma vez que a ingestão de ESP está associada ao aumento da espessura cortical e do volume hipocampal, regiões particularmente vulneráveis na DA (Schwarz *et al.*, 2020).

No presente estudo, um aspecto particularmente relevante refere-se às alterações observadas no hilo do giro denteado. Essa região exerce papel crítico na regulação da excitabilidade do circuito hipocampal e na integração da informação entre o giro denteado e o CA3 (Scharfman; Myers, 2013). As células musgosas do hilo constituem uma importante fonte de excitação para as células granulares e participam ativamente da regulação do equilíbrio entre excitação e inibição no circuito denteado (Bui *et al.*, 2018).

Buckmaster *et al.* (1996) demonstraram que essas células apresentam elevada vulnerabilidade a insultos metabólicos e excitotóxicos, devido a características como alta atividade excitatória, baixa capacidade de tamponamento de cálcio e limitada resposta neuroprotetora. A perda de células musgosas pode levar à desregulação da excitabilidade das células granulares e comprometer funções como a separação de padrões e a formação de memórias (Jinde *et al.*, 2012). Além disso, alterações nessa região têm sido associadas a estágios iniciais da doença, incluindo hiperexcitabilidade neuronal e desorganização do circuito hipocampal (Alcantara-Gonzalez *et al.*, 2025).

Portanto, a redução da celularidade observada pode refletir um processo precoce de desorganização do circuito denteado-CA3, contribuindo diretamente para os déficits cognitivos. Alterações na homeostase da atividade neuronal e no equilíbrio excitação/inibição são atualmente consideradas mecanismos centrais na progressão inicial da DA (Styr; Slutsky, 2018).

No giro denteado, observou-se redução significativa na contagem de células totais nos grupos DA e tratado. A redução de células granulares também

foi observada em ambos os grupos, sem diferença entre eles. Da mesma forma, a quantificação de neurônios granulares maduros revelou valores comparáveis entre os grupos DA e tratado, indicando ausência de efeito preservador da espermidina sobre essa população neuronal.

O modelo induzido por STZ reproduz a vulnerabilidade seletiva do hipocampo descrita na DA, com maior comprometimento do giro denteado e do hilo, regiões que apresentam maior suscetibilidade à morte neuronal (Dehghan-Shasaltaneh *et al.*, 2016). Esse padrão de vulnerabilidade reforça a relevância das alterações observadas nessa região como um marcador precoce de disfunção cognitiva.

Na região CA1, observou-se redução da área nos grupos DA e tratado, sem alterações significativas na contagem de neurônios piramidais. Esse padrão sugere alterações estruturais subletais, como retração dendrítica, perda de espinhas sinápticas ou redução da arborização neuronal, em vez de morte neuronal direta (Maglione *et al.*, 2019). Esse padrão é compatível com estágios iniciais da neurodegeneração, nos quais alterações sinápticas precedem a perda neuronal (Özdemir *et al.*, 2023).

Considerando que o CA1 constitui a principal via de saída do hipocampo, integrando informações provenientes do CA3 e do córtex entorrinal, alterações estruturais nessa região podem comprometer a eficiência da comunicação hipocampo–córtex e, conseqüentemente, contribuir para déficits cognitivos (Jin; Maren, 2015).

Nesse contexto, a preservação parcial da população neuronal e da organização estrutural observada no grupo tratado com ESP pode estar relacionada à sua capacidade de modular processos associados à integridade celular, incluindo a redução da apoptose, a indução da autofagia e a manutenção da plasticidade sináptica (Zhao *et al.*, 2025; Huang *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2011).

Tais alterações estruturais no hipocampo têm repercute claramente sobre o desempenho cognitivo, uma vez que essa região desempenha papel central nos processos de aprendizagem e memória.

Assim, os déficits cognitivos constituem uma das principais manifestações da DA, refletindo a progressão em vias neurais envolvidas na aprendizagem e na memória. Nesse contexto, observou-se que os animais do grupo DA apresentaram prejuízos significativos na aprendizagem e em

diferentes domínios da memória, incluindo memória espacial e de reconhecimento.

No teste do labirinto aquático de Morris, os animais do grupo DA apresentaram aumento da latência para localizar a plataforma, redução do tempo de permanência no quadrante alvo e trajetórias de nado mais difusas, indicando comprometimento da memória espacial. Esses achados refletem prejuízo em processos dependentes do hipocampo, sugerindo disfunção na formação e recuperação de representações espaciais (Hernández-Mercado; Zepeda, 2022).

De forma complementar, o teste de reconhecimento de objetos evidenciou déficit na memória de reconhecimento, caracterizado pela menor exploração do objeto novo. Esse resultado indica comprometimento de circuitos do lobo temporal medial, particularmente envolvendo o córtex perirrinal e o hipocampo, reforçando a presença de alterações cognitivas associadas ao modelo experimental (Tropea *et al.*, 2022; Warburton; Brown, 2015).

Em conjunto, esses achados indicam que a indução com STZ promove comprometimento cognitivo abrangente, consistente com alterações em redes neurais características da DA.

Esses prejuízos podem estar relacionados a alterações em processos de plasticidade sináptica e neurogênese hipocampal, especialmente no giro denteado, estruturas fundamentais para a formação e precisão das memórias espaciais (Gil-Mohapel *et al.*, 2013; Berdugo-Vega *et al.*, 2021).

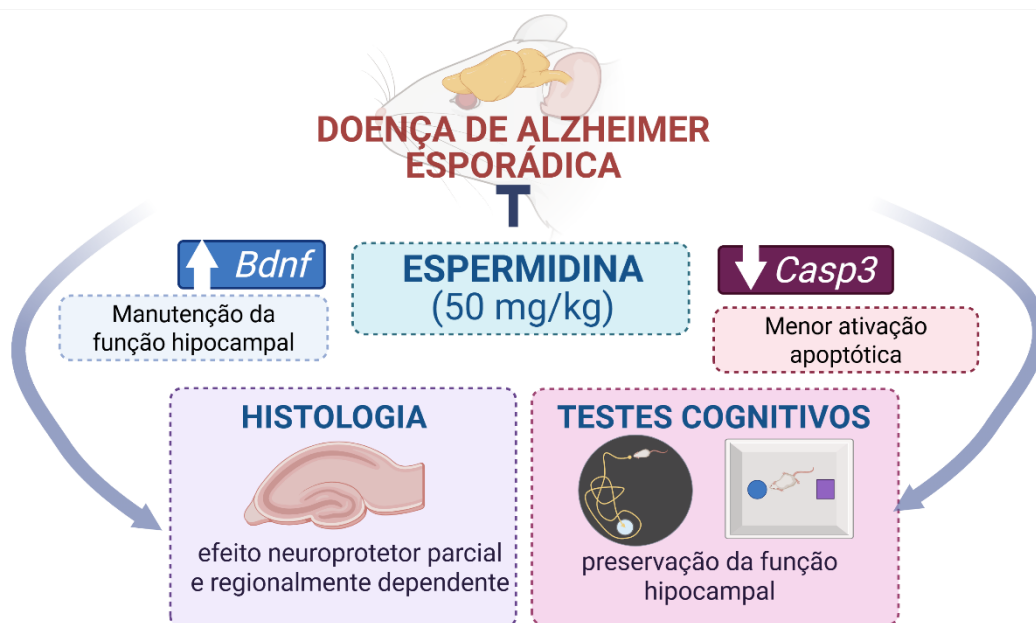
A melhora observada nos animais tratados com ESP sugere um efeito benéfico dessa poliamina sobre os processos cognitivos. As poliaminas modulam a aprendizagem e a memória, em parte, por meio da interação com receptores NMDA, influenciando a plasticidade sináptica e etapas iniciais da aquisição e consolidação da memória (Guerra *et al.*, 2011). Além disso, a ESP é reconhecida como indutora de autofagia, processo fundamental para a manutenção da homeostase neuronal, pois promove a remoção de proteínas agregadas e preservação da função sináptica, mecanismos particularmente relevantes no contexto da DA (Díaz-Osorio *et al.*, 2025)

Consistentemente, estudos demonstram que a administração de ESP é capaz de reverter déficits de memória em modelos experimentais, incluindo envelhecimento e comprometimento cognitivo leve, indicando seu potencial

modulador da função cognitiva (De Risi *et al.*, 2020). De forma consistente, a suplementação tem sido associada à melhora do desempenho em tarefas de memória em diferentes modelos animais, incluindo aprimoramento da aprendizagem espacial e maior persistência da memória (Schwarz *et al.*, 2022; Signor *et al.*, 2014). Em humanos, estudos clínicos também sugerem efeitos positivos, especialmente em indivíduos com declínio cognitivo, reforçando a relevância translacional dessa abordagem (Wirth *et al.*, 2018; Pekar *et al.*, 2021).

7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstram, primeiramente, que o modelo experimental de DA induzido por STZ ICV na dose de 3 mg/kg foi eficaz em reproduzir alterações comportamentais, estruturais, moleculares e metabólicas compatíveis com aspectos centrais da doença.



Observou-se que os animais submetidos ao modelo apresentaram déficits cognitivos significativos, evidenciados pelo comprometimento da aprendizagem e da memória dependentes do hipocampo nos testes de labirinto aquático de Morris e reconhecimento de objetos. O tratamento com ESP foi capaz de atenuar esses déficits, indicando efeito benéfico sobre a função cognitiva.

Quanto às alterações hipocampus, verificou-se comprometimento estrutural, com destaque para a redução da celularidade no hilo do giro

denteado, uma região altamente vulnerável. A administração de ESP promoveu preservação parcial dessas alterações, sugerindo efeito protetor sobre a integridade tecidual.

No âmbito molecular, o modelo experimental promoveu redução da expressão de BDNF e aumento da expressão de CASP-3, indicando desequilíbrio entre vias de sobrevivência neuronal e morte celular. O tratamento com ESP reverteu esse padrão, promovendo aumento de BDNF e redução de CASP-3, o que sugere modulação de processos associados à plasticidade sináptica e à apoptose.

Em conjunto, esses achados indicam que a ESP, administrada na dose de 50 mg/kg por via oral, exerce efeitos neuroprotetores no modelo experimental de DA, atuando de forma integrada sobre alterações comportamentais, estruturais, moleculares e metabólicas.

Dessa forma, a ESP se apresenta como uma estratégia promissora, embora estudos adicionais sejam necessários para aprofundar a compreensão de seus mecanismos de ação e sua aplicabilidade clínica.

8. Limitações e perspectivas futuras

Embora os resultados obtidos demonstrem efeitos neuroprotetores promissores da espermidina no modelo experimental de Doença de Alzheimer, algumas limitações devem ser consideradas. O estudo foi conduzido exclusivamente em animais machos, o que restringe a compreensão de possíveis diferenças relacionadas ao dimorfismo sexual, especialmente considerando a reconhecida influência de fatores hormonais e metabólicos na fisiopatologia da doença. Dessa forma, estudos futuros deverão incluir animais fêmeas, permitindo uma análise mais abrangente das respostas à espermidina em ambos os sexos.

Além disso, a ampliação do número amostral poderá contribuir para maior robustez estatística e melhor caracterização dos efeitos observados. Outra limitação relevante refere-se à avaliação molecular restrita à expressão gênica. Assim, investigações futuras deverão incluir análises da expressão proteica dos marcadores avaliados, como BDNF e CASP3, a fim de compreender de maneira mais integrada os desdobramentos funcionais das alterações transcricionais

observadas e elucidar com maior profundidade as vias moleculares envolvidas nos efeitos neuroprotetores da espermidina.

REFERÊNCIAS

ABETI, R.; DUCHEN, M. R. Activation of PARP by oxidative stress induced by β -amyloid: implications for Alzheimer's disease. **Neurochem Res**, 37, n. 11, p. 2589-2596, Nov 2012.

ALCANTARA-GONZALEZ, D.; KENNEDY, M.; CRISCUOLO, C.; BOTTERILL, J. *et al.* Increased excitability of dentate gyrus mossy cells occurs early in life in the Tg2576 model of Alzheimer's disease. **Alzheimers Res Ther**, 17, n. 1, p. 105, May 15 2025.

ALLEGRI, R. F. Dementia research in low-income and middle-income countries—a view from Latin America. **Nature Reviews Neurology**, 21, n. 9, p. 499-505, 2025.

ALONSO BELLIDO, I. M.; POSADA-PÉREZ, M.; HERNÁNDEZ-RASCO, F.; VÁZQUEZ-REYES, S. *et al.* Microglial Caspase-3 is essential for modulating hippocampal neurogenesis. **Brain Behav Immun**, 112, p. 206-219, Aug 2023.

ALQAHTANI, S. M.; AL-KURAISHY, H. M.; AL GAREEB, A. I.; ALBUHADILY, A. K. *et al.* Unlocking Alzheimer's disease: the role of BDNF signaling in neuropathology and treatment. **NeuroMolecular Medicine**, 27, n. 1, p. 36, 2025.

ANTUNES, M.; BIALA, G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. **Cognitive processing**, 13, n. 2, p. 93-110, 2012.

ARNOLD, S. E.; ARVANITAKIS, Z.; MACAULEY-RAMBACH, S. L.; KOENIG, A. M. *et al.* Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. **Nature Reviews Neurology**, 14, n. 3, p. 168-181, 2018.

ARNOLD, S. E.; LUCKI, I.; BROOKSHIRE, B. R.; CARLSON, G. C. *et al.* High fat diet produces brain insulin resistance, synaptodendritic abnormalities and altered behavior in mice. **Neurobiology of disease**, 67, p. 79-87, 2014.

ATIYA ALI, M.; POORTVLIET, E.; STRÖMBERG, R.; YNGVE, A. Polyamines in foods: development of a food database. **Food Nutr Res**, 55, Jan 14 2011.

BAGHERI-MOHAMMADI, S.; ASKARI, S.; ALANI, B.; MOOSAVI, M. *et al.* Cinnamaldehyde Regulates Insulin and Caspase-3 Signaling Pathways in the Sporadic Alzheimer's Disease Model: Involvement of Hippocampal Function via IRS-1, Akt, and GSK-3 β Phosphorylation. **J Mol Neurosci**, 72, n. 11, p. 2273-2291, Nov 2022.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science & Technology**, 6, n. 10, p. 341-346, 1995.

BERDUGO-VEGA, G.; LEE, C. C.; GARTHE, A.; KEMPERMANN, G. *et al.* Adult-born neurons promote cognitive flexibility by improving memory precision and indexing. **Hippocampus**, 31, n. 10, p. 1068-1079, 2021.

BETTER, M. A. Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimers Dement**, 19, n. 4, p. 1598-1695, 2023.

BHATIA, V.; VIKRAM, V.; CHANDEL, A.; RATTAN, A. Interplay between PI3k/AKT signaling and caspase pathway in Alzheimer disease: mechanism and therapeutic implications. **Inflammopharmacology**, 33, n. 4, p. 1785-1802, Apr 2025.

BRASURE, M.; DESAI, P.; DAVILA, H.; NELSON, V. A. *et al.* Physical activity interventions in preventing cognitive decline and Alzheimer-type dementia: a systematic review. **Annals of internal medicine**, 168, n. 1, p. 30-38, 2018.

BRUNO, G.; LA MONICA, M.; ZIEGENFUSS, T. N. Effects of Spermidine-Rich Rice Germ Extract Supplement on Biomarkers of Healthy Aging and Autophagy-Proof-of-Concept Pilot Study. **Altern Ther Health Med**, 31, n. 6, p. 9-13, Oct 2025.

BUCKMASTER, P. S.; WENZEL, H. J.; KUNKEL, D. D.; SCHWARTZKROIN, P. A. Axon arbors and synaptic connections of hippocampal mossy cells in the rat in vivo. **J Comp Neurol**, 366, n. 2, p. 271-292, Mar 4 1996.

BUI, A. D.; NGUYEN, T. M.; LIMOUSE, C.; KIM, H. K. *et al.* Dentate gyrus mossy cells control spontaneous convulsive seizures and spatial memory. **Science**, 359, n. 6377, p. 787-790, Feb 16 2018.

BUTTERFIELD, D. A.; LAUDERBACK, C. M. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, 32, n. 11, p. 1050-1060, 2002.

CACABELOS, R.; TORRELLAS, C.; CARRERA, I.; CACABELOS, P. *et al.* Novel therapeutic strategies for dementia. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets-CNS & Neurological Disorders**, 15, n. 2, p. 141-241, 2016.

CALVO-RODRIGUEZ, M.; KHARITONOVA, E. K.; BACSKAI, B. J. Therapeutic strategies to target calcium dysregulation in Alzheimer's disease. **Cells**, 9, n. 11, p. 2513, 2020.

CHEN, Z.-R.; HUANG, J.-B.; YANG, S.-L.; HONG, F.-F. Role of cholinergic signaling in Alzheimer's disease. **Molecules**, 27, n. 6, p. 1816, 2022.

CHOLERTON, B.; BAKER, L. D.; MONTINE, T. J.; CRAFT, S. Type 2 diabetes, cognition, and dementia in older adults: toward a precision health approach. **Diabetes Spectrum**, 29, n. 4, p. 210-219, 2016.

COHEN, S. J.; MUNCHOW, A. H.; RIOS, L. M.; ZHANG, G. *et al.* The rodent hippocampus is essential for nonspatial object memory. **Current Biology**, 23, n. 17, p. 1685-1690, 2013.

D'ANGREMONT, E.; BEGEMANN, M. J.; VAN LAAR, T.; SOMMER, I. E. Cholinesterase inhibitors for treatment of psychotic symptoms in Alzheimer disease and Parkinson disease: a meta-analysis. **Jama neurology**, 80, n. 8, p. 813-823, 2023.

DA SILVA, A. M. P.; DE DEUS, O.; JANUARIO CAMPOS CARDOSO, L.; VIRGILIO RIBEIRO, F. *et al.* Efficacy, safety, and ARIA risk of anti- β -amyloid antibodies in early Alzheimer's disease: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. **Expert Opinion on Biological Therapy**, 26, n. 2, p. 177-188, 2026.

DAS, S. Alzheimer's disease basics: we all should know. **Neurol Res**, 48, n. 3, p. 330-359, Mar 2026.

DE FELICE, F. G.; GONÇALVES, R. A.; FERREIRA, S. T. Impaired insulin signalling and allostatic load in Alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**, 23, n. 4, p. 215-230, 2022.

DE LA RUBIA ORTÍ, J. E.; GARCÍA-PARDO, M. P.; DREHMER, E.; SANCHO CANTUS, D. *et al.* Improvement of main cognitive functions in patients with Alzheimer's disease after treatment with coconut oil enriched Mediterranean diet: a pilot study. **Journal of Alzheimer's Disease**, 65, n. 2, p. 577-587, 2018.

DE RISI, M.; TORROMINO, G.; TUFANO, M.; MORICEAU, S. *et al.* Mechanisms by which autophagy regulates memory capacity in ageing. **Aging Cell**, 19, n. 9, p. e13189, Sep 2020.

DEHGHAN-SHASALTANEH, M.; NAGHDI, N.; CHOOPANI, S.; ALIZADEH, L. *et al.* Determination of the Best Concentration of Streptozotocin to Create a Diabetic Brain Using Histological Techniques. **J Mol Neurosci**, 59, n. 1, p. 24-35, May 2016.

DÍAZ-OSORIO, Y.; GIMENO-AGUD, H.; MARI-VICO, R.; ILLESCAS, S. *et al.* Spermidine Recovers the Autophagy Defects Underlying the Pathophysiology of Cell Trafficking Disorders. **J Inherit Metab Dis**, 48, n. 1, p. e12841, Jan 2025.

DILER, A.; ZIYLAN, Y.; UZUM, G.; LEFAUCONNIER, J. *et al.* Passage of spermidine across the blood-brain barrier in short recirculation periods following global cerebral ischemia: effects of mild hyperthermia. **Neuroscience research**, 43, n. 4, p. 335-342, 2002.

DOROSZKIEWICZ, J.; MROCZKO, J.; RUTKOWSKI, P.; MROCZKO, B. Molecular Aspects of a Diet as a New Pathway in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, 24, n. 13, p. 10751, 2023.

EBELL, M. H.; BARRY, H. C.; BADUNI, K.; GRASSO, G. Clinically Important Benefits and Harms of Monoclonal Antibodies Targeting Amyloid for the Treatment of Alzheimer Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Ann Fam Med**, 22, n. 1, p. 50-62, Jan-Feb 2024.

EISENBERG, T.; ABDELLATIF, M.; SCHROEDER, S.; PRIMESSNIG, U. *et al.* Cardioprotection and lifespan extension by the natural polyamine spermidine. **Nat Med**, 22, n. 12, p. 1428-1438, Dec 2016.

EKUNDAYO, B. E.; OBAFEMI, T. O.; ADEWALE, O. B.; OBAFEMI, B. A. *et al.* Oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in the pathology of Alzheimer's disease. **Cell biochemistry and biophysics**, 82, n. 2, p. 457-477, 2024.

ENNACEUR, A.; MELIANI, K. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. **Behavioural brain research**, 51, n. 1, p. 83-92, 1992.

FAIRLEY, L. H.; LEJRI, I.; GRIMM, A.; ECKERT, A. Spermidine rescues bioenergetic and mitophagy deficits induced by disease-associated tau protein. **International Journal of Molecular Sciences**, 24, n. 6, p. 5297, 2023.

FARIOLI-VECCHIOLI, S.; RICCI, V.; MIDDEI, S. Adult hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease: an overview of human and animal studies with implications for therapeutic perspectives aimed at memory recovery. **Neural Plasticity**, 2022, n. 1, p. 9959044, 2022.

FAZLOLLAHI, A.; CALAMANTE, F.; LIANG, X.; BOURGEAT, P. *et al.* Increased cerebral blood flow with increased amyloid burden in the preclinical phase of alzheimer's disease. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, 51, n. 2, p. 505-513, 2020.

FORTIN, D. A.; DAVARE, M. A.; SRIVASTAVA, T.; BRADY, J. D. *et al.* Long-term potentiation-dependent spine enlargement requires synaptic Ca²⁺-permeable AMPA receptors recruited by CaM-kinase I. **J Neurosci**, 30, n. 35, p. 11565-11575, Sep 1 2010.

FRAKE, R. A.; RICKETTS, T.; MENZIES, F. M.; RUBINSZTEIN, D. C. Autophagy and neurodegeneration. **J Clin Invest**, 125, n. 1, p. 65-74, Jan 2015.

FREITAG, K.; STERCZYK, N.; WENDLINGER, S.; OBERMAYER, B. *et al.* Spermidine reduces neuroinflammation and soluble amyloid beta in an Alzheimer's disease mouse model. **Journal of neuroinflammation**, 19, n. 1, p. 172, 2022.

GE, X.; QIAO, Y.; CHOI, J.; RAMAN, R. *et al.* Enhanced association of tau pathology and cognitive impairment in mild cognitive impairment subjects with behavior symptoms. **Journal of Alzheimer's Disease**, 87, n. 2, p. 557-568, 2022.

GEIGENMÜLLER, J. N.; TARI, A. R.; WISLOFF, U.; WALKER, T. L. The relationship between adult hippocampal neurogenesis and cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, 20, n. 10, p. 7369-7383, 2024.

GIL-MOHAPEL, J.; BROCARD, P. S.; CHOQUETTE, W.; GOTHARD, R. *et al.* Hippocampal neurogenesis levels predict WATERMAZE search strategies in the aging brain. **PLoS One**, 8, n. 9, p. e75125, 2013.

GONZALEZ, A.; MOYA-ALVARADO, G.; GONZALEZ-BILLAUT, C.; BRONFMAN, F. C. Cellular and molecular mechanisms regulating neuronal growth by brain-derived neurotrophic factor. **Cytoskeleton**, 73, n. 10, p. 612-628, 2016.

GOUD, B. J.; DWARAKANATH, V.; CHIKKA, B. Streptozotocin-a diabetogenic agent in animal models. **Int J Pharm Pharm Res**, 3, n. 1, p. 253-269, 2015.

GRIEB, P. Intracerebroventricular streptozotocin injections as a model of Alzheimer's disease: in search of a relevant mechanism. **Molecular neurobiology**, 53, n. 3, p. 1741-1752, 2016.

GUERRA, G. P.; MELLO, C. F.; BOCHI, G. V.; PAZINI, A. M. *et al.* Hippocampal PKA/CREB pathway is involved in the improvement of memory induced by spermidine in rats. **Neurobiol Learn Mem**, 96, n. 2, p. 324-332, Sep 2011.

GUERRA, G. P.; RUBIN, M. A.; MELLO, C. F. Modulation of learning and memory by natural polyamines. **Pharmacol Res**, 112, p. 99-118, Oct 2016.

GUPTA, V. K.; SCHEUNEMANN, L.; EISENBERG, T.; MERTEL, S. *et al.* Restoring polyamines protects from age-induced memory impairment in an autophagy-dependent manner. **Nat Neurosci**, 16, n. 10, p. 1453-1460, Oct 2013.

HERNÁNDEZ-MERCADO, K.; ZEPEDA, A. Morris water maze and contextual fear conditioning tasks to evaluate cognitive functions associated with adult hippocampal neurogenesis. **Frontiers in neuroscience**, 15, p. 782947, 2022.

HOFER, S. J.; SIMON, A. K.; BERGMANN, M.; EISENBERG, T. *et al.* Mechanisms of spermidine-induced autophagy and geroprotection. **Nature Aging**, 2, n. 12, p. 1112-1129, 2022.

HU, F.; PENG, J.; WANG, W.; SHEN, L. *et al.* Comparing the impact of various exercise modalities on old adults with Alzheimer's disease: A Bayesian network meta-analysis. **Complement Ther Clin Pract**, 59, p. 101968, May 2025.

HUANG, J.; ZHANG, H.; ZHANG, J.; YU, H. *et al.* Spermidine Exhibits Protective Effects Against Traumatic Brain Injury. **Cell Mol Neurobiol**, 40, n. 6, p. 927-937, Aug 2020.

HUANG, Y.; GUO, Y.; ZHANG, H.; DENG, J. *et al.* Repeated Exposure to Lidocaine Induces Alzheimer's-Like Cognitive Impairment and Neuropathology in

Aged Mice Through BDNF-Regulated Autophagy. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, 29, n. 23, p. e70970, 2025.

INTERNATIONAL, A. s. D. **Dementia facts & figures**. 2024. Disponível em: <https://www.alzint.org/about/dementia-facts-figures/>. Acesso em: 03 May 2026.

JEFFERY, K. J.; MORRIS, R. G. Cumulative long-term potentiation in the rat dentate gyrus correlates with, but does not modify, performance in the water maze. **Hippocampus**, 3, n. 2, p. 133-140, 1993.

JIANG, X.; ZHOU, J.; WANG, Y.; CHEN, L. *et al.* Rational design and biological evaluation of a new class of thiazolopyridyl tetrahydroacridines as cholinesterase and GSK-3 dual inhibitors for Alzheimer's disease. **European journal of medicinal chemistry**, 207, p. 112751, 2020.

JIN, J.; MAREN, S. Prefrontal-Hippocampal Interactions in Memory and Emotion. **Front Syst Neurosci**, 9, p. 170, 2015.

JINDE, S.; ZSIROS, V.; JIANG, Z.; NAKAO, K. *et al.* Hilar mossy cell degeneration causes transient dentate granule cell hyperexcitability and impaired pattern separation. **Neuron**, 76, n. 6, p. 1189-1200, Dec 20 2012.

JOJO, G. M.; JOHNSON, J.; KUPPUSAMY, G.; KARRI, V. V. S. R. Alzheimer's disease: Epidemiology, etiology, risk factors, and future predictions. *In: Multi-Factorial Approach as a Therapeutic Strategy for the Management of Alzheimer's Disease*: Springer, 2025. p. 41-58.

KALARIA, R.; MAESTRE, G.; MAHINRAD, S.; ACOSTA, D. M. *et al.* The 2022 symposium on dementia and brain aging in low-and middle-income countries: highlights on research, diagnosis, care, and impact. **Alzheimer's & dementia**, 20, n. 6, p. 4290-4314, 2024.

KAMBLE, S. M.; PATIL, K. R.; UPAGANLAWAR, A. B. Etiology, pathogenesis of Alzheimer's disease and amyloid beta hypothesis. *In: Alzheimer's Disease and Advanced Drug Delivery Strategies*: Elsevier, 2024. p. 1-11.

KANG, R.; ZEH, H. J.; LOTZE, M. T.; TANG, D. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. **Cell Death Differ**, 18, n. 4, p. 571-580, Apr 2011.

KIBE, R.; KURIHARA, S.; SAKAI, Y.; SUZUKI, H. *et al.* Upregulation of colonic luminal polyamines produced by intestinal microbiota delays senescence in mice. **Sci Rep**, 4, p. 4548, Apr 1 2014.

KIM, T. A.; SYTY, M. D.; WU, K.; GE, S. Adult hippocampal neurogenesis and its impairment in Alzheimer's disease. **Zoological research**, 43, n. 3, p. 481, 2022.

KOWIAŃSKI, P.; LIETZAU, G.; CZUBA, E.; WAŚKOW, M. *et al.* BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. **Cell Mol Neurobiol**, 38, n. 3, p. 579-593, Apr 2018.

LA ROSA, F.; ZOIA, C. P.; BAZZINI, C.; BOLOGNINI, A. *et al.* Modulation of MAPK- and PI3/AKT-Dependent Autophagy Signaling by Stavudine (D4T) in PBMC of Alzheimer's Disease Patients. **Cells**, 11, n. 14, Jul 12 2022.

LAZAROV, O.; GUPTA, M.; KUMAR, P.; MORRISSEY, Z. *et al.* Memory circuits in dementia: The engram, hippocampal neurogenesis and Alzheimer's disease. **Progress in neurobiology**, 236, p. 102601, 2024.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, 51, n. 2, p. 216-226, 2008.

LEÓN-ARCIA, K.; ANDRADE-GUERRERO, J.; MARTÍNEZ-OROZCO, H.; VILLEGAS-ROJAS, M. M. *et al.* First unified time-course of Alzheimer's-like pathology in the intracerebroventricular streptozotocin-rat model: A Systematic Review. **Ageing Research Reviews**, p. 102918, 2025.

LESTER-COLL, N.; RIVERA, E. J.; SOSCIA, S. J.; DOIRON, K. *et al.* Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's disease**, 9, n. 1, p. 13-33, 2006.

LEVIN, J.; HASAN, A.; ALEJANDRE, I. A.; LORENZI, I. *et al.* Diseases Affecting Middle-Aged and Elderly Individuals With Trisomy 21. **Dtsch Arztebl Int**, 120, n. 1-2, p. 14-24, Jan 9 2023.

LIU, M.; CHEN, J.; SUN, Y. Mechanistic insights into elevated caspase-8 expression driving caspase-3 activation and Gasdermin E-dependent pyroptosis in Alzheimer's disease. **Exp Cell Res**, 449, n. 1, p. 114594, Jun 1 2025.

LIU, P.-P.; XIE, Y.; MENG, X.-Y.; KANG, J.-S. History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. **Signal transduction and targeted therapy**, 4, n. 1, p. 29, 2019.

LIVINGSTON, G.; HUNTLEY, J.; LIU, K. Y.; COSTAFREDA, S. G. *et al.* Dementia prevention, intervention, and care: 2024 report of the Lancet standing Commission. **Lancet**, 404, n. 10452, p. 572-628, Aug 10 2024.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, A.; SOTO, E. C.; ORDOVÁS, J. M.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. Á. *et al.* Longitudinal association of dietary spermidine with hepatic function indexes and cardiometabolic traits in older adults with metabolic syndrome. 2025.

MA, C.; HONG, F.; YANG, S. Amyloidosis in Alzheimer's disease: pathogeny, etiology, and related therapeutic directions. **Molecules**, 27, n. 4, p. 1210, 2022.

MADEO, F.; EISENBERG, T.; PIETROCOLA, F.; KROEMER, G. Spermidine in health and disease. **Science**, 359, n. 6374, p. eaan2788, 2018.

MADEO, F.; EISENBERG, T.; PIETROCOLA, F.; KROEMER, G. Spermidine in health and disease. **Science**, 359, n. 6374, Jan 26 2018.

MAGLIONE, M.; KOCHLAMAZASHVILI, G.; EISENBERG, T.; RÁCZ, B. *et al.* Spermidine protects from age-related synaptic alterations at hippocampal mossy fiber-CA3 synapses. **Sci Rep**, 9, n. 1, p. 19616, Dec 23 2019.

MAJOR, D.; DÓSA, N.; BALÁZS, P.; FEKETE, M. *et al.* Global trends in the incidence and prevalence of Alzheimer's disease. **Advances in Translational Research**, p. 1661.2025. 00106, 2026.

MAKLETSOVA, M.; RIKHIREVA, G.; KIRICHENKO, E. Y.; TRINITATSKY, I. Y. *et al.* The role of polyamines in the mechanisms of cognitive impairment. **Neurochemical Journal**, 16, n. 3, p. 283-294, 2022.

MARLATT, M. W.; BAUER, J.; ARONICA, E.; VAN HAASTERT, E. S. *et al.* Proliferation in the Alzheimer hippocampus is due to microglia, not astroglia, and occurs at sites of amyloid deposition. **Neural Plasticity**, 2014, n. 1, p. 693851, 2014.

MATHER, M.; CLEWETT, D.; SAKAKI, M.; HARLEY, C. W. Norepinephrine ignites local hotspots of neuronal excitation: How arousal amplifies selectivity in perception and memory. **Behavioral and Brain Sciences**, 39, p. e200, 2016.

MCSHANE, R.; WESTBY, M. J.; ROBERTS, E.; MINAKARAN, N. *et al.* Memantine for dementia. **Cochrane Database Syst Rev**, 3, n. 3, p. Cd003154, Mar 20 2019.

MERIGHI, S.; NIGRO, M.; TRAVAGLI, A.; GESSI, S. Microglia and Alzheimer's disease. **International journal of molecular sciences**, 23, n. 21, p. 12990, 2022.

MILLER, S. M.; SAHAY, A. Functions of adult-born neurons in hippocampal memory interference and indexing. **Nat Neurosci**, 22, n. 10, p. 1565-1575, Oct 2019.

MIRANDA, M.; MORICI, J. F.; ZANONI, M. B.; BEKINSCHTEIN, P. Brain-derived neurotrophic factor: a key molecule for memory in the healthy and the pathological brain. **Frontiers in cellular neuroscience**, 13, p. 472800, 2019.

MORE, S. A.; MUNDKE, R. N.; AGRAWAL, Y. O.; AWATHALE, S. N. *et al.* Intracerebroventricular streptozotocin-induced animal model of Alzheimer's disease: revealing dose optimization, administration regimen, and molecular pathways. **Laboratory Animal Research**, 42, n. 1, p. 16, 2026.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of neuroscience methods**, 11, n. 1, p. 47-60, 1984.

MUELLER, S.; STABLES, L.; DU, A.; SCHUFF, N. *et al.* Measurement of hippocampal subfields and age-related changes with high resolution MRI at 4 T. **Neurobiology of aging**, 28, n. 5, p. 719-726, 2007.

MUÑOZ-ESPARZA, N. C.; LATORRE-MORATALLA, M. L.; COMAS-BASTÉ, O.; TORO-FUNES, N. *et al.* Polyamines in food. **Frontiers in nutrition**, 6, p. 108, 2019.

NAGAHARA, A. H.; TUSZYNSKI, M. H. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. **Nature reviews Drug discovery**, 10, n. 3, p. 209-219, 2011.

NASB, M.; TAO, W.; CHEN, N. Alzheimer's disease puzzle: delving into pathogenesis hypotheses. **Aging and disease**, 15, n. 1, p. 43, 2024.

NGUYEN, T. T.; TA, Q. T. H.; NGUYEN, T. K. O.; NGUYEN, T. T. D. *et al.* Type 3 diabetes and its role implications in Alzheimer's disease. **International journal of molecular sciences**, 21, n. 9, p. 3165, 2020.

NICHOLS, E.; STEINMETZ, J. D.; VOLLSET, S. E.; FUKUTAKI, K. *et al.* Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet Public Health**, 7, n. 2, p. e105-e125, 2022.

NIKOLETOPOULOU, V.; SIDIROPOULOU, K.; KALLERGI, E.; DALEZIOS, Y. *et al.* Modulation of autophagy by BDNF underlies synaptic plasticity. **Cell metabolism**, 26, n. 1, p. 230-242. e235, 2017.

NIÑO-RIVERO, S.; CABRAL, R.; FLEITAS, J.; ALCALDE-AHLIG, L. *et al.* Temporal Progression of Recognition Memory Impairment, Astroglisis, and Cholinergic Dysfunction in the Streptozotocin Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, 26, n. 22, p. 10944, 2025.

NONINO, F.; MINOZZI, S.; SAMBATI, L.; DEL GIOVANE, C. *et al.* Amyloid-beta-targeting monoclonal antibodies for people with mild cognitive impairment or mild dementia due to Alzheimer's disease. **Cochrane Database Syst Rev**, 4, n. 4, p. Cd016297, Apr 16 2026.

ÖZDEMİR, Ç.; ARSLAN, M.; KÜÇÜK, A.; YIĞMAN, Z. *et al.* Therapeutic Efficacy of Boric Acid Treatment on Brain Tissue and Cognitive Functions in Rats with Experimental Alzheimer's Disease. **Drug Des Devel Ther**, 17, p. 1453-1462, 2023.

PANDOLFI, S.; BJÖRKLUND, G.; GHEZZI, C.; PAONE, F. M. *et al.* Spermidine in the aging brain: mechanisms, preclinical evidence, and clinical perspectives. **Molecular Biology Reports**, 53, n. 1, p. 643, 2026.

PATEL, M. M.; ANCHORDOQUY, T. J. Ability of spermine to differentiate between DNA sequences—Preferential stabilization of A-tracts. **Biophysical chemistry**, 122, n. 1, p. 5-15, 2006.

PEKAR, T.; WENDZEL, A.; FLAK, W.; KREMER, A. *et al.* Spermidine in dementia : Relation to age and memory performance. **Wien Klin Wochenschr**, 132, n. 1-2, p. 42-46, Jan 2020.

PETERSON, A. R.; BINDER, D. K. Post-translational Regulation of GLT-1 in Neurological Diseases and Its Potential as an Effective Therapeutic Target. **Front Mol Neurosci**, 12, p. 164, 2019.

PINTO, B. A. S.; MELO, T. M.; FLISTER, K. F. T.; FRANÇA, L. M. *et al.* Sustained Exposure to High-Sucrose Diet Triggers Endoplasmic Reticulum Stress in Hippocampus and Anticipates Cognitive and Motor Impairments in Adults Rats. **The FASEB Journal**, 31, p. 636.634-636.634, 2017.

PINTO, B. A. S.; MELO, T. M.; FLISTER, K. F. T.; FRANÇA, L. M. *et al.* Hippocampal endoplasmic reticulum stress hastens motor and cognitive decline in adult male rats sustainedly exposed to high-sucrose diet. **Antioxidants**, 11, n. 7, p. 1395, 2022.

RAHMAN, A.; JAISWAL, A.; KESHARI, P.; SINGH, D. K. Alzheimer's: Epidemiology, Pathophysiology, Diagnosis, and Treatments. *In*: **Proteostasis: Investigating Molecular Dynamics in Neurodegenerative Disorders**: Springer, 2025. p. 39-72.

RAO, Y. L.; GANARAJA, B.; MURLIMANJU, B. V.; JOY, T. *et al.* Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review. **3 Biotech**, 12, n. 2, p. 55, 2022.

REDDY, P. H.; YIN, X.; MANCZAK, M.; KUMAR, S. *et al.* Mutant APP and amyloid beta-induced defective autophagy, mitophagy, mitochondrial structural and functional changes and synaptic damage in hippocampal neurons from Alzheimer's disease. **Human molecular genetics**, 27, n. 14, p. 2502-2516, 2018.

RODRIGUEZ, A.; ZHANG, H.; KLAMINDER, J.; BRODIN, T. *et al.* ToxTrac: a fast and robust software for tracking organisms. **Methods in Ecology and Evolution**, 9, n. 3, p. 460-464, 2018.

SADASIVAN, S. K.; VASAMSETTI, B.; SINGH, J.; MARIKUNTE, V. V. *et al.* Exogenous administration of spermine improves glucose utilization and decreases bodyweight in mice. **Eur J Pharmacol**, 729, p. 94-99, Apr 15 2014.

SCARANO, N.; MUSUMECI, F.; CASINI, B.; BRULLO, C. *et al.* Alzheimer's disease etiology hypotheses and therapeutic strategies: a perspective. **International Journal of Molecular Sciences**, 26, n. 14, p. 6980, 2025.

SCHARFMAN, H. E.; MYERS, C. E. Hilar mossy cells of the dentate gyrus: a historical perspective. **Front Neural Circuits**, 6, p. 106, 2012.

SCHELTENS, P.; DE STROOPER, B.; KIVIPELTO, M.; HOLSTEGE, H. *et al.* Alzheimer's disease. **The Lancet**, 397, n. 10284, p. 1577-1590, 2021.

SCHNEIDER, L. S.; GEFFEN, Y.; RABINOWITZ, J.; THOMAS, R. G. *et al.* Low-dose ladostigil for mild cognitive impairment: A phase 2 placebo-controlled clinical trial. **Neurology**, 93, n. 15, p. e1474-e1484, 2019.

SCHROEDER, S.; HOFER, S. J.; ZIMMERMANN, A.; PECHLANER, R. *et al.* Dietary spermidine improves cognitive function. **Cell Rep**, 35, n. 2, p. 108985, Apr 13 2021.

SCHWARZ, C.; BENSON, G. S.; HORN, N.; WURDACK, K. *et al.* Effects of Spermidine Supplementation on Cognition and Biomarkers in Older Adults With Subjective Cognitive Decline: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Netw Open**, 5, n. 5, p. e2213875, May 2 2022.

SCHWARZ, C.; HORN, N.; BENSON, G.; WRACHTRUP CALZADO, I. *et al.* Spermidine intake is associated with cortical thickness and hippocampal volume in older adults. **Neuroimage**, 221, p. 117132, Nov 1 2020.

SHAH, S.; PURANDARE, N.; AGRAWAL, A.; RANGARAJAN, V. A pictorial review on somatostatin receptor scintigraphy in neuroendocrine tumors: The role of multimodality imaging with SRS and GLUT receptor imaging with FDG PET-CT. **Indian J Radiol Imaging**, 22, n. 4, p. 267-275, Oct 2012.

SHU, J.; JIAO, Y.; WEI, W.; YAN, A. Spermidine Inhibits M1 Microglia Polarization in a Mouse Model of Parkinson's Disease and BV2 Cells via NF- κ B/STAT-1 Pathway. **Brain and Behavior**, 15, n. 3, p. e70410, 2025.

SIGNOR, C.; GIRARDI, B. A.; WENDEL, A. L.; FRÜHAUF, P. K. S. *et al.* Spermidine improves the persistence of reconsolidated fear memory and neural differentiation in vitro: Involvement of BDNF. **Neurobiology of Learning and Memory**, 140, p. 82-91, 2017.

SIGNOR, C.; MELLO, C. F.; PORTO, G. P.; RIBEIRO, D. A. *et al.* Spermidine improves fear memory persistence. **European journal of pharmacology**, 730, p. 72-76, 2014.

SIMS-ROBINSON, C.; KIM, B.; FELDMAN, E. L. Diabetes and cognitive dysfunction. *In*: **Neurobiology of brain disorders**: Elsevier, 2015. p. 189-201.

SOARES, C.; DA ROS, L. U.; MACHADO, L. S.; ROCHA, A. *et al.* The glutamatergic system in Alzheimer's disease: a systematic review with meta-analysis. **Molecular psychiatry**, 29, n. 7, p. 2261-2273, 2024.

SOTOLONGO, K.; GHISO, J.; ROSTAGNO, A. Nrf2 activation through the PI3K/GSK-3 axis protects neuronal cells from A β -mediated oxidative and metabolic damage. **Alzheimer's Research & Therapy**, 12, n. 1, p. 13, 2020.

STYR, B.; SLUTSKY, I. Imbalance between firing homeostasis and synaptic plasticity drives early-phase Alzheimer's disease. **Nat Neurosci**, 21, n. 4, p. 463-473, Apr 2018.

SU, J. H.; ZHAO, M.; ANDERSON, A. J.; SRINIVASAN, A. *et al.* Activated caspase-3 expression in Alzheimer's and aged control brain: correlation with Alzheimer pathology. **Brain Res**, 898, n. 2, p. 350-357, Apr 20 2001.

SUEMOTO, C. K.; CUSTODIO, N.; AGUILAR, D.; AVILA-FUNES, J. A. *et al.* The landscape of dementia research, diagnosis, treatment, and care in Latin America. **Alzheimer's & Dementia**, 22, n. 3, p. e71309, 2026.

TAGLIALATELA, G.; HOGAN, D.; ZHANG, W.-R.; DINELEY, K. T. Intermediate- and long-term recognition memory deficits in Tg2576 mice are reversed with acute calcineurin inhibition. **Behavioural brain research**, 200, n. 1, p. 95-99, 2009.

TAVERNARAKIS, N. Regulation and roles of autophagy in the brain. **GeNeDis 2018: Genetics and Neurodegeneration**, p. 33-33, 2020.

TIL, H.; FALKE, H.; PRINSEN, M.; WILLEMS, M. Acute and subacute toxicity of tyramine, spermidine, spermine, putrescine and cadaverine in rats. **Food and Chemical Toxicology**, 35, n. 3-4, p. 337-348, 1997.

TROPEA, M. R.; SANFILIPPO, G.; GIANNINO, F.; DAVÌ, V. *et al.* Innate Preferences Affect Results of Object Recognition Task in Wild Type and Alzheimer's Disease Mouse Models. **J Alzheimers Dis**, 85, n. 3, p. 1343-1356, 2022.

WAKABAYASHI, T.; YAMAGUCHI, K.; MATSUI, K.; SANO, T. *et al.* Differential effects of diet-and genetically-induced brain insulin resistance on amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. **Molecular Neurodegeneration**, 14, n. 1, p. 15, 2019.

WAN CHIK, M.; RAMLI, N. A.; MOHAMAD NOR HAZALIN, N. A.; SURINDAR SINGH, G. K. Streptozotocin mechanisms and its role in rodent models for Alzheimer's disease. **Toxin reviews**, 42, n. 1, p. 491-502, 2023.

WANG, W.; ZHAO, F.; MA, X.; PERRY, G. *et al.* Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. **Molecular neurodegeneration**, 15, n. 1, p. 30, 2020.

WANG, X.; IKEGUCHI, Y.; MCCLOSKEY, D. E.; NELSON, P. *et al.* Spermine synthesis is required for normal viability, growth, and fertility in the mouse. **J Biol Chem**, 279, n. 49, p. 51370-51375, Dec 3 2004.

WARBURTON, E.; BROWN, M. Neural circuitry for rat recognition memory. **Behavioural brain research**, 285, p. 131-139, 2015.

WIRTH, M.; BENSON, G.; SCHWARZ, C.; KÖBE, T. *et al.* The effect of spermidine on memory performance in older adults at risk for dementia: A randomized controlled trial. **Cortex**, 109, p. 181-188, Dec 2018.

WÓJCIK, P.; JASTRZĘBSKI, M. K.; ZIĘBA, A.; MATOSIUK, D. *et al.* Caspases in Alzheimer's Disease: Mechanism of Activation, Role, and Potential Treatment. **Mol Neurobiol**, 61, n. 7, p. 4834-4853, Jul 2024.

WOODWARD, M.; BENNETT, D. A.; RUNDEK, T.; PERRY, G. *et al.* The relationship between hippocampal changes in healthy aging and Alzheimer's disease: a systematic literature review. **Frontiers in aging neuroscience**, 16, p. 1390574, 2024.

WU, H.; MIN, J.; IKEGUCHI, Y.; ZENG, H. *et al.* Structure and mechanism of spermidine synthases. **Biochemistry**, 46, n. 28, p. 8331-8339, 2007.

XIA, Y.; PROKOP, S.; GIASSON, B. I. "Don't Phos Over Tau": recent developments in clinical biomarkers and therapies targeting tau phosphorylation in Alzheimer's disease and other tauopathies. **Molecular neurodegeneration**, 16, n. 1, p. 37, 2021.

XIAO, Y.; HU, Y.; HUANG, K.; INITIATIVE, A. s. D. N. Atrophy of hippocampal subfields relates to memory decline during the pathological progression of Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, 15, p. 1287122, 2023.

XU, T.-T.; LI, H.; DAI, Z.; LAU, G. K. *et al.* Spermidine and spermine delay brain aging by inducing autophagy in SAMP8 mice. **Aging (Albany NY)**, 12, n. 7, p. 6401, 2020.

YAMAMOTO, H.; UCHIGATA, Y.; OKAMOTO, H. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. **Nature**, 294, n. 5838, p. 284-286, 1981.

YAN, P.; XUE, Z.; LI, D.; NI, S. *et al.* Dysregulated CRTC1-BDNF signaling pathway in the hippocampus contributes to A β oligomer-induced long-term synaptic plasticity and memory impairment. **Experimental Neurology**, 345, p. 113812, 2021.

YANKAH, V. V.; OHSHIMA, T.; KOIZUMI, C. Effects of processing and storage on some chemical characteristics and lipid composition of a Ghanaian fermented fish product. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 63, n. 2, p. 227-235, 1993.

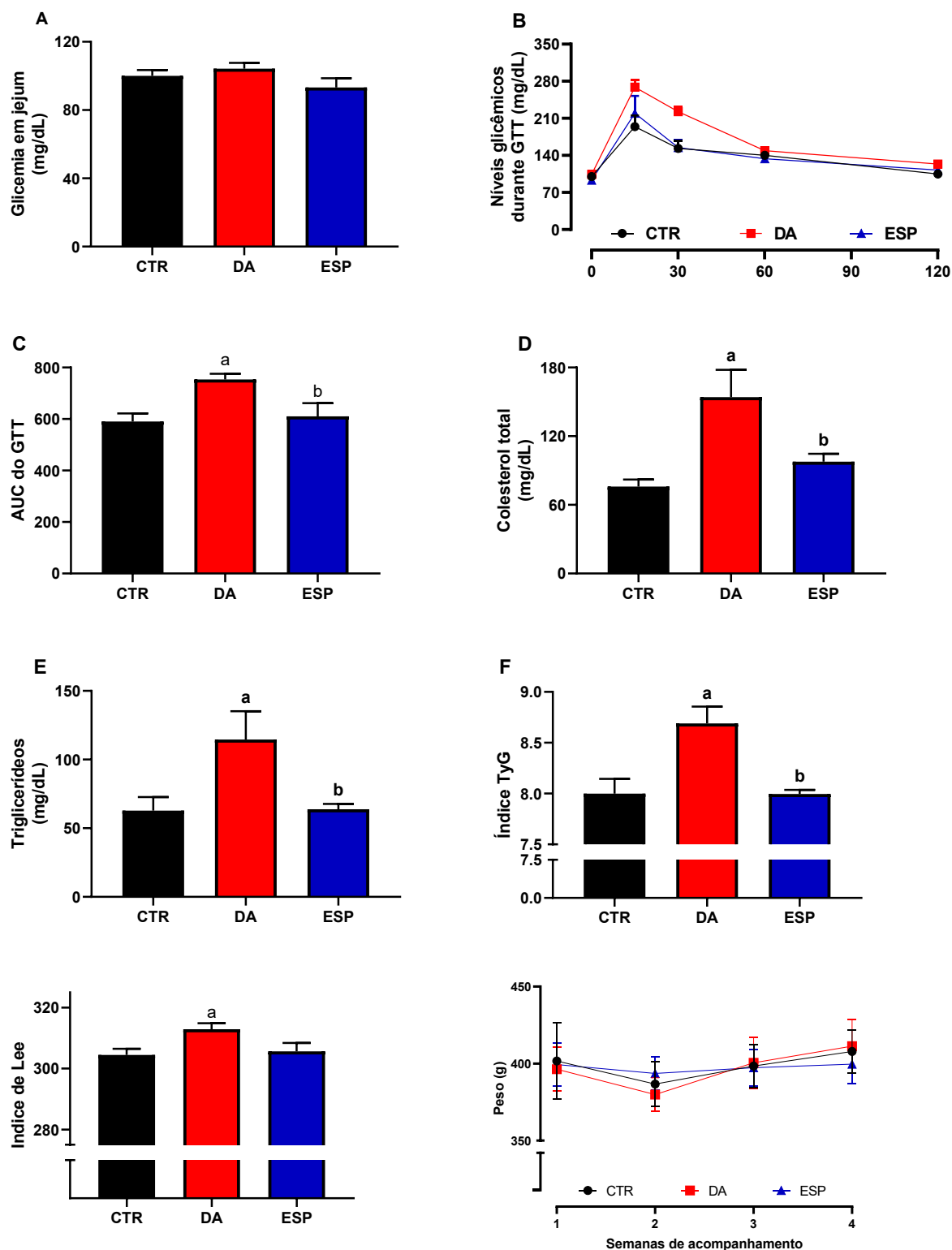
YU, L.; LI, B.; LI, N.; YE, K. X. *et al.* Spermidine for cognitive ageing: insights into observational and interventional studies. **General Psychiatry**, 38, n. 5, p. e101723, 2025.

YULIANI, T.; LOBENTANZER, S.; KLEIN, J. Central cholinergic function and metabolic changes in streptozotocin-induced rat brain injury. **Journal of neurochemistry**, 158, n. 6, p. 1307-1319, 2021.

ZHAO, X.; LI, D.; ZHU, Z.; LI, S. *et al.* Spermidine attenuates microglial activation, neuroinflammation, and neuronal injury in rat model of vascular dementia. **Neuroscience**, 573, p. 355-363, May 7 2025.

ZOU, D.; ZHAO, Z.; LI, L.; MIN, Y. *et al.* A comprehensive review of spermidine: Safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 21, n. 3, p. 2820-2842, 2022.

APÊNDICE A – Perfil Metabólico e Morfométrico dos animais do estudo



Repercussões metabólicas induzidas pelo modelo experimental de DA e benefícios do tratamento com a espermidina. A) Níveis glicêmicos em jejum (mg/dL); (B) Níveis glicêmicos após bolus de glicose (2g/Kg) no teste de tolerância à glicose (GTT) (mg/dL); (C) Área sob a curva (AUC) do GTT; (D) Níveis séricos de colesterol total (mg/dL); (E) Níveis séricos de triglicerídeos (mg/dL); (F) Índice triglicerídeos-glicose (TyG). (G) Índice de Lee. (H) Progressão do peso dos animais ao longo de 4 semanas, do recebimento dos animais até a eutanásia. Pontos e barras representam média $\pm$ SEM (ANOVA Newman Keuls). a significa $p < 0,05$ quando comparado CTR/DA, b significa $p < 0,05$ quando comparado DA/ESP.

APÊNDICE B – Certificado de autorização da CEUA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CIAEP: 02.0341.2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO



C E R T I F I C A D O (03/2023)

Certificamos que a proposta intitulada: **“Investigação da espermidina como uma chaperona farmacológica para o tratamento de alterações metabólicas e prejuízos cognitivos em camundongos com diabetes mellitus”** Processo 23115.006182/2023-35, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 14 de abril de 2023.

We certify that the proposal: **“Investigation of spermidine as a pharmacological chaperone for the treatment of metabolic changes and cognitive impairments in mice with diabetes mellitus”**, Process 23115.006182/2023-35, under the responsibility of **Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of April 14, 2023.

PROPOSTA

Finalidade: Pesquisa **Área:** Ciências da Saúde
Vigência: 19/04/2023 a 19/04/2026

ANIMAIS

Origem: Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão
Espécie: *Mus musculus* **Sexo:** Fêmeas **Idade:** 8 semanas **AMOSTRA**
Var. Swiss **Peso:** 30 g **108**

Local do experimento: Biotério Setorial da Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão – CCBS/UFMA.

São Luís, 17 de abril de 2023

Prof. Dra. Rachel Melo Ribeiro
Vice-Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA