KATHERINE GARCIA RAVELLI

**Envolvimento da NADPH oxidase 2 na
neurodegeneração induzida por estreptozotocina**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto Giorgetti de Britto

Versão Original

São Paulo
2017

RESUMO

RAVELLI, K. G. **Envolvimento da NADPH oxidase 2 na neurodegeneração induzida por estreptozotocina**. 2017. 110 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa caracterizada por progressiva perda de memória, confusão, pobreza de julgamento, distúrbios de linguagem, agitação e alucinações. A degeneração neuronal no sistema nervoso de pacientes com DA foi relacionado com danos oxidativos a diversos tipos de biomoléculas. Alguns estudos sugerem o envolvimento da NADPH oxidase (Nox), uma enzima que catalisa a redução do oxigênio para produzir espécies reativas de oxigênio (EROs), na patogênese da DA. Até o momento, não existem estudos relacionando o envolvimento da Nox2 na patologia Alzheimer-símile induzida por estreptozotocina (STZ). Portanto, o objetivo principal desse trabalho foi investigar o envolvimento da Nox2 nas memórias de curto e longo prazo, na expressão de proteínas relacionadas à DA, na inflamação e morte neuronal no hipocampo na patologia Alzheimer-símile induzida por STZ, comparando os efeitos dessa droga em camundongos KOgp91^{phox-/-} e camundongos selvagens. A expressão gênica de Nox2 foi encontrada aumentada em camundongos selvagens após a injeção de STZ. No teste de reconhecimento de objetos, os camundongos selvagens injetados com STZ apresentaram comprometimento nas memórias de curto e longo prazo, o que não foi observado após a deleção de Nox2. Em adição, o tratamento com STZ induziu aumento na fosforilação de TAU e aumento na expressão de proteína beta-amiloide, neurofilamentos, caspase-3 e marcadores de astrócitos e microglia em camundongos selvagens, mas não em KOgp91^{phox-/-}. O tratamento com STZ aumentou significativamente a liberação de citocinas (IL-1 β , IL-2, IFN- γ , IL-12/23e IL-4) em camundongos selvagens. A deleção de Nox2 preveniu a liberação de citocinas após o tratamento com STZ. Curiosamente, a deleção de Nox2 teve um impacto positivo na produção basal de IL-10. Em resumo, nossos dados sugerem que a geração de EROs dependente de Nox2 contribui com a patologia Alzheimer-símile induzida por STZ via múltiplos mecanismos. A deleção de Nox2 preveniu comprometimento cognitivo, hiperfosforilação de TAU, aumento na expressão de β A e neurofilamentos e neuroinflamação no hipocampo após tratamento com STZ. Além disso, o nível basal de IL-10 foi encontrado significativamente aumentado após a deleção de Nox2, sugerindo que este pode ser um potencial mecanismo pelo qual os camundongos KOgp91^{phox-/-} são protegidos contra a patologia Alzheimer-símile induzida por STZ. Juntos estes diferentes mecanismos podem contribuir para a neuroproteção observada.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer. Estreptozotocina. NADPH oxidase 2. Neuroinflamação

ABSTRACT

RAVELLI, K. G. **The involvement of NADPH 2 in streptozotocin-induced neurodegeneration.** 2017. 110 p. Ph.D. Thesis (Human Physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by the progressive loss of memory, confusion, poor judgment, language disturbance, agitation and hallucinations. The neuronal degeneration in the nervous system of patients with AD has been linked to oxidative damage to various types of biomolecules. Some studies have suggested the involvement of NADPH oxidase (Nox), an enzyme that catalyzes the reduction of oxygen to produce reactive oxygen species (ROS), in the pathogenesis of AD. So far, there has been no direct study relating the involvement of Nox2 in Streptozotocin (STZ)-induced AD-like pathology. Therefore, the main purpose of this study was to investigate the involvement of Nox2 in short and long-term memory, in AD-related proteins expression, inflammation and neuronal death in the hippocampus in the STZ-induced AD-like pathology by comparing the effects of that drug on mice lacking gp91^{phox-/-} and wild type (Wt) mice. Nox2 gene expression was found increased in Wt mice after STZ injection. In object recognition test, Wt mice injected with STZ presented impairment in short and long term memory, which was not observed following Nox2 depletion. In addition, STZ treatment induced increased phosphorylation of Tau and increased amyloid- β protein, neurofilaments, caspase-3 and astrocyte and microglial markers expression in Wt mice but not in gp91^{phox-/-} mice. STZ treatment significantly increased cytokines (IL-1 β , IL-2, IFN- γ , IL-12/23, IL-4) release in Wt mice. Nox2 depletion prevented cytokines release following STZ treatment. Importantly, Nox2 depletion had a profound positive effect on the IL-10 baseline production. In summary, our data suggest that the Nox2-dependent ROS generation contributes to the STZ-induced AD-like pathology via multiple mechanisms. Nox2 deletion prevented cognitive impairment, Tau phosphorylation, increased expression of A β and neurofilaments and decreased neuroinflammation in hippocampi after STZ treatment. Moreover, the baseline IL-10 levels were found profoundly increased following Nox2 deletion, suggesting that this is one of the potential mechanisms by which gp91^{phox-/-} mice are protected against STZ-induced AD-like pathology. Altogether, those different mechanisms may contribute to the neuroprotection observed.

Keywords: Alzheimer's disease. Streptozotocin. NADPH oxidase 2. Neuroinflammation

1 INTRODUÇÃO

1.1 A Doença de Alzheimer

Um dos principais problemas de saúde que acometem a população idosa é a demência. Após os 60 anos de idade, sua prevalência dobra a cada 5 anos. A Doença de Alzheimer (DA), distúrbio degenerativo de caráter progressivo, é responsável por cerca de 50% a 60% de todos os tipos de demência que afetam indivíduos com mais de 65 anos (HERRERA et al., 2002; KAR et al., 2004). Estudos realizados em 2005 revelam que cerca de 24 milhões de pessoas haviam sido acometidas pela doença e, segundo estimativas, esse valor pode dobrar a cada 20 anos, devendo atingir 42 milhões de pessoas em 2020 e 81 milhões em 2040 (FERRI et al., 2005). O aumento da expectativa de vida mundial torna crescente o número de indivíduos com idades nas quais as doenças neurodegenerativas se tornam mais frequentes, fato que, no futuro, pode se tornar um considerável problema social (HERRERA et al., 2002; SELKOE, 2001)

A DA, primeiramente descrita pelo psiquiatra alemão Alois Alzheimer, em 1906, se caracteriza por perda progressiva de memória, função cognitiva desordenada, declínio da função da linguagem e alterações comportamentais, incluindo paranoia, delírios e perda da adequação social. Nas fases mais avançadas da doença a desaceleração de funções motoras, como marcha e coordenação, levam a um quadro semelhante ao parkinsonismo (SELKOE, 2001).

Fatores genéticos e ambientais podem contribuir para o desenvolvimento da DA esporádica. Idade, trauma cranioencefálico, depressão, exposição a substâncias tóxicas e deficiência de fatores neurotróficos podem ser determinantes para o desenvolvimento desta patologia (MULLER-SPAHN; HOCK, 1999). Na DA familiar (que constitui apenas 1 a 5% dos casos), mutações conhecidas nos genes que codificam a proteína precursora amiloide (APP) (no cromossomo 21), a presenilina (PS) 1 (no cromossomo 14) e a presenilina 2 (no cromossomo 1) estão relacionadas ao desenvolvimento precoce (antes dos 65 anos) desta patologia. Mais de duzentas mutações já foram descritas nestes genes (LISTA et al., 2015).

A APP é uma proteína transmembrana cujas funções conhecidas consistem em estimulação do crescimento de neuritos, modulação da plasticidade sináptica, regulação da sobrevivência neuronal, regulação da adesão celular e proteção contra insultos metabólicos e oxidativos (MATTSON, 1997). Esta proteína sofre dois

eventos de clivagem proteolítica que podem prevenir ou induzir a formação de uma proteína insolúvel, a β -amiloide (β A). A clivagem de APP pela α -secretase gera isoformas solúveis que impedem a formação de β A, uma vez que a clivagem interrompe a sequência de aminoácidos que forma o peptídeo. Entretanto, quando a APP é clivada pela β -secretase, ocorre a formação de um fragmento que contém a sequência intacta do β A, de forma que esse fragmento, por sua vez, pode ser clivado pela γ -secretase, resultando na formação do peptídeo β A (Figura 1) (LAFERLA, 2002).

Figura 1 - Formação do peptídeo β A através da clivagem proteolítica da proteína precursora amiloide pelas enzimas β -secretase e γ -secretase. Adaptado de LaFerla, 2002.

A principal alteração histopatológica observada na DA é o acúmulo de material fibroso insolúvel no cérebro, tanto em nível extracelular, em forma de placas neuríticas ou senis, como em nível intracelular, por lesões neurofibrilares. É possível que estas alterações exerçam importante papel no desenvolvimento dos sintomas da doença, e que, além disso, supostamente resultem na degeneração de neurônios com consequente redução no número de sinapses (GOEDERT, 1996).

As lesões neurofibrilares ocorrem nos corpos celulares e nos dendritos apicais como emaranhados neurofibrilares (NFTs), nos dendritos distais, como filamentos de neuropila e em células neuronais anormais, associadas a placas

amilóides. Os NFTs contêm filamentos helicoidais ou retos emparelhados. Estes filamentos são compostos por microtúbulos associados à proteína TAU atipicamente hiperfosforilada (GOEDERT, 1996; LEE, 1995). Esta proteína, em condições normais, possui a função de estabilizar os microtúbulos do citoesqueleto neuronal, sendo esta atividade regulada por processos de fosforilação e desfosforilação (IQBAL; GRUNDKE-IQBAL, 1997).

O acúmulo de NFTs foi descrito em estruturas tais como região CA1 do hipocampo, córtex entorrinal, neocórtex, e diversas áreas subcorticais, incluindo amígdala, núcleo basal de Meynert, área tegmental ventral, rafe dorsal, bulbo olfatório e alguns núcleos talâmicos e hipotalâmicos. Extensa perda neuronal ocorre paralelamente à formação dos NFTs, o que pode contribuir para o declínio cognitivo observado em pacientes com DA. Os neurônios remanescentes sofrem diversas alterações morfológicas: distrofias neuríticas, remodelamento dendrítico e axonal, além de alterações na densidade dos espinhos dendríticos. Tais mudanças alteram a conectividade nos circuitos responsáveis por memória e cognição, provavelmente, contribuindo com os sintomas da DA (SPIRES; HYMAN, 2005).

As placas neuríticas, que afetam principalmente o neocórtex, o hipocampo e a amígdala (SPIRES; HYMAN, 2005), são constituídas por um núcleo central, composto por proteína βA , e uma coroa de células neuronais distróficas associadas à microglia e astrócitos (HARDY; ALLSOP, 1991). Sua identificação como principal componente das placas neuríticas, além da toxicidade descrita a diversas linhagens celulares e culturas primárias de neurônios, levam à hipótese de que tal proteína induz morte neuronal e, por isso, exerceria importante papel no desenvolvimento da DA. Alterações no influxo de cálcio, ativação de microglia, hiperfosforilação da proteína TAU, indução de apoptose e danos à membrana celular podem ser alguns dos mecanismos responsáveis pela toxicidade apresentada pela proteína β -amiloide (LI; HOLSCHEER, 2007).

O processo neurodegenerativo que ocorre na DA parece ser acompanhado de alterações na neurogênese, sugerindo que a doença atinge o cérebro por duas vias: neurodegeneração e alteração das células neurais progenitoras em nichos neurogênicos, como o giro denteado, no hipocampo. Os mecanismos moleculares envolvidos nas alterações neurogênicas ainda não foram totalmente elucidados (CREWS; MASLIAH, 2010). A expressão de marcadores de neurônios maduros no giro denteado se encontra diminuída em portadores da DA, sugerindo que parte

destes neurônios recém-gerados não seja capaz de amadurecer (LI et al., 2008). Além disso, estudos em camundongos transgênicos utilizados como modelos para a DA revelaram aumento na proliferação neuronal no hipocampo, mas diminuição no número de neurônios recém-diferenciados (MIROCHNIC et al., 2009). As alterações na neurogênese costumam aparecer em estágios iniciais da patologia, paralelamente aos primeiros sintomas (WINNER; KOHLZ; GAGE, 2011).

Na DA o acúmulo de proteína β -amiloide costuma ser cercado por células da microglia ativada, a qual é responsável pela resposta inflamatória crônica e afeta a homeostase β -amiloide. Tem sido proposto que a inflamação desempenha um papel importante na doença, uma vez que os encéfalos afetados exibem níveis elevados de moléculas inflamatórias e outros mediadores imunológicos. Quando ativada cronicamente, a microglia gera espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio. Vários marcadores de dano oxidativo são observados nos encéfalos afetados (WILKINSON et al., 2012). Existe grande interesse no potencial terapêutico de antiinflamatórios para a DA, porém, embora os estudos em animais tenham sido satisfatórios, os ensaios clínicos não foram bem sucedidos, possivelmente porque os antiinflamatórios agem preventivamente, mas não são capazes de tratar os sintomas (BLOCK, 2008).

Embora o sistema colinérgico seja o principal afetado pela DA (são reportadas alterações na inervação colinérgica, na síntese, na degradação e na recaptação da acetilcolina) (DEKOSKY; SCHEFF, 1990; ORTA-SALAZAR et al., 2014), diversos outros neurotransmissores e moduladores, incluindo serotonina, noradrenalina e somatostatina, são atingidos (KAR et al., 2004), o que explica as limitações terapêuticas do tratamento com drogas colinérgicas (FERRI et al., 2005).

Diversos estudos são realizados no sentido de encontrar o melhor tratamento para DA, incluindo o uso de compostos antioxidantes, neuroprotetores e/ou com propriedades neurotróficas, mas por ora não houve observação de melhora do declínio cognitivo em seres humanos portadores da doença. Assim sendo, os tratamentos clinicamente válidos para a Doença de Alzheimer permanecem restritos a intervenções sintomáticas, como a utilização de inibidores da acetilcolinesterase e drogas que atenuam distúrbios comportamentais (HARDY; SELKOE, 2002).

Muitos modelos animais têm sido utilizados para mimetizar as características da DA observadas em humanos. O primeiro modelo transgênico da DA foi obtido através da superexpressão da APP, uma vez que alterações no processamento

amiloide podem resultar em uma patologia Alzheimer-símile. Mutações em diversos genes são capazes de causar alterações na expressão de APP, gerando modelos animais desta patologia. Existem também modelos animais obtidos pela superexpressão da proteína TAU, ocasionando a formação de NFTs em regiões cerebrais específicas (SPIRES; HYMAN, 2005).

Diversas anormalidades são observadas no metabolismo da glicose cerebral de indivíduos com DA esporádica, apontando para um distúrbio primário da insulina neuronal e tradução do sinal do receptor de insulina, contribuindo para causar a demência (LANNERT; HOYER, 1998). Alguns estudos revelaram estados de resistência à insulina em cérebros de pacientes com DA *post mortem* (SALKOVIC-PETRISIC et al., 2013). A estreptozotocina (STZ), composto sintetizado por *Streptomyces achromogenes* e comumente utilizado na indução de diabetes mellitus (SZKUDELSKI, 2001), é conhecida por inibir a função dos receptores de insulina, rompendo o metabolismo de glicose e energia no cérebro (MULLER et al., 1998).

A injeção intracerebroventricular (*icv*) de STZ reduz a utilização de glicose cerebral, diminui as concentrações de ATP e produz diversos distúrbios metabólicos cerebrais, além de alterações comportamentais (NITSCH; HOYER, 1991). Ratos adultos que receberam injeção intracerebroventricular de STZ desenvolveram, em longo prazo, progressivo déficit de memória, aprendizagem e cognição (LANNERT et al., 1998). A injeção *icv* de STZ produz estresse oxidativo no cérebro de animais tratados, o que pôde ser observado através de aumento nos níveis de malondialdeído e diminuição nos níveis de glutathione. Este pode ser um modelo interessante da DA esporádica, pois, assim como ela, caracteriza-se por progressiva deterioração da função cognitiva paralelamente às modificações no metabolismo de glicose e energia (GRUNBLATT; HOYER; RIEDERER, 2004).

1.2 Estresse Oxidativo e a doença de Alzheimer

EROs são metabólitos do oxigênio molecular que, pela sua alta reatividade, são propensos a participar de reações de oxidação e redução (FRIDOVICH, 1997). Algumas EROs contêm um elétron desemparelhado em sua órbita mais externa (também conhecidas como radicais livres), o que as torna espécies de considerável reatividade. Outras EROs não possuem elétrons desemparelhados e, portanto, não

são radiculares, mas são propensas à transferência de elétrons com outras moléculas (GUZIK; HARRISON, 2006).

Níveis basais de EROs são importantes para a diferenciação e plasticidade neuronal e para a fisiologia das vias de sinalização intracelular (SERRANO et al., 2003; SUZUKAWA et al., 2000). Ainda, existem tipos celulares, como macrófagos e neutrófilos, especializados em sintetizar EROs que decompõem microrganismos invasores, mecanismo este que também pode causar dano oxidativo a tecidos adjacentes (BABIOR, 1999). A célula contém inúmeras defesas antioxidantes decompositoras de EROs. Além disso, os locais de produção de EROs e de distribuição de enzimas antioxidantes são compartimentalizados no interior da célula e, portanto, o estado redox celular (balanço entre os fatores pró- e anti- oxidantes) não deve ser considerado uniforme (GUZIK; HARRISON, 2006).

Em 1985 Helmut Sies definiu estresse oxidativo como um desequilíbrio entre mecanismos pró-oxidantes e antioxidantes, porém, atualmente, esta visão está sendo substituída por outra mais elaborada de que alterações no fluxo de elétrons em alguns sistemas enzimáticos podem causar aumento na formação de intermediários de vias de sinalização redox. Há evidências de que reações de oxidação contribuem para o desenvolvimento de diversas patologias, incluindo doenças cardiovasculares, pulmonares, diabetes, câncer e doenças neurodegenerativas (JONES, 2006).

Todas as células aeróbias sofrem danos oxidativos; contudo, o encéfalo de mamíferos parece ser especialmente susceptível a tais danos. Dentre os fatores responsáveis por tal susceptibilidade podemos citar: o alto consumo de oxigênio, a presença de neurotransmissores auto-oxidáveis, a geração de ânion superóxido na respiração mitocondrial, a presença de metais de transição (os quais podem catalisar a geração de EROs), a alta concentração de lipídios poliinsaturados, a geração de H_2O_2 pelo metabolismo cerebral, além da presença modesta de antioxidantes em comparação com outros tecidos (BONDA et al., 2010; HALLIWELL, 2006).

A degeneração neuronal no sistema nervoso de pacientes com DA tem sido associada a danos oxidativos a diversos tipos de biomoléculas, tais como DNA, RNA, proteínas, lipídios e açúcares (SAYRE, PERRY; SMITH, 2008). Neurônios de pacientes com DA possuem uma elevada quantidade de mitocôndrias danificadas, o que pode ocorrer devido a mutações no DNA mitocondrial. Além disso, o acúmulo de

ferro em algumas regiões do cérebro, como hipocampo e córtex cerebral, se co-localiza com lesões observadas na DA e pode promover estresse oxidativo. O dano oxidativo de proteínas mitocondriais e DNA ocorre em estágios iniciais da doença, sugerindo um papel do estresse oxidativo na sua progressão (FISCHER; MAIER, 2015).

O fato de a maioria das modificações induzidas pelo estresse oxidativo ter sido observada em neurônios normais na DA e em estágios pré-NFTs, sugere o envolvimento de mecanismos de oxidação na patologia neurofibrilar (SAYRE, PERRY; SMITH, 2008). Algumas evidências sugerem que a secreção e deposição de proteína β -amiloide pelos neurônios vulneráveis sejam, na verdade, medidas compensatórias realizadas pelas células, com o intuito de se proteger contra os danos do estresse oxidativo (AXELSEN; KOMATSU; MURRAY, 2011; BONDA et al., 2010).

O ciclo de dano neuronal se auto-propaga, como uma fonte de estresse oxidativo, por um mecanismo de *feedback* positivo. A microglia ativada presente nas placas senis libera óxido nítrico e superóxido, os quais reagem para formar peroxinitrito (BONDA et al., 2010). Além disso, a ativação da NADPH oxidase (Nox) microglial no hipocampo aumenta a geração de EROs e resulta em significativa morte neuronal (BONDA et al., 2010; PARK; BAIK; JIN, 2009).

1.3 NADPH oxidase e a Doença de Alzheimer

NADPH oxidase é um complexo multiprotéico cujas subunidades inativas ficam dispersas no citosol. Esta enzima é capaz de catalisar a produção de ânion superóxido pela redução de um elétron do oxigênio molecular, utilizando nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) como fonte de potencial redutor. As espécies reativas geradas por essa enzima atuam como agentes precursores de uma grande variedade de agentes oxidantes (BABIOR, 1999). Foram descritas sete isoformas da NADPH oxidase: Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, Nox5 e Dual Oxidase 1 e 2 (Duox1 e Duox2). Estas isoformas dependem de diferentes subunidades regulatórias e apresentam diferentes perfis de ativação (HERNANDES; BRITTO, 2012).

A Nox2 é constituída por cinco subunidades: p40^{phox}, p47^{phox} e p67^{phox} são encontradas no citosol, formando um complexo, enquanto que as subunidades p22^{phox} e gp91^{phox} localizam-se na membrana celular, formando um heterodímero conhecido como citocromo b558. A separação desses dois grupos em

compartimentos celulares diferentes garante que a oxidase permaneça inativa (BABIOR, 1999). Mediante um estímulo, a ativação de uma proteína G de baixo peso molecular (Rac1 ou Rac2) e a fosforilação de p47^{phox} inicia a migração de todo o complexo citosólico para a membrana (HERNANDES; BRITTO, 2012), onde se associa ao citocromo b558 tornando a oxidase ativa, efetuando então a transferência de equivalentes redutores do NADPH para o oxigênio, gerando ânion superóxido (BABIOR, 1999).

No sistema nervoso central a Nox2 é encontrada principalmente em células da microglia, mas também já foi descrita em neurônios (ZEKRY; EPPERSON; KRAUSE, 2003) e astrócitos (COONEY; BERMUDEZ-SABOGAL; BYRNES, 2013). Sua expressão foi descrita no colículo superior, tálamo, hipocampo, cerebelo, hipotálamo, substância negra, amígdala, núcleo do trato solitário, estriado e córtex (HERNANDES; BRITTO, 2012). Esse é o membro da família Nox que possui mais evidências de envolvimento em casos de demência. A sua regulação positiva em neurônios está associada à morte neuronal; além disso, alguns estudos evidenciaram sua ativação no encéfalo de portadores da DA (ZEKRY; EPPERSON; KRAUSE, 2003).

As EROs produzidas pelas Nox parecem mediar disfunções cerebrovasculares induzidas pelo β -amiloide (BLOCK, 2008). Experimentos *in vitro* demonstraram que a inibição da Nox com apocinina inibiu a capacidade do peptídeo β -amiloide de induzir morte neuronal e desencadear alterações morfológicas em culturas de neurônios (BRUCE-KELLER et al., 2010). Adicionalmente, o Gp91ds-tat, um peptídeo inibidor da Nox2, foi capaz de inibir a geração de EROs induzida por β -amiloide exógeno no córtex somatossensorial de camundongos. Ainda, a aplicação neocortical de β -amiloide exógeno não foi capaz de desencadear a produção de EROs em camundongos nocautes para a Nox2, ao contrário do ocorrido em camundongos selvagens. Além disso, não foram observadas evidências de estresse oxidativo em camundongos transgênicos que superexpressam a proteína precursora amiloide, e que também são nocautes para a subunidade catalítica gp91^{phox}. Em conjunto, estes dados fornecem evidências da participação da Nox2 como fonte geradora de EROs nas disfunções cerebrovasculares observadas na DA (PARK et al., 2005).

As EROs derivadas de Nox2 emergiram como um mecanismo importante na patogênese da Doença de Alzheimer. No entanto, não existem estudos relacionando o envolvimento da Nox2 com a neurodegeneração induzida por estreptozotocina.

6 CONCLUSÕES

- Na análise temporal, a injeção intracerebroventricular de STZ induziu aumento da expressão de β -amilóide e neurofilamentos, aumento na fosforilação de proteína TAU e diminuição na expressão de sinapsina, 14 dias após a lesão. Exceto para a sinapsina, a maioria dessas alterações foram reveladas transientes. O déficit de memória de curto e longo prazo foi observado 14 e 21 dias após o tratamento com STZ. Em conjunto, esses dados evidenciam que 14 dias após o tratamento com STZ os marcadores neurodegenerativos associados à DA são alterados em camundongos selvagens.

- A isoforma Nox2 da NADPH oxidase contribui para a patologia Alzheimer-símile induzida por STZ via múltiplos mecanismos. A deleção de Nox2 preveniu fosforilação de TAU e aumento na expressão de β -amilóide e neurofilamentos, assim como a neuroinflamação induzida por STZ no hipocampo. Além disso, o aumento do nível basal de IL-10 observado nos animais KOgp91^{phox-/-} sugere que a liberação desta citocina possa conferir um mecanismo de neuroproteção contra a neurodegeneração induzida por STZ. Em conjunto, estes diferentes mecanismos podem contribuir para a proteção observada em animais KOgp91^{phox-/-}.

REFERÊNCIAS*

- ANTUNES, M.; BIALA, G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. **Cogn. Process.**, v. 13, n. 2, p. 93-110, 2012.
- ARAMAKI, Y. et al. NADPH-oxidase may contribute to IL-12 production in macrophages stimulated with CpG phosphorothioate oligodeoxynucleotides. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 25, n. 3, p. 351-355, 2002.
- ARAUJO, D. M.; LAPCHAK, P. A. Induction of immune system mediators in the hippocampal formation in Alzheimer's and Parkinson's diseases: selective effects on specific interleukins and interleukin receptors. **Neuroscience**, v. 61, n. 4, p. 745-754, 1994.
- ARENDT, T.; STIELER, J. T.; HOLZER, M. Tau and tauopathies. **Brain. Res. Bull.**, v. 126, n. Pt 3, p. 238-292, 2016.
- AXELSEN, P. H.; KOMATSU, H.; MURRAY, I. V. Oxidative stress and cell membranes in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Physiology (Bethesda)**, v.26, p.54-69, 2011.
- BABIOR, B. M. NADPH oxidase: an update. **Blood**, v. 93, n. 5, p. 1464-1476, 1999.
- BAMBURG, J. R.; BERNSTEIN, B. W. Actin dynamics and cofilin-actin rods in alzheimer disease. **Cytoskeleton (Hoboken)**, v. 73, n. 9, p. 477-497, 2016.
- BENGOETXEA, X.; RODRIGUEZ-PERDIGON, M.; RAMIREZ, M. J. Object recognition test for studying cognitive impairments in animal models of Alzheimer's disease. **Front. Biosci. (Schol Ed)**, v. 7, p. 10-29, 2015.
- BLOCK, M. L. NADPH oxidase as a therapeutic target in Alzheimer's disease. **BMC Neurosci.**, v.9, p.S8, 2008. Suppl 2.
- BLOKLAND, A.; JOLLES, J. Spatial learning deficit and reduced hippocampal ChAT activity in rats after an ICV injection of streptozotocin. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 44, n. 2, p. 491-494, 1993.
- BONDA, D. J. et al. Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention. **Neuropharmacology**, v. 59, n. 4-5, p. 290-294, 2010.
- BRUCE-KELLER, A. J. et al. NOX activity is increased in mild cognitive impairment. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 12, n. 12, p. 1371-1382, 2010.
- CHAKRABARTY, P. et al. IFN-gamma promotes complement expression and attenuates amyloid plaque deposition in amyloid beta precursor protein transgenic mice. **J. Immunol.**, v. 184, n. 9, p. 5333-5343, 2010.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CHAKRABARTY, P. et al. IL-10 alters immunoproteostasis in APP mice, increasing plaque burden and worsening cognitive behavior. **Neuron.**, v. 85, n. 3, p. 519-533, 2015.

CHANG, H. Y.; YANG, X. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v.64, n.4, p. 821-846, 2000.

CHEN, Y. et al. A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: Similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse). **Mol. Neurobiol.**, v. 47, n. 2, p. 711-725, 2013.

CHEN, Y.; LIANG, Z. et al. Intracerebroventricular streptozotocin exacerbates Alzheimer-like changes of 3xTg-AD mice¹. **Mol. Neurobiol.**, v. 49, n. 1, p. 547-562, 2014.

CHEN, Y. et al. Brain gene expression of a sporadic (icv-STZ Mouse) and a familial mouse model (3xTg-AD mouse) of Alzheimer's disease. **PLoS One**, v. 7, n. 12, p. e51432, 2012.

CHEN, Y.; WANG, B. et al. . Hsp90 chaperone inhibitor 17-AAG attenuates Abeta-induced synaptic toxicity and memory impairment. **J. Neurosci.**, v. 34, n. 7, p. 2464-2470, 2014.

CHOI, S. H. et al. Inhibition of NADPH oxidase promotes alternative and anti-inflammatory microglial activation during neuroinflammation. **J. Neurochem.**, v. 120, n. 2, p. 292-301, 2012.

CHU, S. et al. Ginsenoside Rg5 improves cognitive dysfunction and beta-amyloid deposition in STZ-induced memory impaired rats via attenuating neuroinflammatory responses. **Int. Immunopharmacol.**, v. 19, n. 2, p. 317-326, 2014.

CHU, W. Z.; QIAN, C. Y. Expressions of Abeta1-40, Abeta1-42, tau202, tau396 and tau404 after intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. **Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao**, v. 25, n. 2, p. 168-170, 2005.

CLARE, R. et al. Synapse loss in dementias. **J. Neurosci. Res.**, v. 88, n. 10, p. 2083-2090, 2010.

COONEY, S. J.; BERMUDEZ-SABOGAL, S. L.; BYRNES, K. R. Cellular and temporal expression of NADPH oxidase (NOX) isotypes after brain injury. **J. Neuroinflammation**, v. 10, p. 155, 2013.

CREWS, L.; MASLIAH, E. Molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Hum. Mol. Genet.**, v. 19, n. R1, p. R12-20, 2010.

D'AMELIO, M.; CAVALLUCCI, V.; CECCONI, F. Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death. **Cell Death Differ.**, v. 17, n. 7, p. 1104-1114, 2010.

DALLA, Y. et al. Potential of ezetimibe in memory deficits associated with dementia of Alzheimer's type in mice. **Indian J. Pharmacol.**, v. 41, n. 6, p. 262-267, 2009.

DEKOSKY, S. T.; SCHEFF, S. W. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity. **Ann. Neurol.**, v. 27, n. 5, p. 457-464, 1990.

DENG, Y. et al. Dysregulation of insulin signaling, glucose transporters, O-GlcNAcylation, and phosphorylation of tau and neurofilaments in the brain: Implication for Alzheimer's disease. **Am. J. Pathol.** v.175, p.2089-2098, 2009.

EJAZ AHMED, M. et al. Amelioration of cognitive impairment and neurodegeneration by catechin hydrate in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. **Neurochem. Int.**, v. 62, n. 4, p. 492-501, 2013.

ELCIOGLU, H. K. et al. Tocilizumab's effect on cognitive deficits induced by intracerebroventricular administration of streptozotocin in Alzheimer's model. **Mol. Cell Biochem.**, v. 420, n. 1-2, p. 21-28, 2016.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behav. Brain. Res.**, v. 31, n. 1, p. 47-59, 1988.

FERRI, C. P. et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. **Lancet**, v. 366, n. 9503, p. 2112-2117, 2005.

FISCHER, R.; MAIER, O. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. **Oxid Med. Cell Longev.**, v. 2015, p. 610813, 2015.

FRIDOVICH, I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 30, p. 18515-18517, 1997.

GARCEZ, M. L. et al. Minocycline reduces inflammatory parameters in the brain structures and serum and reverses memory impairment caused by the administration of amyloid beta (1-42) in mice. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. S0278-5846, n. 16, p. 30325-30326, 2017.

GOEDERT, M. Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 777, p. 121-131, 1996.

GRUNBLATT, E.; HOYER, S.; RIEDERER, P. Gene expression profile in streptozotocin rat model for sporadic Alzheimer's disease. **J. Neural Transm.**, v. 111, n. 3, p. 367-386, 2004.

GRUNBLATT, E. et al. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. **J. Neurochem.**, v. 101, n. 3, p. 757-770, 2007.

GUZIK, T. J.; HARRISON, D. G. Vascular NADPH oxidases as drug targets for novel antioxidant strategies. **Drug Discov. Today**, v.11, p.524-533, 2006.

HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **J. Neurochem.**, v.97, p.1634-1658, 2006.

HAN, B. H. et al. Contribution of reactive oxygen species to cerebral amyloid angiopathy, vasomotor dysfunction, and microhemorrhage in aged Tg2576 mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. US A**, v. 112, n. 8, p. E881-E890, 2015.

HANISCH, U. K.; SETO, D.; QUIRION, R. Modulation of hippocampal acetylcholine release: a potent central action of interleukin-2. **J. Neurosci.**, v. 13, n. 8, p. 3368-3374, 1993.

HARDY, J.; ALLSOP, D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 12, n. 10, p. 383-388, 1991.

HARDY, J.; SELKOE, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. **Science**, v. 297, n. 5580, p. 353-356, 2002.

HELLWEG, R. et al. Nerve growth factor and choline acetyltransferase activity levels in the rat brain following experimental impairment of cerebral glucose and energy metabolism. **J. Neurosci. Res.**, v. 31, n. 3, p. 479-486, 1992.

HENEKA, M. T. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Lancet Neurol.**, v. 14, n. 4, p. 388-405, 2015.

HERNANDES, M. S.; BRITTO, L. R. NADPH oxidase and neurodegeneration. **Curr. Neuropharmacol.**, v. 10, n. 4, p. 321-327, 2012.

HERNANDES, M. S.; CAFE-MENDES, C. C.; BRITTO, L. R. NADPH oxidase and the degeneration of dopaminergic neurons in parkinsonian mice. **Oxid. Med. Cell Longev.**, v. 2013, p. 157857, 2013.

HERNANDES, M. S. et al. The role of Nox2-derived ROS in the development of cognitive impairment after sepsis. **J. Neuroinflammation**, v. 11, p. 36, 2014.

HERRERA, E., JR. et al. Epidemiologic survey of dementia in a community-dwelling Brazilian population. **Alzheimer Dis. Assoc. Disord.**, v. 16, n. 2, p. 103-108, 2002.

HU, Y. Y. et al. Elevated levels of phosphorylated neurofilament proteins in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients. **Neurosci. Lett.**, v. 320, n. 3, p. 156-160, 2002.

IQBAL, K.; GRUNDKE-IQBAL, I. Mechanism of Alzheimer neurofibrillary degeneration and the formation of tangles. **Mol. Psychiatry**, v. 2, n. 3, p. 178-180, 1997.

ISHRAT, T. et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. **Behav. Brain Res.**, v. 171, n. 1, p. 9-16, 2006.

JAVED, H. et al. S-allyl cysteine attenuates oxidative stress associated cognitive impairment and neurodegeneration in mouse model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. **Brain Res.**, v. 1389, p. 133-142, 2011.

JIN, M. et al. Soluble amyloid beta-protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 108, n. 14, p. 5819-5824, 2011.

JONES, D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

KAR, S. et al. Interactions between beta-amyloid and central cholinergic neurons: implications for Alzheimer's disease. **J. Psychiatry Neurosci.**, v. 29, n. 6, p. 427-441, 2004.

KAWAHARA, K. et al. Intracerebral microinjection of interleukin-4/interleukin-13 reduces beta-amyloid accumulation in the ipsilateral side and improves cognitive deficits in young amyloid precursor protein 23 mice. **Neuroscience**, v. 207, p. 243-260, 2012.

KOLAROVA, M. et al. Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. **Int. J. Alzheimers Dis.**, v. 2012, p. 731526, 2012.

LAFERLA, F. M. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 3, n. 11, p. 862-872, 2002.

LANNERT, H.; HOYER, S. Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. **Behav. Neurosci.**, v. 112, n. 5, p. 1199-1208, 1998.

LANNERT, H. et al. Effects of Estradiol (-17beta) on learning, memory and cerebral energy metabolism in male rats after intracerebroventricular administration of streptozotocin. **J. Neural Transm.**, v. 105, n. 8-9, p. 1045-1063, 1998.

LEE, K. S. et al. Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease. **Dement. Geriatr. Cogn. Disord.**, v. 28, n. 4, p. 281-287, 2009.

LEE, V. M. Disruption of the cytoskeleton in Alzheimer's disease. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v.5, n. 5, p.663-668,1995.

LI, B. et al. Failure of neuronal maturation in Alzheimer disease dentate gyrus. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 67, n. 1, p. 78-84, 2008.

LI, J. et al. Oligomeric Abeta-induced microglial activation is possibly mediated by NADPH oxidase. **Neurochem. Res.**, v. 38, n. 2, p. 443-452, 2013.

LI, L.; HOLSCHER, C. Common pathological processes in Alzheimer disease and type 2 diabetes: a review. **Brain Res. Rev.**, v.56, p.384-402, 2007.

LI, M. et al. The role of intracellular amyloid beta in Alzheimer's disease. **Prog. Neurobiol.**, v.83, p.131-139, 2007. .

LIM, S. H. et al. Neuronal synapse formation induced by microglia and interleukin 10. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e81218, 2013.

LISTA, S. et al. Biomarkers in Sporadic and Familial Alzheimer's Disease. **J. Alzheimers Dis.**, v. 47, n. 2, p. 291-317, 2015.

LIU, P. et al. Xanthoceraside attenuates tau hyperphosphorylation and cognitive deficits in intracerebroventricular-streptozotocin injected rats. **Psychopharmacology**, v. 231, n. 2, p. 345-356, 2014.

LIU, Q. et al. Neurofilamentopathy in neurodegenerative diseases. **Open Neurol. J.**, v. 5, p. 58-62, 2011.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LOBO-SILVA, D. et al. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. **J. Neuroinflammation**, v. 13, n. 1, p. 297, 2016.

LOUNEVA, N. et al. Caspase-3 is enriched in postsynaptic densities and increased in Alzheimer's disease. **Am. J. Pathol.**, v. 173, n. 5, p. 1488-1495, 2008.

MAJKUTEWICZ, I. et al. Dimethyl fumarate attenuates intracerebroventricular streptozotocin-induced spatial memory impairment and hippocampal neurodegeneration in rats. **Behav. Brain Res.**, v. 308, p. 24-37, 2016.

MANGANO, E. N. et al. Interferon-gamma plays a role in paraquat-induced neurodegeneration involving oxidative and proinflammatory pathways. **Neurobiol. Aging**, v. 33, n. 7, p. 1411-1426, 2012.

MATTSON, M. P. Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. **Physiol. Rev.**, v. 77, n. 4, p. 1081-1132, 1997.

MCGEER, E. G.; MCGEER, P. L. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 27, n. 5, p. 741-749, 2003.

MIROCHNIC, S. et al. Age effects on the regulation of adult hippocampal neurogenesis by physical activity and environmental enrichment in the APP23 mouse model of Alzheimer disease. **Hippocampus**, v. 19, n. 10, p. 1008-1018, 2009.

MONCUNILL, G. et al. Performance of multiplex commercial kits to quantify cytokine and chemokine responses in culture supernatants from Plasmodium falciparum stimulations. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e52587, 2013.

MULLER, A. P. et al. Physical exercise exacerbates memory deficits induced by intracerebroventricular STZ but improves insulin regulation of H(2)O(2) production in mice synaptosomes. **J. Alzheimers Dis.**, v. 30, n. 4, p. 889-898, 2012.

MULLER, D. et al. Streptozotocin increases free fatty acids and decreases phospholipids in rat brain. **J. Neural Transm.**, v. 105, n. 10-12, p. 1271-1281, 1998.

MULLER-SPAHN, F.; HOCK, C. Risk factors and differential diagnosis of Alzheimer's disease. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.**, v. 249, p. 37-42, 1999. Suppl 3.

NAKAMURA, Y. et al. Abnormal distribution of neurofilament L in neurons with Alzheimer's disease. **Neurosci. Lett.**, v. 225, n. 3, p. 201-204, 1997.

NAM, S. J. et al. Apocynin regulates cytokine production of CD8(+) T cells. **Clin. Exp. Med.**, v. 14, n. 3, p. 261-268, 2014.

NITSCH, R.; HOYER, S. Local action of the diabetogenic drug, streptozotocin, on glucose and energy metabolism in rat brain cortex. **Neurosci. Lett.**, v. 128, n. 2, p. 199-202, 1991.

ODA, Y. Choline acetyltransferase: the structure, distribution and pathologic changes in the central nervous system. **Pathol. Int.**, v. 49, n. 11, p. 921-937, 1999.

ORTA-SALAZAR, E. et al. Cholinergic markers in the cortex and hippocampus of some animal species and their correlation to Alzheimer's disease. **Neurologia**, v. 29 n. 8, p. 497-503, 2014.

PARAJULI, B. et al. Oligomeric amyloid beta induces IL-1 β processing via production of ROS: implication in Alzheimer's disease. **Cell Death Dis.**, v. 4, n. 12, p. e975, 2013.

PARK, K. W.; BAIK, H. H.; JIN, B. K. Interleukin-4-induced oxidative stress via microglial NADPH oxidase contributes to the death of hippocampal neurons in vivo. **Curr. Aging Sci.**, v. 1, n. 3, p. 192-201, 2008.

PARK, K. W.; BAIK, H. H.; JIN, B. K. IL-13-induced oxidative stress via microglial NADPH oxidase contributes to death of hippocampal neurons in vivo. **J. Immunol.**, v. 183, n. 7, p. 4666-4674, 2009.

PARK, K. W. et al. Interleukin-10 endogenously expressed in microglia prevents lipopolysaccharide-induced neurodegeneration in the rat cerebral cortex in vivo. **Exp. Mol. Med.**, v. 39, n. 6, p. 812-819, 2007.

PARK, L. et al. NADPH-oxidase-derived reactive oxygen species mediate the cerebrovascular dysfunction induced by the amyloid beta peptide. **J. Neurosci.**, v. 25, n. 7, p. 1769-1777, 2005.

PARK, L. et al. Nox2-derived radicals contribute to neurovascular and behavioral dysfunction in mice overexpressing the amyloid precursor protein. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 105, n. 4, p. 1347-1352, 2008.

PATHAN, A. R. et al. Chronic administration of pioglitazone attenuates intracerebroventricular streptozotocin induced-memory impairment in rats. **Life Sci.**, v. 79, n. 23, p. 2209-2216, 2006.

PAXINOS, G.; FRANKLIN, K. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. 2nd. Academic Press, San Diego, 2001.

PERDAHL, E. et al. Synapsin I (protein I) in different brain regions in senile dementia of Alzheimer type and in multi-infarct dementia. **J. Neural Transm.**, v. 60, n. 2, p. 133-141, 1984.

PINTON, S. et al. Sporadic dementia of Alzheimer's type induced by streptozotocin promotes anxiogenic behavior in mice. **Behav. Brain Res.**, v. 223, n. 1, p. 1-6, 2011a.

PINTON, S. et al. Neuroprotector effect of p,p'-methoxyl-diphenyl diselenide in a model of sporadic dementia of Alzheimer's type in mice: contribution of antioxidant mechanism. **Cell Biochem. Funct.**, v. 29, n. 3, p. 235-243, 2011b.

PINTON, S. et al. Organoselenium improves memory decline in mice: involvement of acetylcholinesterase activity. **Neurosci. Lett.**, v. 472, n. 1, p. 56-60, 2010.

PRICE, D. L.; SISODIA, S. S. Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 21, p. 479-505, 1998.

QIN, S. et al. Regional alteration of synapsin I in the hippocampal formation of Alzheimer's disease patients. **Acta Neuropathol.**, v. 107, n. 3, p. 209-215, 2004.

REETA, K. H.; SINGH, D.; GUPTA, Y. K. Chronic treatment with taurine after intracerebroventricular streptozotocin injection improves cognitive dysfunction in rats by modulating oxidative stress, cholinergic functions and neuroinflammation. **Neurochem. Int.**, v. S0197-0186, n. 16, p. 30344-30348, 2017.

REETA, K. H.; SINGH, D.; GUPTA, Y. K. Edaravone attenuates intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment in rats. **Eur. J. Neurosci.**, ISSN 0953-816x, 2017.

REITZ, C. et al. Memory performance is related to amyloid and tau pathology in the hippocampus. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 80, n. 7, p. 715-721, 2009.

RISSMAN, R. A. et al. Caspase-cleavage of tau is an early event in Alzheimer disease tangle pathology. **J. Clin. Invest.**, v. 114, n. 1, p. 121-130, 2004.

RUDRABHATLA, P.; JAFFE, H.; PANT, H. C. Direct evidence of phosphorylated neuronal intermediate filament proteins in neurofibrillary tangles (NFTs): phosphoproteomics of Alzheimer's NFTs. **Faseb. J.**, v. 25, n. 11, p. 3896-3905, 2011.

SALKOVIC-PETRISIC, M. et al. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research. **J. Neural Transm.**, v. 110, n. 1, p. 233-252, 2013.

SAMY, D. M. et al. Downstream modulation of extrinsic apoptotic pathway in streptozotocin-induced Alzheimer's dementia in rats: Erythropoietin versus curcumin. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 770, p. 52-60, 2016.

SANTOS, D. B. et al. Probucol mitigates streptozotocin-induced cognitive and biochemical changes in mice. **Neuroscience**, v. 284, p. 590-600, 2015.

SANTOS, T. O. et al. Early and late neurodegeneration and memory disruption after intracerebroventricular streptozotocin. **Physiol. Behav.**, v. 107, n. 3, p. 401-413, 2012.

SAYRE, L. M.; PERRY, G.; SMITH, M. A. Oxidative stress and neurotoxicity. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 21, n. 1, p. 172-188, 2008.

SELKOE, D. J. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. **Physiol. Rev.**, v. 81, n. 2, p. 741-766, 2001.

SERRANO, F. et al. NADPH oxidase immunoreactivity in the mouse brain. **Brain Res.**, v.988, n. 1-2, p.193-198, 2003.

SHARMA, B.; SINGH, N.; SINGH, M. Modulation of celecoxib- and streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's disease by pitavastatin and donepezil. **J. Psychopharmacol.**, v.22, n. 2, p.162-171, 2008.

SHARMA, B. et al. Exploitation of HIV protease inhibitor Indinavir as a memory restorative agent in experimental dementia. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.89, n. 4, p.535-545, 2008.

SHARMA, M.; GUPTA, Y. K. Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. **Life Sci.**, v. 68, n. 9, p. 1021-1029, Jan 19 2001.

SHARMA, M.; GUPTA, Y. K. Chronic treatment with trans resveratrol prevents intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. **Life Sci.**, v. 71, n. 21, p. 2489-2498, 2002.

SHIMIZU, E. et al. IL-4-induced selective clearance of oligomeric beta-amyloid peptide(1-42) by rat primary type 2 microglia. **J. Immunol.**, v. 181, n. 9, p. 6503-6513, 2008.

SHIMOHAMA, S.; TANINO, H.; FUJIMOTO, S. Changes in caspase expression in Alzheimer's disease: comparison with development and aging. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 256, n. 2, p. 381-384, 1999.

SHIMOHAMA, S. et al. Activation of NADPH oxidase in Alzheimer's disease brains. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 273, n. 1, p. 5-9, 2000.

SHOHAM, S. et al. Ladostigil prevents gliosis, oxidative-nitrative stress and memory deficits induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 3, p. 836-843, 2007.

SIMPSON, J. E. et al. Astrocyte phenotype in relation to Alzheimer-type pathology in the ageing brain. **Neurobiol. Aging**, v. 31, n. 4, p. 578-590, 2010.

SINGH, B. et al. Attenuating effect of lisinopril and telmisartan in intracerebroventricular streptozotocin induced experimental dementia of Alzheimer's disease type: possible involvement of PPAR-gamma agonistic property. **J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.**, v. 14, n. 2, p. 124-136, 2013.

SODHI, R. K.; SINGH, N. Defensive effect of lansoprazole in dementia of AD type in mice exposed to streptozotocin and cholesterol enriched diet. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e70487, 2013.

SOLMAZ, V. et al. Exenatide reduces TNF-alpha expression and improves hippocampal neuron numbers and memory in streptozotocin treated rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 765, p. 482-487, 2015.

SPENCER, N. G. et al. Mechanisms Underlying Interferon-gamma-Induced Priming of Microglial Reactive Oxygen Species Production. **PLoS One**, v. 11, n. 9, p. e0162497, 2016.

SPIRES, T. L.; HYMAN, B. T. Transgenic models of Alzheimer's disease: learning from animals. **NeuroRx**, v. 2, n. 3, p. 423-437, 2005.

STRLE, K. et al. Interleukin-10 in the brain. **Crit. Rev. Immunol.**, v. 21, n. 5, p. 427-449, 2001.

SU, J. H. et al. Activated caspase-3 expression in Alzheimer's and aged control brain: correlation with Alzheimer pathology. **Brain Res.**, v. 898, n. 2, p. 350-357, 2001.

SUZUKAWA, K. et al. Nerve growth factor-induced neuronal differentiation requires generation of Rac1-regulated reactive oxygen species. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 18, p. 13175-13178, 2000.

SWARDFAGER, W. et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. **Biol. Psychiatry**, v. 68, n. 10, p. 930-941, 2010.

SZCZEPANIK, A. M. et al. IL-4, IL-10 and IL-13 modulate A beta(1--42)-induced cytokine and chemokine production in primary murine microglia and a human monocyte cell line. **J. Neuroimmunol.**, v. 113, n. 1, p. 49-62, 2001.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiol. Res.**, v. 50, n. 6, p. 537-546, 2001.

TAKAHASHI, R. H.; NAGAO, T.; GOURAS, G. K. Plaque formation and the intraneuronal accumulation of beta-amyloid in Alzheimer's disease. **Pathol. Int.**, 2017.

TOTA, S. et al. Protective effect of quercetin against intracerebral streptozotocin induced reduction in cerebral blood flow and impairment of memory in mice. **Behav. Brain Res.**, v. 209, n. 1, p. 73-79, 2010.

VLAHOS, R. et al. Inhibition of Nox2 oxidase activity ameliorates influenza A virus-induced lung inflammation. **PLoS Pathog.**, v. 7, n. 2, p. e1001271, 2011.

VOM BERG, J. et al. Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. **Nat. Med.**, v. 18, n. 12, p. 1812-1819, 2012.

WANG, H.; CHENG, H.; CHE, Z. Ameliorating effect of luteolin on memory impairment in an Alzheimer's disease model. **Mol. Med. Rep.**, v. 13, n. 5, p. 4215-4220, 2016.

WANG, J. et al. Hyperphosphorylation and accumulation of neurofilament proteins in Alzheimer disease brain and in okadaic acid-treated SY5Y cells. **FEBS Lett.**, v. 507, n. 1, p. 81-87, 2001.

WANG, W. Y. et al. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. **Ann. Transl. Med.**, v. 3, n. 10, p. 136, 2015.

WILKINSON, B. L. et al. Ibuprofen attenuates oxidative damage through NOX2 inhibition in Alzheimer's disease. **Neurobiol. Aging**, v.33, n. 1, p.197 e21-32, 2012.

WINNER, B.; KOHL, Z.; GAGE, F. H. Neurodegenerative disease and adult neurogenesis. **Eur. J. Neurosci.**, v. 33, n. 6, p. 1139-1151, 2011.

WYSSENBACH, A. et al. Amyloid beta-induced astrogliosis is mediated by beta1-integrin via NADPH oxidase 2 in Alzheimer's disease. **Aging Cell**, 2016. ISSN 1474-9718.

YAMAMOTO, M. et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha regulate amyloid-beta plaque deposition and beta-secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice. **Am. J. Pathol.**, v. 170, n. 2, p. 680-692, 2007.

ZEKRY, D.; EPPERSON, T. K.; KRAUSE, K. H. A role for NOX NADPH oxidases in Alzheimer's disease and other types of dementia? **IUBMB Life**, v. 55, n. 6, p. 307-313, 2003.

ZEMPEL, H. et al. Abeta oligomers cause localized Ca(2+) elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. **J. Neurosci.**, v. 30, n. 36, p. 11938-11950, 2010.

ZHOU, J. et al. Melatonin impairs NADPH oxidase assembly and decreases superoxide anion production in microglia exposed to amyloid-beta1-42. **J. Pineal Res.**, v. 45, n. 2, p. 157-165, 2008.

ZHU, D. et al. Phospholipases A2 mediate amyloid-beta peptide-induced mitochondrial dysfunction. **J. Neurosci.**, v. 26, n. 43, p. 11111-11119, 2006.