

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA HUMANA**

RUAN CARLOS MACÊDO DE MORAES

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BENFOTIAMINA, UM ANÁLOGO
SINTÉTICO DA VITAMINA B1, SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO
NEURONAL E PROGRESSÃO DA NEURODEGENERAÇÃO EM UM MODELO
EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE ALZHEIMER**

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.

RUAN CARLOS MACÊDO DE MORAES

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BENFOTIAMINA, UM ANÁLOGO
SINTÉTICO DA VITAMINA B1, SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO
NEURONAL E PROGRESSÃO DA NEURODEGENERAÇÃO EM UM MODELO
EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE ALZHEIMER**

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

Orientadora: Profª Dra. Andréa da Silva Torrão

Versão original

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e verba PROEX (Programa de Excelência Acadêmica), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Processo nº 168466/2017-1 e do Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Processo nº 2017/10801-1.

RESUMO

MORAES, R. C. M. **Efeitos da suplementação de benfotiamina, um análogo sintético da vitamina b1, sobre o metabolismo energético neuronal e progressão da neurodegeneração em um modelo experimental de doença de Alzheimer.** 2020. 102 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Estudos sugerem que distúrbios no metabolismo energético e na sinalização da insulina cerebral estão associados com a progressão da doença de Alzheimer (DA) e o déficit cognitivo. A tiamina é um co-fator enzimático limitante para a atividade das piruvato e alfa-cetoglutarato desidrogenases, sendo ambas críticas para a eficiência do metabolismo de glicose na mitocôndria. Na DA, estas enzimas têm sua atividade reduzida. Nesse sentido, a utilização de Benfotiamina (BFT), um composto capaz de aumentar a disponibilidade de tiamina no cérebro tem-se mostrado uma potencial alternativa de tratamento da DA, podendo melhorar o metabolismo de glicose e atividade mitocondrial. Estudos recentes também sugerem que a benfotiamina está associada a melhoras em proteínas da via de sinalização de insulina. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da benfotiamina nas alterações comportamentais, na função mitocondrial e na sinalização de insulina em um modelo experimental de AD induzido por estreptozotocina (STZ). Para tal, induzimos ratos wistar a um modelo experimental de DA por injeção intracerebroventricular (ICV) de STZ e tratamos por 30 dias com Benfotiamina, dividindo em quatro grupos: animais que receberam citrato de sódio ICV (veículo) tratados com carboximetilcelulose (CMC, veículo) (Controle = CTL); animais que receberam STZ ICV tratados com CMC (STZ); animais que receberam citrato de sódio ICV tratados com BFT (CTLB); animais que receberam STZ ICV tratados com Benfotiamina (STZB). Após o período de suplementação, foi coletado no cérebro o hipocampo, córtex entorrinal e hipotálamo, para dosagem de tiamina, expressão proteica das proteínas relacionadas à sinalização de insulina, transporte de tiamina, astrogliose, e apoptose. Além disso, avaliamos a atividade hipocampal de piruvato desidrogenase e citocromo c oxidase. Em um segundo experimento, avaliamos os efeitos da STZ ICV e do tratamento com BFT no metabolismo, e as alterações provocadas pela STZ no metabolismo celular de uma cultura de neurônios hipotalâmicos. Os resultados demonstraram que apesar de não haver uma diminuição marcante da quantidade de tiamina e seus metabólitos no grupo STZ, observou-se aumentos no córtex entorrinal e no hipocampo do grupo CTLB e no hipocampo do grupo STZB, provocados pela suplementação de benfotiamina. O tratamento também foi capaz de melhorar as alterações na via de sinalização de insulina resultantes da injeção de STZ, além de diminuir marcadores de inflamação e resultar em uma reversão dos distúrbios observados nos testes comportamentais. Além de melhoras cognitivas, a BFT também foi capaz de provocar melhoras metabólicas no modelo experimental. Estes resultados foram complementados com estudos *in vitro*, que mostraram um aumento da sensibilidade à insulina e melhora na respiração mitocondrial em neurônios hipotalâmicos quando submetidos à toxicidade da STZ na presença de benfotiamina. Os dados demonstram que o tratamento com benfotiamina melhora a capacidade de absorção de tiamina, alterando não só a atividade mitocondrial, mas também resultando em efeitos na sinalização de insulina, revertendo o déficit cognitivo no modelo experimental proposto.

PALAVRAS-CHAVE: Tiamina, Estreptozotocina, doenças neurodegenerativas.

ABSTRACT

MORAES, R. C. M. **Effects of supplementation with benfotiamine, a synthetic analog of vitamin b1, on neuronal energy metabolism and progression of neurodegeneration in an experimental model of Alzheimer's disease.** 2020. 102 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Studies suggest that disturbances in energy metabolism and cerebral insulin signaling are associated with the progression of Alzheimer's disease (AD) and with cognitive deficit. Thiamine is a limiting enzyme cofactor for the activity of pyruvate and alpha-ketoglutarate dehydrogenases, both of which are critical for the efficiency in glucose metabolism in the mitochondria. In AD, these enzymes have reduced activity. In this sense, the use of benfotiamine (BFT), a compound capable of increasing the availability of thiamine in the brain has been shown to be a potential alternative for the treatment of AD by improving glucose metabolism and mitochondrial activity. Recent studies also suggest that the use of BFT is associated with improvements in proteins of the insulin signaling pathway. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of benfotiamine on behavioral changes, mitochondrial function and insulin signaling in an streptozotocin-induced experimental model of AD. For this, heterogeneous wistar rats were used, induced to an experimental model of AD by intracerebroventricular (ICV) injection of STZ and treatment for 30 days with BFT, divided into four groups: animals that received ICV sodium citrate (vehicle) treated with carboxymethylcellulose (vehicle) (Control = CTL); animals that received STZ ICV treated with carboxymethylcellulose (STZ); animals receiving ICV sodium citrate treated with BFT (CTLB); animals receiving STZ ICV treated with BFT (STZB). After the supplementation period, the animals were euthanized and the hippocampus, entorhinal cortex and hypothalamus were collected for brain thiamine measurement, protein expression of proteins related to the insulin signaling pathway, thiamine transport, astrogliosis, and apoptosis. In addition, the hippocampal activity of pyruvate dehydrogenase and cytochrome c oxidase was evaluated. In a second experiment, we evaluated the effects of STZ, and the treatment with BFT on the metabolism of animals, and the changes caused by STZ in aspects related to the cellular metabolism of an in vitro culture of hypothalamic neurons. The results showed that although there was no marked decrease in the amount of thiamine and its phosphate esters in the STZ group, there were increases in the entorhinal cortex and hippocampus in the CTLB group and in the hippocampus in the STZB group, caused by benfotiamine supplementation. The treatment was also able to improve the changes in proteins of the insulin signaling pathway resulting from the injection of STZ, in addition to decreasing inflammation markers and resulting in a reversal of the disorders observed in the behavioral tests. In addition to cognitive improvements, BFT was also able to cause metabolic improvements in the experimental model. These results were complemented by in vitro studies, which showed an increase in insulin sensitivity and improvement in mitochondrial respiration in neurons when subjected to STZ toxicity in the presence of benfotiamine. The data demonstrate that treatment with benfotiamine improves the absorption capacity of thiamine, altering not only mitochondrial activity, but also resulting in effects on insulin signaling, reversing the cognitive deficit in the proposed experimental model.

KEYWORDS: Thiamine, Streptozotocin, neurodegenerative diseases.

INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é um mal crônico e degenerativo que, exponencialmente, cresce entre a população idosa. Estima-se que aproximadamente 24 milhões de pessoas sejam afetadas por demência na atualidade, gerando custos a saúde pública em torno de U\$172 bilhões por ano, sendo a DA sua principal causa. Com o desenvolvimento tecnológico e a concomitante maior expectativa de vida, cerca de 4,6 milhões de novos casos surgem a cada ano e estima-se que estes números dobrem a prevalência da doença a cada 20 anos até 2040 (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2011).

A histopatologia da DA é caracterizada pelo acúmulo de placas constituídas pelo peptídeo β -amiloide e de emaranhados neurofibrilares constituídos da proteína tau hiperfosforilada, que resultam na diminuição das sinapses e degeneração neuronal principalmente nas regiões cerebrais responsáveis pelas funções cognitivas, como o córtex cerebral, o hipocampo, o córtex entorrinal e o estriado ventral (YARDIN, 2007). Apesar das principais teorias sugerirem que o peptídeo β -amiloide (Hipótese amiloide) e alterações neuroquímicas específicas (Hipótese colinérgica) fazem parte da etiologia da DA, diversas outras propostas têm surgido nos últimos anos na tentativa de explicar sua causa e origem, como estresse oxidativo, aumento da atividade de quinases, hiperfosforilação da tau, disfunção mitocondrial, príons, deficiência de fatores tróficos, alterações da homeostasia de Ca^{2+} , e alterações do metabolismo energético (SWERDLOW; BURNS; KHAN, 2010).

1.1. Doença de Alzheimer, Sinalização de Insulina e Hipótese Mitocondrial

Uma perturbação no metabolismo de glicose, principal fonte de energia do sistema nervoso pode ser a base para muitos distúrbios cerebrais. Um dos primeiros sinais da DA é uma redução no metabolismo da glicose cerebral (MERGENTHALER *et al.*, 2013). Estudos em seres humanos e em modelos animais sugerem que distúrbios no metabolismo da glicose e da sinalização da insulina cerebral estão associados à progressão da DA e aos déficits cognitivos, bem como ao distúrbio no metabolismo da glicose periférica como obesidade ou *diabetes mellitus* (DM) tipo 2 (KAPOGIANNIS; MATTSON, 2011).

Embora até recentemente não se acreditava haver importante função da insulina no cérebro – afinal os transportadores de glicose expressos no mesmo independem de insulina para cumprirem sua função – recentes estudos vêm demonstrando que a função da insulina no encéfalo existe e vai além da simples metabolização de glicose, como é frequentemente relatada na periferia. No encéfalo, a insulina exerce papel trófico, auxiliando no controle do metabolismo celular, do crescimento axonal, promovendo assim neuroplasticidade. Esta função resulta em um melhor controle do metabolismo sistêmico e das habilidades cognitivas (KLEINRIDDERS, 2016; KLEINRIDDERS *et al.*, 2015).

Da mesma forma, em análises *post mortem* de encéfalos humanos, MOLONEY *et al.* (2010) observaram que os pacientes diagnosticados com DA tinham defeitos na expressão de proteínas da via de sinalização de insulina no sistema nervoso, sugerindo que a DA poderia ter relação com a sinalização encefálica de insulina. Confirmando estes achados, TALBOT *et al.* (2012) demonstraram que mesmo quando não é manifestada na periferia, a resistência à insulina pode estar presente no encéfalo de pacientes com DA, e parece ser uma característica inicial e comum da DA, um fenômeno acompanhado pela resistência ao fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1, do inglês *Insulin-like growth factor 1*) e intimamente associado à disfunção do substrato do receptor de insulina (IRS-1, do inglês *Insulin receptor substrate 1*), que é potencialmente desencadeada pelos oligômeros de β amilóide, promovendo o declínio cognitivo. Adicionalmente, essa resistência central parece compartilhar mecanismos e etiologia com a resistência periférica (ARNOLD *et al.*, 2018; KULLMANN *et al.*, 2016). Por exemplo, pacientes com DM apresentam comprometimento cognitivo, especialmente pacientes idosos com DM tipo 2 (BIESSELS; KAPPELLE, 2005). Ainda, assim como em humanos, em modelos experimentais de diabetes a dieta hiperlipídica e com alta glicose também desencadeia resistência à insulina encefálica e déficits cognitivos (KOTHARI *et al.*, 2017).

Evidências fortes sugerem que uma das razões para a neurodegeneração é a perda de capacidade de usar a glicose como fonte de energia (DE FELICE; FERREIRA, 2014; TALBOT *et al.*, 2012; WILLETTE *et al.*, 2015; WILLETTE *et al.*, 2013). Já foi observada uma relação entre a redução progressiva do metabolismo da glicose nos lobos temporal medial, parietotemporal, cingulado posterior e córtices frontais (regiões do cérebro que são afetadas em pacientes com DA) em indivíduos

cognitivamente normais com história materna (mas não paterna) de DA, sugerindo que estes déficits podem estar relacionados com o metabolismo energético mitocondrial (visto que o DNA mitocondrial só é herdado através da mãe) (MOSCONI *et al.*, 2007; MOSCONI *et al.*, 2009). Deste modo, com novas propostas de que a DA pode ter etiologia relacionada com o metabolismo, também tem sido proposta a utilização de drogas comumente utilizadas como tratamento de doenças metabólicas, como a DM, na DA (DE LA MONTE, 2014; YARCHOAN; ARNOLD, 2014).

Neste contexto, tem sido sugerido como modelo experimental de estudo da neurodegeneração semelhante à DA esporádica, a aplicação intracerebroventricular de pequenas doses de estreptozotocina (STZ) (HOYER *et al.*, 2000). Esta droga, amplamente utilizada para induzir DM, quando injetada no encéfalo não leva a alterações sistêmicas do metabolismo da glicose, mas altera o metabolismo da glicose encefálico, levando a alterações moleculares e comportamentais semelhantes às encontradas na DA (BIESSELS; KAPPELLE, 2005; HOYER *et al.*, 2004; LABAK *et al.*, 2010; LESTER-COLL *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2012).

Com a descrição de novas interações celulares relacionados à DA e na tentativa de elucidar novos mecanismos, tem ganhado força a hipótese da cascata mitocondrial, que sugere que a DA possa ser decorrente da perda da função mitocondrial no cérebro. Essa diminuição encontrada no metabolismo da mitocôndria é principalmente caracterizada por uma menor atividade da cadeia transportadora de elétrons, observada pela diminuição da expressão e da atividade das enzimas do complexo citocromo c oxidase, influenciando diretamente no aumento do estresse oxidativo celular e no acúmulo de placas β -amiloides (SWERDLOW; BURNS; KHAN, 2010; 2014; SWERDLOW; KHAN, 2004; 2009), sugerindo que uma deficiência da entrega de energia para o neurônio possa ser um dos gatilhos para degeneração típica da DA.

Fatores de risco comumente associados com o início da DA, como o nível de atividade física e maus hábitos alimentares, geralmente estão ligados a problemas metabólicos relacionados a defeitos da função mitocondrial, como perda de atividade e capacidade antioxidantes (FIGUEIREDO *et al.*, 2009; SPARKS *et al.*, 2005). Além da hereditariedade, o surgimento de doenças como dislipidemia, obesidade e diabetes, estão profundamente ligadas ao surgimento de demência em idosos (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2011). Nesse sentido, já foi demonstrado que a estimulação do metabolismo mitocondrial pode melhorar déficits cognitivos (DU *et al.*, 2015; DU *et al.*,

2014), bem como que anormalidades mitocondriais relacionadas à DA podem ser induzidas pela injeção de STZ intracerebroventricular (CORREIA *et al.*, 2013). Assim, este modelo parece ter características relevantes para o estudo de déficits cognitivos relacionados a disfunção mitocondrial e sinalização de insulina.

1.2. Déficits cognitivos e o metabolismo de tiamina

A tiamina, também conhecida como vitamina B1, foi descoberta em 1897 pelo médico holandês Christiaan Eijkman, ao observar que galinhas que comiam arroz polido, desenvolviam uma condição de polineurite semelhante à doença encontrada pelo mesmo em Jakarta e na Indonésia, conhecida como *beribéri*. Ele percebeu também que as galinhas que comiam arroz in natura não desenvolviam esta condição. Eijkman supôs então que algum fator estava presente na casca do arroz, e era perdido no processo de polimento (CARPENTER, 2000). Esta descoberta conferiu a Eijkman o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1929, dividido com Frederick Gowland Hopkins, que identificou a tiamina no leite materno, pela descoberta do primeiro micronutriente essencial para a vida humana. Por sua relação com o funcionamento do sistema nervoso, este composto foi denominado primeiramente como neurina, mas posteriormente alterado para tiamina (*tia* – vindo de tiazol; *mina* – de pirimidina), por ser uma amina quaternária contendo um núcleo de pirimidina ligado a um anel tiazol como estrutura química (Figura 1). Hopkins afirmou que “nenhum animal pode ser mantido vivo por uma mistura de pura proteína, gordura e carboidrato, mesmo que o material inorgânico necessário seja cuidadosamente adicionado, o animal não pode prosperar”. Para ele, ficou claro “que existem muitos fatores menores em todos os alimentos em que o corpo depende”. Ele chamou essas substâncias misteriosas de “fatores acessórios”. O bioquímico polonês Casimir Funk mais tarde introduziu o termo “vitaminas”, hoje comum, na suposição errônea de que quimicamente essas são todas aminas (PENZLIN, 2006).

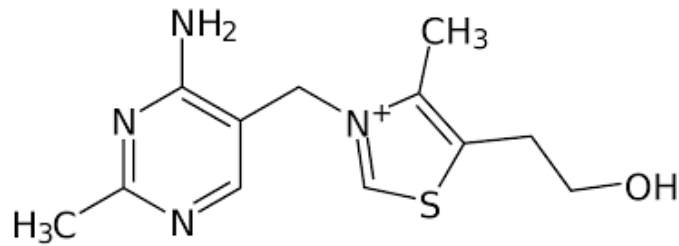


Figura 1. Estrutura química da Tiamina (C₁₂H₁₇N₄OS)
Fonte: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (CID: 1130)

A tiamina é um cofator enzimático limitante para a atividade das enzimas piruvato e alfa-cetoglutarato desidrogenases, sendo ambas críticas para a ação do ciclo do ácido cítrico e eficiência no metabolismo de glicose na mitocôndria. Este nutriente também é cofator enzimático da enzima transcetolase, na via das pentoses, sendo assim também um regulador do sistema antioxidante endógeno da célula.

A tiamina é absorvida principalmente na região duodenal do intestino delgado e, por ser um cátion orgânico, necessita de transportadores membranares para ser captada pelas células (RINDI; LAFORENZA, 2000). Apesar de ser o primeiro micronutriente descrito pela ciência, há mais de cem anos, os transportadores membranares de tiamina apenas foram descobertos e caracterizados no final da década de 90, sendo eles o THTR-1 e THTR-2 (DUTTA *et al.*, 1999; EUDY *et al.*, 2000). Por ser um composto hidrofílico dependente dos carreadores para absorção celular, sua disponibilidade é limitada pela quantidade e/ou eficiência destas proteínas carreadoras. No cérebro, também é fator limitante a seletividade da barreira hematoencefálica (VOLVERT *et al.*, 2008). MORRISON e CAMPBELL (1960) demonstraram que, em humanos, uma única dose oral a partir de 2,5 mg de tiamina praticamente não é absorvida, demonstrando que sua absorção é pequena e facilmente saturável.

No cérebro, os transportadores de tiamina têm níveis de expressão variados de acordo com a localização regional e o tipo celular. Avaliando a expressão dos transportadores de tiamina na ferramenta *Tabula Muris* (Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris, 2018), podemos observar que o transportador THTR-2 é majoritariamente expresso em células endoteliais, sendo essencial para o transporte de tiamina entre a barreira hematoencefálica (Figura 2B). Já o transportador THTR-1 está presente nos variados tipos de células cerebrais

(Figura 2A), mas com expressão concentrada regionalmente no bulbo olfatório, córtex frontal, hipocampo, hipotálamo e medula (Figura 2C).

A deficiência de tiamina (DT) tem uma profunda relação com comprometimentos neuronais, podendo levar ao surgimento de síndromes como beribéri, que compromete principalmente aspectos ligados ao funcionamento do sistema nervoso periférico, levando a perda de sensibilidade e da capacidade motora, e a síndrome de Wernicke-Korsarkoff, que ataca o sistema nervoso central e é caracterizada principalmente por encefalopatia, psicose e perda de memória.

A abundância de transportadores de tiamina parece estar relacionada com a sensibilidade da região às concentrações de tiamina. Em modelos experimentais de DT associada à síndrome de Wernicke-Korsarkoff, foi observado que a DT provoca uma diminuição no metabolismo glutamatérgico no córtex pré-frontal (CARVALHO *et al.*, 2006), além de perda de neurônios e espinhos dendríticos hipocampais (INABA *et al.*, 2016), evidenciando o importante papel da tiamina na formação e consolidação de memória. Também foi demonstrado por LIU, M. *et al.* (2014) que a deficiência de tiamina induz anorexia através da inibição da proteína AMPK – uma importante sinalizadora para ativação do metabolismo de glicose e biogênese mitocondrial – no hipotálamo.

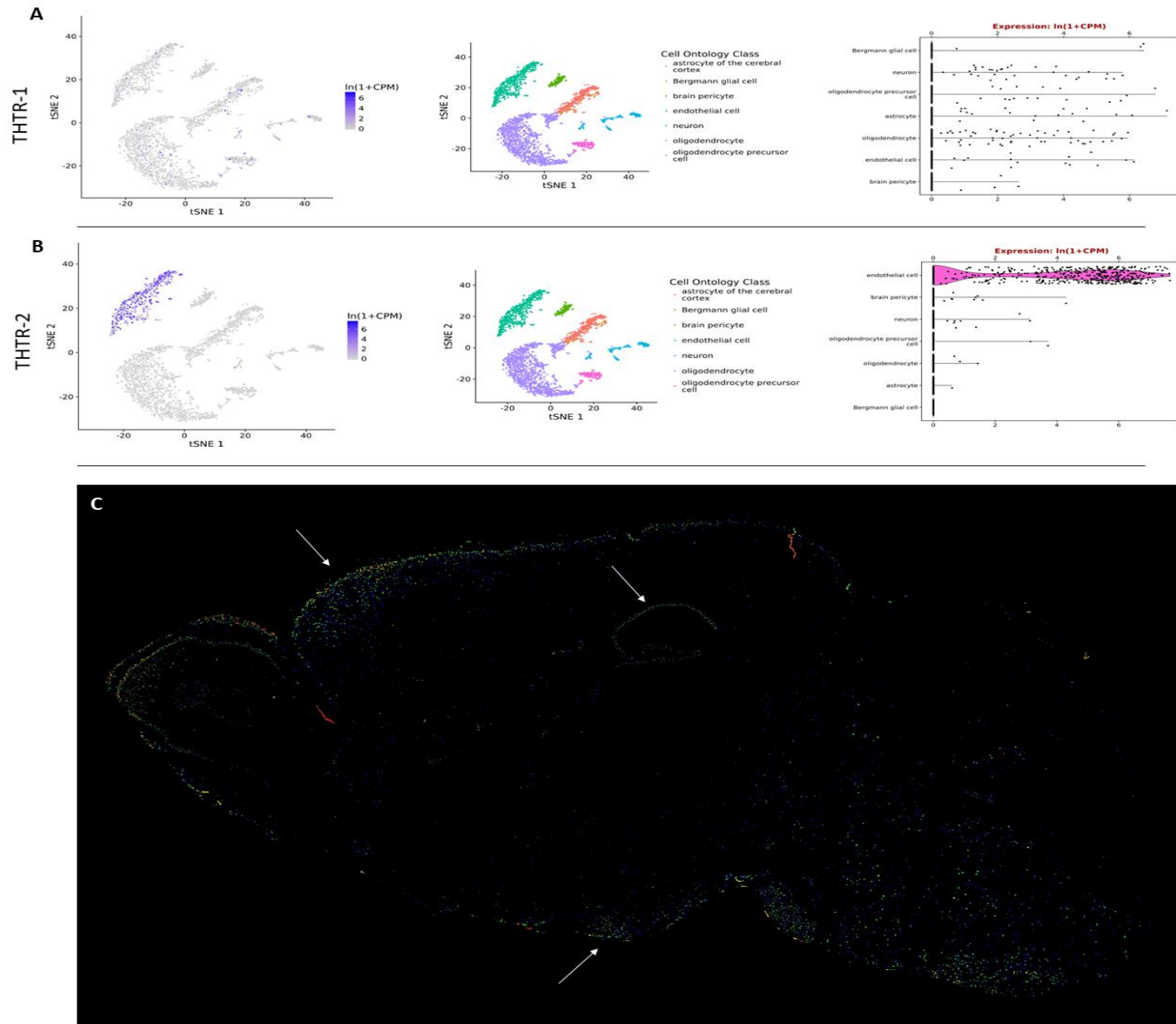


Figura 2. Expressão gênica cerebral em diferentes tipos celulares dos transportadores de tiamina THTR-1 (A) e THTR-2 (B), Fonte: mapa interativo *Tabula Muris* (<https://tabula-muris.ds.czbiohub.org/>). (C) Corte histológico mostrando a expressão gênica de THTR-1, as setas evidenciam a expressão no córtex pré-frontal, hipocampo e hipotálamo, Fonte: *Allen Mouse Brain Map* (<http://mouse.brain-map.org/gene/show/78221>)

Na DA, assim como em modelos experimentais da DA, tem sido sugerido que a deficiência do metabolismo da tiamina também pode ser responsável pelo aumento da proteína precursora amiloide (APP), da atividade da β -secretase (enzima que participa da via amiloidogênica) e consequente acúmulo de placas amiloides, sugerindo que há uma grande semelhança nos danos causados pela deficiência deste micronutriente e a histopatológica característica da DA (FREDERIKSE; FARNSWORTH; ZIGLER, 1999; ZHANG *et al.*, 2011). GIBSON *et al.* (1988) observaram um decréscimo na atividade dos complexos enzimáticos dependentes de tiamina transcetolase, piruvato desidrogenase e cetoglutarato desidrogenase no cérebro de pacientes com DA, nas mesmas proporções ao decréscimo da atividade de colina-acetiltransferase, marcador da atividade colinérgica. Esses resultados também foram confirmados por BUTTERWORTH e BESNARD (1990), que encontraram atividade enzimática reduzida das enzimas dependentes de tiamina do córtex temporal de pacientes com DA. Também é relatado no modelo experimental de DA esporádica induzido por STZ, uma diminuição da atividade das enzimas dependentes de tiamina, o que sugere uma ligação da atividade destas enzimas com o metabolismo da glicose na DA em humanos (CORREIA *et al.*, 2013). Foi recentemente relatado que há uma deficiência de tiamina difosfato (TDP), a principal forma metabolicamente ativa de tiamina, no sangue de pacientes com DA, em relação à indivíduos da mesma idade e sem comprometimento cognitivo (WANG *et al.*, 2018). Estes dados em conjunto, indicam uma forte ligação do déficit do metabolismo relacionado à tiamina, com o acometimento pela DA.

A causa da diminuição da atividade destas enzimas na DA, assim como alterações nas concentrações sanguíneas de tiamina difosfato (TDP) – a forma metabolicamente ativa da tiamina – é ainda desconhecida. No entanto, uma vez que a demanda energética do cérebro requer uma grande atividade mitocondrial, uma alteração dessa função bioenergética pode, pelo menos em parte, fazer parte da etiologia de doenças neurológicas que comprometem a cognição, como a DA. Tem sido também relatado na literatura a capacidade modulatória da tiamina e das enzimas dependentes desta vitamina na síntese de acetilcolina e manutenção de sinapses colinérgicas (ANZALONE *et al.*, 2010; SZUTOWICZ *et al.*, 2013). Nesse sentido, alguns estudos têm relatado a capacidade da suplementação de tiamina em recuperar os déficits cognitivos, o metabolismo de

glicose encefálico e os níveis de fatores tróficos em humanos e em modelos animais (DIEF; SAMY; DOWEDAR, 2015; GIBSON *et al.*, 2016). Assim, a utilização de um composto capaz de aumentar a disponibilidade de tiamina no cérebro e estimular as enzimas dependentes deste cofator mostra-se como uma potencial alternativa de tratamento da DA através da melhora do metabolismo de glicose e atividade mitocondrial (NGUYỄN, 2011).

A benfotiamina (BFT) – s-benzoiltiamina o-monofosfato – análogo s-acila sintético da Tiamina (Figura 3), tem como característica principal, um anel benzênico, conferindo característica lipossolúvel à esta porção da molécula. Este composto foi sintetizado e caracterizado por WADA *et al.* (1961), que demonstraram também a estabilidade e biodisponibilidade do mesmo sendo administrado por via oral. Após a BFT ser absorvida pela borda em escova da mucosa intestinal, quando é desfosforilada pela enzima ecto-alcalina fosfatase, é convertida em uma molécula lipossolúvel – s-benzoiltiamina – fato que aumenta sua biodisponibilidade em até 10 vezes por atravessar a bicamada lipídica da parede celular sem necessidade de proteína carreadora (VOLVERT *et al.*, 2008).

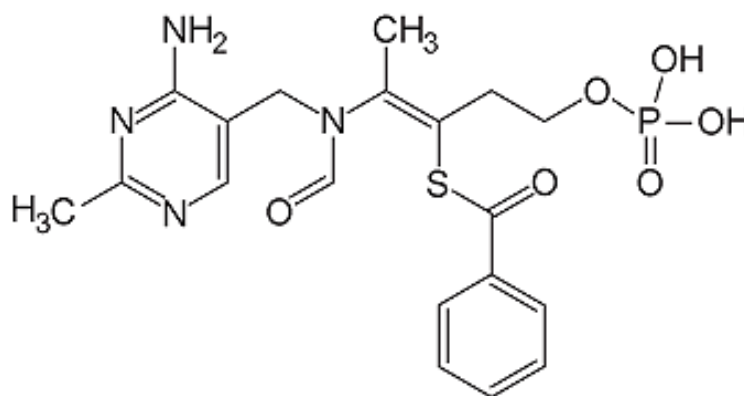


Figura 3. Estrutura química da s-benzoiltiamina o-monofosfato (C₁₉H₂₃N₄O₆PS).
Fonte: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (CID: 3032771)

Agindo também como cofator da enzima transcetolase, a tiamina age na via das pentoses, aumentando principalmente a produção de NADPH, influenciando também no sistema antioxidante celular. Ao administrar BFT em cultura de miotubos, além de aumento da produção de NADPH, foi observado também aumento na quantidade total de glicose metabolizada e um efeito

inibidor do gene de NADPH oxidase (NOX) (FRASER *et al.*, 2012), enzima bastante envolvida no desenvolvimento de neurodegeneração ligada à DA (BROWN, 2007; HERNANDES; BRITTO, 2012). A inibição do gene da NOX produziu uma redução de neuropatia em ratos diabéticos, podendo tornar-se também um alvo importante no tratamento de DA esporádica (XU; DAI; DAI, 2008).

Estudos recentes têm demonstrado que além da propriedade de cofator enzimático conferida à tiamina, a benfotiamina parece ter papéis de sinalização não enzimáticos no encéfalo (MKRTCHYAN *et al.*, 2015). Foi observado que a suplementação com BFT parece ser capaz de estimular a via de sinalização da insulina e inibir a atividade da proteína GSK3, importante quinase que pode atuar hiperfosforilando a proteína tau na DA (MARKOVA *et al.*, 2017; PAN *et al.*, 2010). Portanto, apesar de não ter um mecanismo bem elucidado, a tiamina, ou a benfotiamina, parece também ter um papel importante na manutenção da integridade do receptor de insulina ou seus sucessores na via de sinalização.

CONCLUSÃO

Nosso estudo mostra que o tratamento com BFT é capaz de melhorar o déficit cognitivo em um modelo experimental de doença de Alzheimer esporádica. A suplementação resulta em uma melhora na sinalização de insulina não só em áreas relacionadas à cognição, mas também do controle metabólico, também afetados na DA, evitando apoptose no hipotálamo. Esta melhora relacionada à tiamina parece acontecer apenas em situações em que a célula está em estresse. Assim, as alterações relacionadas à tiamina podem ser um alvo importante no tratamento da DA, sendo o uso da BFT uma estratégia importante e segura de modular estas alterações. Mais estudos devem ser conduzidos afim de entender os mecanismos que relacionam as alterações nas concentrações de tiamina com a memória, e como suas alterações afetam a progressão da DA.

Referências

ANZALONE, S.; VETRENO, R. P.; RAMOS, R. L.; SAVAGE, L. M. Cortical cholinergic abnormalities contribute to the amnesic state induced by pyrithiamine-induced thiamine deficiency in the rat. **European Journal of Neuroscience**, 32, n. 5, p. 847-858, 2010.

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, 2018/03/01 2018.

BARRIA, A.; MALINOW, R. NMDA receptor subunit composition controls synaptic plasticity by regulating binding to CaMKII. **Neuron**, 48, n. 2, p. 289-301, 2005.

BATINGA, H. Cannabinoid receptor ligands prevent dopaminergic neuro. **Journal of Biomedical Sciences**, 5, n. 1, 2016.

BENZLER, J.; GANJAM, G. K.; KRUGER, M.; PINKENBURG, O. *et al.* Hypothalamic glycogen synthase kinase 3beta has a central role in the regulation of food intake and glucose metabolism. **Biochem J**, 447, n. 1, p. 175-184, Oct 1 2012.

BERNABEU, R.; DE STEIN, M. L.; FIN, C.; IZQUIERDO, I. *et al.* Role of hippocampal NO in the acquisition and consolidation of inhibitory avoidance learning. **Neuroreport**, 6, n. 11, p. 1498-1500, 1995.

BERNABEU, R.; SCHMITZ, P.; FAILLACE, M. P.; IZQUIERDO, I. *et al.* Hippocampal cGMP and cAMP are differentially involved in memory processing of inhibitory avoidance learning. **Neuroreport**, 7, n. 2, p. 585-588, 1996.

BIESSELS, G.; KAPPELLE, L. Increased risk of Alzheimer's disease in Type II diabetes: insulin resistance of the brain or insulin-induced amyloid pathology? **Biochemical Society Transactions**, 33, n. 5, p. 1041-1044, 2005.

BLASS, J. P.; GLEASON, P.; BRUSH, D.; DIPONTE, P. *et al.* Thiamine and Alzheimer's Disease: A Pilot Study. **JAMA Neurology**, 45, n. 8, p. 833-835, 1988.

BROWN, G. Mechanisms of inflammatory neurodegeneration: iNOS and NADPH oxidase. **Biochemical Society Transactions**, 35, n. 5, p. 1119-1121, 2007.

BUTTERWORTH, R. F.; BESNARD, A.-M. Thiamine-dependent enzyme changes in temporal cortex of patients with Alzheimer's disease. **Metabolic brain disease**, 5, n. 4, p. 179-184, 1990.

CARPENTER, K. J. **Beriberi, white rice, and vitamin B: a disease, a cause, and a cure.** Univ of California Press, 2000. 0520923642.

CARVALHO, F. M.; PEREIRA, S. R.; PIRES, R. G.; FERRAZ, V. P. *et al.* Thiamine deficiency decreases glutamate uptake in the prefrontal cortex and impairs spatial

memory performance in a water maze test. **Pharmacol Biochem Behav**, 83, n. 4, p. 481-489, Apr 2006.

CHAVES-KIRSTEN, G. P.; MAZUCANTI, C. H.; REAL, C. C.; SOUZA, B. M. *et al.* Temporal changes of CB1 cannabinoid receptor in the basal ganglia as a possible structure-specific plasticity process in 6-OHDA lesioned rats. **PLoS One**, 8, n. 10, p. e76874, 2013.

CHAVES, G. P.; NOGUEIRA, T. C.; BRITTO, L. R.; BORDIN, S. *et al.* Retinal removal up-regulates cannabinoid CB(1) receptors in the chick optic tectum. **J Neurosci Res**, 86, n. 7, p. 1626-1634, May 15 2008.

CHEUNG, E. C.; SLACK, R. S. Emerging role for ERK as a key regulator of neuronal apoptosis. **Science Signaling**, 2004, n. 251, p. pe45-pe45, 2004.

CLAYTON, D. A.; MESCHES, M. H.; ALVAREZ, E.; BICKFORD, P. C. *et al.* A hippocampal NR2B deficit can mimic age-related changes in long-term potentiation and spatial learning in the Fischer 344 rat. **Journal of Neuroscience**, 22, n. 9, p. 3628-3637, 2002.

CORONA, C.; PASINI, S.; LIU, J.; AMAR, F. *et al.* Activating Transcription Factor 4 (ATF4) Regulates Neuronal Activity by Controlling GABABR Trafficking. **J Neurosci**, 38, n. 27, p. 6102-6113, Jul 4 2018.

CORREIA, S. C.; SANTOS, R. X.; SANTOS, M. S.; CASADESUS, G. *et al.* Mitochondrial abnormalities in a streptozotocin-induced rat model of sporadic Alzheimer's disease. **Current Alzheimer Research**, 10, n. 4, p. 406-419, 2013.

CRUNFLI, F.; MAZUCANTI, C. H.; DE MORAES, R. C. M.; COSTA, A. P. *et al.* NO-Dependent Akt Inactivation by S-Nitrosylation as a Possible Mechanism of STZ-Induced Neuronal Insulin Resistance. **J Alzheimers Dis**, 65, n. 4, p. 1427-1443, 2018.

CRUNFLI, F.; VRECHI, T. A.; COSTA, A. P.; TORRÃO, A. S. Cannabinoid Receptor Type 1 Agonist ACEA Improves Cognitive Deficit on STZ-Induced Neurotoxicity Through Apoptosis Pathway and NO Modulation. **Neurotox Res**, 35, n. 3, p. 516-529, Apr 2019.

DE FELICE, F. G.; FERREIRA, S. T. Inflammation, defective insulin signaling, and mitochondrial dysfunction as common molecular denominators connecting type 2 diabetes to Alzheimer disease. **Diabetes**, 63, n. 7, p. 2262-2272, 2014.

DE LA MONTE, S. M. Type 3 diabetes is sporadic Alzheimer's disease: Mini-review. **European Neuropsychopharmacology**, 24, n. 12, p. 1954-1960, 2014.

DENG, J.; YUAN, F.; GUO, Y.; XIAO, Y. *et al.* Deletion of ATF4 in AgRP neurons promotes fat loss mainly via increasing energy expenditure. 66, n. 3, p. 640-650, 2017.

DIEF, A. E.; SAMY, D. M.; DOWEDAR, F. I. Impact of Exercise and Vitamin B 1 Intake on Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor and Spatial Memory

Performance in a Rat Model of Stress. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, 61, n. 1, p. 1-7, 2015.

DU, L.-L.; CHAI, D.-M.; ZHAO, L.-N.; LI, X.-H. *et al.* AMPK activation ameliorates Alzheimer's disease-like pathology and spatial memory impairment in a streptozotocin-induced Alzheimer's disease model in rats. **Journal of Alzheimer's Disease**, 43, n. 3, p. 775-784, 2015.

DU, L.-L.; XIE, J.-Z.; CHENG, X.-S.; LI, X.-H. *et al.* Activation of sirtuin 1 attenuates cerebral ventricular streptozotocin-induced tau hyperphosphorylation and cognitive injuries in rat hippocampi. **Age**, 36, n. 2, p. 613-623, 2014.

DUTTA, B.; HUANG, W.; MOLERO, M.; KEKUDA, R. *et al.* Cloning of the human thiamine transporter, a member of the folate transporter family. **Journal of Biological Chemistry**, 274, n. 45, p. 31925-31929, 1999.

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

EUDY, J. D.; SPIEGELSTEIN, O.; BARBER, R. C.; WLODARCZYK, B. J. *et al.* Identification and characterization of the human and mouse SLC19A3 gene: a novel member of the reduced folate family of micronutrient transporter genes. **Mol Genet Metab**, 71, n. 4, p. 581-590, Dec 2000.

FIGUEIREDO, P. A.; POWERS, S. K.; FERREIRA, R. M.; AMADO, F. *et al.* Impact of lifelong sedentary behavior on mitochondrial function of mice skeletal muscle. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 64, n. 9, p. 927-939, Sep 2009.

FRASER, D.; HESSVIK, N. P.; NIKOLIĆ, N.; AAS, V. *et al.* Benfotiamine increases glucose oxidation and downregulates NADPH oxidase 4 expression in cultured human myotubes exposed to both normal and high glucose concentrations. **Genes & nutrition**, 7, n. 3, p. 459-469, 2012.

FREDERIKSE, P. H.; FARNSWORTH, P.; ZIGLER, J. S. Thiamine Deficiency in Vivo Produces Fiber Cell Degeneration in Mouse Lenses. **Biochemical and biophysical research communications**, 258, n. 3, p. 703-707, 1999.

GIBSON, G. E.; HIRSCH, J. A.; CIRIO, R. T.; JORDAN, B. D. *et al.* Abnormal thiamine-dependent processes in Alzheimer's Disease. Lessons from diabetes. **Mol Cell Neurosci**, 55, p. 17-25, Jul 2013.

GIBSON, G. E.; HIRSCH, J. A.; FONZETTI, P.; JORDAN, B. D. *et al.* Vitamin B1 (thiamine) and dementia. **Ann N Y Acad Sci**, Mar 11 2016.

GIBSON, G. E.; SHEU, K.-F. R.; BLASS, J. P.; BAKER, A. *et al.* Reduced activities of thiamine-dependent enzymes in the brains and peripheral tissues of patients with Alzheimer's disease. **Archives of neurology**, 45, n. 8, p. 836-840, 1988.

GROSSBERG, A. J.; SCARLETT, J. M.; MARKS, D. L. Hypothalamic mechanisms in cachexia. **Physiology & behavior**, 100, n. 5, p. 478-489, 2010.

GRÜNBLATT, E.; SALKOVIC-PETRISIC, M.; OSMANOVIC, J.; RIEDERER, P. *et al.* Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. **Journal of neurochemistry**, 101, n. 3, p. 757-770, 2007.

GUO, Z.; CHEN, Y.; MAO, Y.-F.; ZHENG, T. *et al.* Long-term treatment with intranasal insulin ameliorates cognitive impairment, tau hyperphosphorylation, and microglial activation in a streptozotocin-induced Alzheimer's rat model. **Scientific Reports**, 7, 2017.

HERNANDES, M. S.; BRITTO, L. R. G. NADPH oxidase and neurodegeneration. **Current neuropharmacology**, 10, n. 4, p. 321-327, 2012.

HERNÁNDEZ, F.; DE BARREDA, E. G.; FUSTER-MATANZO, A.; LUCAS, J. J. *et al.* GSK3: a possible link between beta amyloid peptide and tau protein. **Experimental neurology**, 223, n. 2, p. 322-325, 2010.

HERNANDEZ, F.; LUCAS, J. J.; AVILA, J. GSK3 and tau: two convergence points in Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, 33, n. s1, p. S141-S144, 2013.

HÉROUX, M.; RAO, V. R.; LAVOIE, J.; RICHARDSON, J. S. *et al.* Alterations of thiamine phosphorylation and of thiamine-dependent enzymes in Alzheimer's disease. **Metabolic brain disease**, 11, n. 1, p. 81-88, 1996.

HILBIG, R.; RAHMANN, H. Comparative autoradiographic investigations on the tissue distribution of benfotiamine versus thiamine in mice. **Arzneimittelforschung**, 48, n. 5, p. 461-468, May 1998.

HOYER, S.; LANNERT, H.; LATTEIER, E.; MEISEL, T. Relationship between cerebral energy metabolism in parietotemporal cortex and hippocampus and mental activity during aging in rats. **Journal of neural transmission**, 111, n. 5, p. 575-589, 2004.

HOYER, S.; LEE, S. K.; LÖFFLER, T.; SCHLIEBS, R. Inhibition of the Neuronal Insulin Receptor An in Vivo Model for Sporadic Alzheimer Disease? **Annals of the New York Academy of Sciences**, 920, n. 1, p. 256-258, 2000.

INABA, H.; KISHIMOTO, T.; OISHI, S.; NAGATA, K. *et al.* Vitamin B1-deficient mice show impairment of hippocampus-dependent memory formation and loss of hippocampal neurons and dendritic spines: potential microendophenotypes of Wernicke-Korsakoff syndrome. **Biosci Biotechnol Biochem**, 80, n. 12, p. 2425-2436, Dec 2016.

JOHNSON, D. K.; WILKINS, C. H.; MORRIS, J. C. Accelerated weight loss may precede diagnosis in Alzheimer disease. **Arch Neurol**, 63, n. 9, p. 1312-1317, Sep 2006.

JOHNSON, P. R.; HIRSCH, J. Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. **J Lipid Res**, 13, n. 1, p. 2-11, Jan 1972.

KAPOGIANNIS, D.; MATTSON, M. P. Disrupted energy metabolism and neuronal circuit dysfunction in cognitive impairment and Alzheimer's disease. **The Lancet Neurology**, 10, n. 2, p. 187-198, 2011.

KLEINRIDDERS, A. Deciphering Brain Insulin Receptor and Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor Signalling. **Journal of neuroendocrinology**, 28, n. 11, 2016.

KLEINRIDDERS, A.; CAI, W.; CAPPELLUCCI, L.; GHAZARIAN, A. *et al.* Insulin resistance in brain alters dopamine turnover and causes behavioral disorders. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 112, n. 11, p. 3463-3468, Mar 17 2015.

KOTHARI, V.; LUO, Y.; TORNABENE, T.; O'NEILL, A. M. *et al.* High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. **1863**, n. 2, p. 499-508, 2017.

KRASKA, A.; SANTIN, M. D.; DORIEUX, O.; JOSEPH-MATHURIN, N. *et al.* In vivo cross-sectional characterization of cerebral alterations induced by intracerebroventricular administration of streptozotocin. **PLoS one**, 7, n. 9, p. e46196, 2012.

KRAVITZ, E.; GAISLER-SALOMON, I.; BIEGON, A. Hippocampal glutamate NMDA receptor loss tracks progression in Alzheimer's disease: quantitative autoradiography in postmortem human brain. **PLoS One**, 8, n. 11, p. e81244, 2013.

KULLMANN, S.; HENI, M.; HALLSCHMID, M.; FRITSCH, A. *et al.* Brain Insulin Resistance at the Crossroads of Metabolic and Cognitive Disorders in Humans. **Physiol Rev**, 96, n. 4, p. 1169-1209, Oct 2016.

LABAK, M.; FONIOK, T.; KIRK, D.; RUSHFORTH, D. *et al.* Metabolic changes in rat brain following intracerebroventricular injections of streptozotocin: a model of sporadic Alzheimer's disease. *In: Brain Edema XIV*: Springer, 2010. p. 177-181.

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.

LIU, H.; SANG, S.; LU, Y.; WANG, Z. *et al.* Thiamine metabolism is critical for regulating correlated growth of dendrite arbors and neuronal somata. **Sci Rep**, 7, n. 1, p. 5342, Jul 13 2017.

LIU, J.; PASINI, S.; SHELANSKI, M. L.; GREENE, L. A. Activating transcription factor 4 (ATF4) modulates post-synaptic development and dendritic spine morphology. **Front Cell Neurosci**, 8, p. 177, 2014.

LIU, M.; ALIMOV, A.; WANG, H.; FRANK, J. A. *et al.* Thiamine deficiency induces anorexia by inhibiting hypothalamic AMPK. **Neuroscience**, 267, p. 102-113, 2014.

- MARKOVA, N.; BAZHENOVA, N.; ANTHONY, D. C.; VIGNISSE, J. *et al.* Thiamine and benfotiamine improve cognition and ameliorate GSK-3 β -associated stress-induced behaviours in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 75, p. 148-156, 2017.
- MATTSON, M. P.; SHEA, T. B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends Neurosci**, 26, n. 3, p. 137-146, Mar 2003.
- MATTSON, M. P.; SHEA, T. B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends in neurosciences**, 26, n. 3, p. 137-146, 2003.
- MECHA, M.; TORRÃO, A. S.; MESTRE, L.; CARRILLO-SALINAS, F. J. *et al.* Cannabidiol protects oligodendrocyte progenitor cells from inflammation-induced apoptosis by attenuating endoplasmic reticulum stress. **Cell Death Dis**, 3, p. e331, 2012.
- MERGENTHALER, P.; LINDAUER, U.; DIENEL, G. A.; MEISEL, A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. **Trends in neurosciences**, 36, n. 10, p. 587-597, 2013.
- MKRTCHYAN, G.; ALESHIN, V.; PARKHOMENKO, Y.; KAEHNE, T. *et al.* Molecular mechanisms of the non-coenzyme action of thiamin in brain: biochemical, structural and pathway analysis. **Scientific reports**, 5, p. 12583, 2015.
- MOLONEY, A. M.; GRIFFIN, R. J.; TIMMONS, S.; O'CONNOR, R. *et al.* Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling. **Neurobiol Aging**, 31, n. 2, p. 224-243, Feb 2010.
- MORRISON, A.; CAMPBELL, J. Vitamin Absorption Studies: I. Factors Influencing the Excretion of Oral Test Doses of Thiamine and Riboflavin by Human Subjects. **The Journal of nutrition**, 72, n. 4, p. 435-440, 1960.
- MOSCONI, L.; BRYNS, M.; SWITALSKI, R.; MISTUR, R. *et al.* Maternal family history of Alzheimer's disease predisposes to reduced brain glucose metabolism. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 104, n. 48, p. 19067-19072, 2007.
- MOSCONI, L.; MISTUR, R.; SWITALSKI, R.; BRYNS, M. *et al.* Declining brain glucose metabolism in normal individuals with a maternal history of Alzheimer disease. **Neurology**, 72, n. 6, p. 513-520, 2009.
- MUSIEK, E. S.; XIONG, D. D.; HOLTZMAN, D. M. Sleep, circadian rhythms, and the pathogenesis of Alzheimer disease. **Exp Mol Med**, 47, p. e148, Mar 13 2015.
- NETZEL, M.; ZIEMS, M.; JUNG, K. H.; NOLL, E. *et al.* Effect of high-dosed thiamine hydrochloride and S-benzoyl-thiamine-O-monophosphate on thiamine-status after chronic ethanol administration. **Biofactors**, 11, n. 1-2, p. 111-113, 2000.

- NGUYỄN, L. T. H. Role of thiamine in Alzheimer's disease. **American journal of Alzheimer's disease and other dementias**, 26, n. 8, p. 588-598, 2011.
- NOLAN, K. A.; BLACK, R. S.; SHEU, K. F. R.; LANGBERG, J. *et al.* A Trial of Thiamine in Alzheimer's Disease. **JAMA Neurology**, 48, n. 1, p. 81-83, 1991.
- PAN, X.; CHEN, Z.; FEI, G.; PAN, S. *et al.* Long-Term Cognitive Improvement After Benfotiamine Administration in Patients with Alzheimer's Disease. **Neuroscience bulletin**, 32, n. 6, p. 591-596, 2016.
- PAN, X.; GONG, N.; ZHAO, J.; YU, Z. *et al.* Powerful beneficial effects of benfotiamine on cognitive impairment and β -amyloid deposition in amyloid precursor protein/presenilin-1 transgenic mice. **Brain**, p. awq069, 2010.
- PENZLIN, H. Sir Frederick Gowland Hopkins begründet die moderne Vitaminforschung. **J Biologie in unserer Zeit**, 36, n. 3, p. 192-193, 2006.
- PINTON, S.; DA ROCHA, J. T.; GAI, B. M.; NOGUEIRA, C. W. Sporadic dementia of Alzheimer's type induced by streptozotocin promotes anxiogenic behavior in mice. **Behav Brain Res**, 223, n. 1, p. 1-6, Sep 30 2011.
- PORTARI, G. V.; VANNUCCHI, H.; JORDAO, A. A. Liver, plasma and erythrocyte levels of thiamine and its phosphate esters in rats with acute ethanol intoxication: A comparison of thiamine and benfotiamine administration. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 48, n. 4, p. 799-802, 2013.
- PRIETO-ALMEIDA, F.; PANVELOSKI-COSTA, A. C.; CRUNFLI, F.; TEIXEIRA, S. S. *et al.* Thyroid hormone improves insulin signaling and reduces the activation of neurodegenerative pathway in the hippocampus of diabetic adult male rats. **Life sciences**, 192, p. 253-258, 2018.
- QUADRI, P.; FRAGIACOMO, C.; PEZZATI, R.; ZANDA, E. *et al.* Homocysteine, folate, and vitamin B-12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. **Am J Clin Nutr**, 80, n. 1, p. 114-122, Jul 2004.
- RAHMOUNI, K.; SIGMUND, C. D.; HAYNES, W. G.; MARK, A. L. Hypothalamic ERK mediates the anorectic and thermogenic sympathetic effects of leptin. **Diabetes**, 58, n. 3, p. 536-542, Mar 2009.
- RAI, S.; KAMAT, P. K.; NATH, C.; SHUKLA, R. A study on neuroinflammation and NMDA receptor function in STZ (ICV) induced memory impaired rats. **Journal of neuroimmunology**, 254, n. 1, p. 1-9, 2013.
- RAI, S.; KAMAT, P. K.; NATH, C.; SHUKLA, R. Glial activation and post-synaptic neurotoxicity: the key events in Streptozotocin (ICV) induced memory impairment in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 117, p. 104-117, 2014.
- REITZ, C.; BRAYNE, C.; MAYEUX, R. Epidemiology of Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, 7, n. 3, p. 137-152, 2011.

RINDI, G.; LAFORENZA, U. Thiamine intestinal transport and related issues: recent aspects. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 224, n. 4, p. 246-255, 2000.

ROH, E.; SONG, D. K.; KIM, M. S. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. **Exp Mol Med**, 48, p. e216, Mar 11 2016.

ROTHMAN, K. J. No adjustments are needed for multiple comparisons. **Epidemiology**, 1, n. 1, p. 43-46, Jan 1990.

SANTOS, T. O.; MAZUCANTI, C. H. Y.; XAVIER, G. F.; TORRÃO, A. S. Early and late neurodegeneration and memory disruption after intracerebroventricular streptozotocin. **Physiology & behavior**, 107, n. 3, p. 401-413, 2012.

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

Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris. **Nature**, 562, n. 7727, p. 367-372, Oct 2018.

SPARKS, L. M.; XIE, H.; KOZA, R. A.; MYNATT, R. *et al.* A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. **Diabetes**, 54, n. 7, p. 1926-1933, 2005.

SWERDLOW, R. H.; BURNS, J. M.; KHAN, S. M. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, 20, n. Suppl 2, p. 265, 2010.

SWERDLOW, R. H.; BURNS, J. M.; KHAN, S. M. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 1842, n. 8, p. 1219-1231, 2014.

SWERDLOW, R. H.; KHAN, S. M. A "mitochondrial cascade hypothesis" for sporadic Alzheimer's disease. **Medical hypotheses**, 63, n. 1, p. 8-20, 2004.

SWERDLOW, R. H.; KHAN, S. M. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: an update. **Experimental neurology**, 218, n. 2, p. 308-315, 2009.

SZUTOWICZ, A.; BIELARCZYK, H.; JANKOWSKA-KULAWY, A.; PAWEŁCZYK, T. *et al.* Acetyl-CoA the key factor for survival or death of cholinergic neurons in course of neurodegenerative diseases. **Neurochemical research**, 38, n. 8, p. 1523-1542, 2013.

TALBOT, K.; WANG, H.-Y.; KAZI, H.; HAN, L.-Y. *et al.* Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. **The Journal of clinical investigation**, 122, n. 4, p. 1316-1338, 2012.

TAPIAS, V.; JAINUDDIN, S.; AHUJA, M.; STACK, C. *et al.* Benfotiamine treatment activates the Nrf2/ARE pathway and is neuroprotective in a transgenic mouse model of tauopathy. **Hum Mol Genet**, 27, n. 16, p. 2874-2892, Aug 15 2018.

TIMPER, K.; BRUNING, J. C. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. **Dis Model Mech**, 10, n. 6, p. 679-689, Jun 1 2017.

TONG, Q.; YE, C. P.; JONES, J. E.; ELMQUIST, J. K. *et al.* Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. **Nat Neurosci**, 11, n. 9, p. 998-1000, Sep 2008.

TORRÃO, A. S.; CAFÉ-MENDES, C. C.; REAL, C. C.; HERNANDES, M. S. *et al.* Different approaches, one target: understanding cellular mechanisms of Parkinson's and Alzheimer's diseases. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 34, p. s194-s205, 2012.

VIGNISSE, J.; SAMBON, M.; GORLOVA, A.; PAVLOV, D. *et al.* Thiamine and benfotiamine prevent stress-induced suppression of hippocampal neurogenesis in mice exposed to predation without affecting brain thiamine diphosphate levels. **Mol Cell Neurosci**, 82, p. 126-136, Jul 2017.

VOLVERT, M.-L.; SEYEN, S.; PIETTE, M.; EVRARD, B. *et al.* Benfotiamine, a synthetic S-acyl thiamine derivative, has different mechanisms of action and a different pharmacological profile than lipid-soluble thiamine disulfide derivatives. **BMC pharmacology**, 8, n. 1, p. 10, 2008.

VRECHI, T. A.; CRUNFLI, F.; COSTA, A. P.; TORRÃO, A. S. Cannabinoid Receptor Type 1 Agonist ACEA Protects Neurons from Death and Attenuates Endoplasmic Reticulum Stress-Related Apoptotic Pathway Signaling. **Neurotoxicity research**, p. 1-10, 2018.

WADA, T.; TAKAGI, H.; MINAKAMI, H.; HAMANAKA, W. *et al.* A new thiamine derivative, S-benzoylthiamine O-monophosphate. **Science**, 134, n. 3473, p. 195-196, Jul 21 1961.

WANG, C.; FEI, G.; PAN, X.; SANG, S. *et al.* High thiamine diphosphate level as a protective factor for Alzheimer's disease. **Neurological research**, p. 1-8, 2018.

WHITE, H.; PIEPER, C.; SCHMADER, K.; FILLENBAUM, G. Weight change in Alzheimer's disease. **J Am Geriatr Soc**, 44, n. 3, p. 265-272, Mar 1996.

WILLETTE, A. A.; BENDLIN, B. B.; STARKS, E. J.; BIRDSILL, A. C. *et al.* Association of Insulin Resistance With Cerebral Glucose Uptake in Late Middle-Aged Adults at Risk for Alzheimer Disease. **JAMA neurology**, 72, n. 9, p. 1013-1020, 2015.

WILLETTE, A. A.; XU, G.; JOHNSON, S. C.; BIRDSILL, A. C. *et al.* Insulin resistance, brain atrophy, and cognitive performance in late middle-aged adults. **Diabetes care**, 36, n. 2, p. 443-449, 2013.

XU, M.; DAI, D.-Z.; DAI, Y. Normalizing NADPH oxidase contributes to attenuating diabetic nephropathy by the dual endothelin receptor antagonist CPU0213 in rats. **American journal of nephrology**, 29, n. 3, p. 252-256, 2008.

YARCHOAN, M.; ARNOLD, S. E. Repurposing diabetes drugs for brain insulin resistance in Alzheimer disease. **Diabetes**, 63, n. 7, p. 2253-2261, 2014.

YARDIN, C. Histopathology of Alzheimer's disease. **Morphologie: bulletin de l'Association des anatomistes**, 91, n. 295, p. 199-201, 2007.

ZHANG, Q.; YANG, G.; LI, W.; FAN, Z. *et al.* Thiamine deficiency increases β -secretase activity and accumulation of β -amyloid peptides. **Neurobiology of aging**, 32, n. 1, p. 42-53, 2011.