

Res., Soc. Dev. 2019; 8(6):e486974

ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v8i6.974>**Substâncias administradas para a indução da Doença de Alzheimer em ratos****Substances administered for the induction of Alzheimer's disease in rats****Sustancias administradas para la inducción de la enfermedad de Alzheimer en ratas**

Recebido: 12/02/2019 | Revisado: 27/02/2019 | Aceito: 11/03/2019 | Publicado: 12/03/2019

Raquel Barbosa CordeiroORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3607-3741>

Faculdades Integradas do Vale do Ribeira – FVR, Brasil

E-mail: barbosac.raquel@gmail.com**Fábio Kiss Ticli**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1003-9385>

Faculdades Integradas do Vale do Ribeira – FVR, Brasil

E-mail: fakiss@gmail.com**Mikael Cavallet**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2626-0121>

Faculdades Integradas do Vale do Ribeira – FVR, Brasil

E-mail: cavalletm@gmail.com**Resumo**

As estimativas sobre a expansão dos casos da Doença de Alzheimer (DA) no mundo indicam a necessidade de constantes estudos sobre essa patologia ainda sem cura. Os estudos têm investigado a DA em modelos animais não-humanos utilizando substâncias químicas que induzem à DA. O presente estudo teve por objetivo realizar uma revisão da literatura sobre as substâncias usadas em laboratório para reproduzir a DA em ratos. Foram selecionados 44 de 111 estudos analisados, mantendo apenas os artigos que induziram a DA por substâncias químicas. As substâncias identificadas foram o alumínio, a beta-amiloide, a colchicina, a d-galactose, a escopolamina, a estreptozocina e a homocisteína. Verificou-se que dos 44 artigos, a substância mais utilizada foi a beta-amiloide, principal biomarcador da DA. Embora diferentes estudos tenham replicado resultados que simulam a ocorrência de DA em ratos e os tratamentos realizados com ratos em laboratório pareçam promissores, nenhuma cura foi encontrada ainda.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; indução; substâncias químicas; ratos; beta-amiloide.

Abstract

Estimates of the progressive expansion of Alzheimer's disease (AD) worldwide indicate the need for constant studies on this pathology, still without cure. Studies have investigated AD in non-human animal models using substances that induced AD. The present study aimed to review the literature on the substances and procedures used in laboratory to reproduce AD in rats. We selected 44 of 111 studies analyzed, keeping only papers that induced AD by chemical substances. The identified substances were aluminum, beta-amyloid, colchicine, d-galactose, scopolamine, streptozocin and homocysteine. It was verified that of the 44 articles, the most used substance was beta-amyloid, the main biomarker of AD. Although different studies have replicated results that simulate the occurrence of AD in rats and the treatments performed with rats in the laboratory appear promising, no cure has yet been found.

Key words: Alzheimer's disease; induction; chemical substances; rats; beta-amyloid.

Resumen

Las estimaciones sobre la expansión de los casos de la enfermedad de Alzheimer (EA) en el mundo indican la necesidad de constantes estudios sobre esta patología aún sin cura. Los estudios han investigado la EA en modelos animales no humanos utilizando sustancias químicas que inducen a la EA. El presente estudio tuvo como objetivo realizar una revisión de la literatura sobre las sustancias usadas en laboratorio para reproducir la EA en ratas. Se seleccionaron 44 de 111 estudios analizados, manteniendo sólo los artículos que indujeron a EA por sustancias químicas. Las sustancias identificadas fueron el aluminio, la beta-amiloide, la colchicina, la d-galactosa, la escopolamina, la estreptozocina y la homocisteína. Se comprobó que de los 44 artículos, la sustancia más utilizada fue la beta-amiloide, principal biomarcador de la EA. Aunque diferentes estudios han replicado resultados que simulan la ocurrencia de EA en ratas y los tratamientos realizados con ratas en laboratorio parecen prometedores, no se ha encontrado ninguna cura.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer; inducción; sustancias químicas; ratas; beta-amiloide.

1. Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é um transtorno neurocognitivo, caracterizado por manifestar-se majoritariamente em idades superiores a 60 anos (DA de início tardio); ou em pessoas com mutações e/ou predisposições genéticas, com idades inferiores a 60 anos (DA de início precoce) (American Psychiatric Association [APA], 2014; Munoz & Feldman, 2000). Os

sintomas da patologia são progressivos, sendo as disfunções na memória e na aprendizagem representantes da fase leve; e os prejuízos na linguagem, no desempenho percepto-motor e visuomotor, sintomas da fase maior da DA (APA, 2014).

Dados publicados na *World Alzheimer Report* indicam que em 2015, ocorreram cerca de 46,8 milhões de casos de DA em todo o mundo (Alzheimer Disease International [ADI], 2015). Os dados sugerem ainda que o número de casos aumente, em aproximadamente 20 anos, para 74,7 milhões; e em 2050, prevê-se que 131,5 milhões de pessoas sejam acometidas pela patologia. A progressão do número de casos da doença pode estar relacionada ao constante envelhecimento da população, pois o envelhecimento é um dos principais fatores de risco para a DA. A população de idosos (maiores de 60 anos) em 2017 era de 962 milhões; e até 2050, estima-se que esta população duplique para 2,1 bilhões (United Nations [UN], Department of Economic and Social Affairs [DESA], Population Division, 2017).

Os sintomas da DA são provocados pela formação de placas neuríticas (PN), compostas pelo peptídeo beta-amiloide ($A\beta$), nos tecidos cerebrais; e a presença de emaranhados neurofibrilares (ENF), devido a hiperfosforilação da proteína Tau (Korolev, 2014; Munoz & Feldman, 2000). Ocorre uma progressiva neurodegeneração. Dentre diversas implicações, as PN geram neurotoxicidade, neuroinflamação, e promovem disfunções sinápticas; enquanto os ENF desestabilizam a estrutura dos neurônios, acarretando na morte neuronal (Kocahan & Doğan, 2017; Torres *et al.*, 2012). A cognição é danificada, prejudicando diversas funções como memória e linguagem (Zidan *et al.*, 2012).

A etiologia da DA de início tardio permanece desconhecida, bem como a cura da patologia em geral, sendo possível somente o controle dos sintomas (Cazarim, Moriguti, Ogunjimi & Pereira, 2016; Vale *et al.*, 2011). Diversos estudos sobre a origem e o progresso da DA têm sido realizados em modelos animais não-humanos, como determinadas espécies de ratos, na tentativa de estudar seu início, desenvolvimento, retardação e/ou reversão (Alawdi *et al.*, 2016; Petrasek *et al.*, 2016; Walton, 2012). Estes estudos administram substâncias tais como alumínio, colchicina, e estreptozocina, a fim de reproduzir efetivamente as características da DA do ser humano em outro modelo animal (More, Kumar, Cho, Yun, & Choi, 2016).

O presente estudo teve como objetivo identificar e relatar as substâncias usadas em laboratório para simular a DA em ratos. Essa investigação permitirá obtermos mais conhecimento sobre como a DA tem sido estudada em um modelo animal e fornecer informações para possíveis estudos que simulem a DA em ratos. Descrever e investigar a DA é de grande relevância, visto que uma quantidade cada vez maior de pessoas é afetada por essa patologia, sendo necessária ampla divulgação de pesquisas sobre esse tema.

2. Metodologia

Realizamos uma busca nas bases de dados *Scielo*, *PubMed*, e *Google Academics*, sempre com as três palavras-chave juntas “*Alzheimer Disease*”, “*rats*” e “*induction*”. Os termos “*Alzheimer Disease*” e “*rats*” constam como Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). A partir dessa busca, selecionamos 111 artigos publicados num intervalo de até 5 anos que haviam induzido DA em ratos. Dos 111 artigos, excluimos os estudos que não utilizaram substâncias químicas para induzir a DA em ratos, restando 44 artigos. Desses, em 04 artigos os autores relataram o uso do alumínio, 21 aplicaram injeções de beta-amilóide, 02 usaram a colchicina, 02 a d-galactose, 03 artigos usaram a escopolamina, 10 a estreptozocina e 02 artigos administraram a homocisteína para simular a DA em ratos.

3. Referencial Teórico

3.1. Alumínio

A hipótese acerca do alumínio como fator etiológico na DA é controversa, pois a similaridade entre os sintomas da patologia e a neurodegeneração provocada pelo elemento é questionada (Lidsky, 2014). Contudo, estudos demonstram que o alumínio danifica estruturas como o córtex e o hipocampo, provocando o estresse oxidativo, induzindo a aglomeração da A β e a formação de emaranhados neurofibrilares, afetando as atividades sinápticas e promovendo a morte neuronal (Ohyagi & Miyoshi, 2013).

Implicações no desempenho da memória e aprendizado podem ser observadas em modelos de DA produzidos por alumínio em ratos. Um estudo analisou as consequências das alterações hemodinâmicas, e a associação entre estas e as modificações neuropatológicas na DA induzida por alumínio (Chen *et al.*, 2013). Dois grupos de 10 ratos foram usados no estudo, sendo categorizados como controle, que não receberam a administração do cloreto de alumínio, e o grupo que recebeu a administração do cloreto de alumínio de um a cinco meses. As alterações cognitivas foram mensuradas utilizando o Labirinto Aquático de Morris. Os resultados mostraram que os sujeitos administrados com cloreto de alumínio levaram mais tempo para chegar até a plataforma de escape, e menos tempo de permanência no quadrante com a plataforma de escape do que o grupo controle, indicando danos na memória e aprendizagem espacial dos animais (Chen *et al.*, 2013). Outros estudos apresentam conclusões semelhantes, confirmando os efeitos do alumínio sobre alterações na capacidade cognitiva nos sujeitos acometidos pela DA (Alawdi *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2018).

3.2. Beta-Amilóide

Devido à relação concreta entre o peptídeo A β e a DA, estudos utilizam a substância na reprodução da patologia em modelos animais não-humanos. Nestes, as disfunções de memória e aprendizagem provocados pela injeção das PN podem ser analisadas com base em testes de memória espacial e/ou visual. Por exemplo, o efeito das flavonas de *Vitis vinifera L.* sobre a DA induzida por A β foi investigado em um estudo que estabeleceu 6 grupos de 15 ratos machos (*Sprague Dawley*), que durante 14 dias receberam administração de diferentes substâncias (Ma *et al.*, 2018). O grupo modelo para a patologia recebeu injeções de salina e injeções de A β , que foi previamente incubada em água deionizada a 37°C por 7 dias até agregar-se; enquanto o grupo controle recebeu a mesma dose de salina injetada no grupo modelo; o grupo administrado com donepezila (substância utilizada no tratamento da DA) e o grupo administrado com baixa, média e alta dose das flavonas, receberam injeções de agregados A β antes da administração destas substâncias.

Para mensurar os danos e/ou melhorias na performance cognitiva dos sujeitos, Ma *et al.* (2018) efetuou o teste de memória e aprendizado no Labirinto Aquático de Morris. Nesse tipo de teste, os animais são inicialmente colocados em uma piscina com água (labirinto aquático) e deixados livres para explorar o ambiente. Posteriormente, posiciona-se uma plataforma de escape em um dos quatro quadrantes (sudoeste, noroeste, nordeste ou sudeste) da piscina. Os sujeitos são reposicionados no labirinto, com o objetivo de treiná-los para tentarem escapar da água ao subirem na plataforma de escape. Por último, a plataforma é removida, e a capacidade de memorizar e aprender a localização da plataforma é mensurada pela quantidade de tempo que permanecem no quadrante em que estava localizada a plataforma e a quantidade de vezes que o mesmo quadrante foi atravessado (Morris *et al.*, 1982).

No estudo de Ma *et al.* (2018), os animais dos diferentes grupos realizaram um treinamento duplo-cego no labirinto no décimo terceiro dia de administração das substâncias. No sexto dia, os sujeitos foram submetidos à exploração espacial durante 90 segundos no labirinto aquático, cuja plataforma de escape foi removida. Mensurou-se, durante os 90 segundos, o tempo de permanência do rato no terceiro quadrante, bem como o número de vezes que o quadrante foi atravessado durante a exploração. Os resultados evidenciaram que a latência de escape do grupo modelo foi maior em comparação ao grupo controle, enquanto o grupo de média e alta dose de flavonas teve a latência reduzida. Os dados obtidos na exploração espacial mostraram que o número de vezes que o grupo modelo cruzou o terceiro quadrante foi menor em relação ao grupo controle. Enquanto o grupo que recebeu a administração de donepezila e o grupo com alta dose de flavonas cruzaram mais vezes o mesmo quadrante do que o grupo

modelo. Esses resultados sugerem que o donepezila e as flavonas melhoraram significativamente o aprendizado e memória em ratos com DA induzidos pela AB.

3.3. Colchicina

A colchicina é uma substância citotóxica que danifica as tubulinas presentes nos microtúbulos, os quais compõem e estabilizam a estrutura celular dos neurônios (Nazem, Sankowski, Bacher, & Al-Abed, 2015). A colchicina causa estresse oxidativo nos neurônios e a degeneração neurofibrilar, prejudicando o transporte realizado nos axônios e dendritos, reduzindo atividades colinérgicas e ocasionando à morte neuronal (More, Kumar, Cho, Yun, & Choi, 2016).

Tais prejuízos implicam em declínios na capacidade de memória e aprendizagem, como evidenciado em um estudo que avaliou os efeitos do antioxidante N-acetilcisteína sobre a DA induzida por colchicina em ratos (Joy, Rao, & Madhyastha, 2018). Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos de 12 sujeitos. Os ratos receberam administração de diferentes substâncias durante 2 semanas conforme grupo definido: o grupo controle foi administrado com salina; o grupo que passou por uma cirurgia placebo (*sham-rats*) foi tratado com salina e submetido à um procedimento cirúrgico, no qual foi injetado líquido cefalorraquidiano artificial esterilizado no ventrículo lateral dos sujeitos; o grupo modelo da DA recebeu injeções de colchicina no ventrículo lateral, e foi tratado com salina; enquanto dois grupos tiveram a DA induzida por colchicina, e posteriormente, um grupo foi tratado com uma dose menor, e o outro com uma dose maior de N-acetilcisteína.

Para avaliar as funções cognitivas foi utilizado o teste de Esquiva Passiva. Este teste é realizado numa caixa dividida em dois compartimentos: um claro feito de madeira, e um escuro feito de metal conectado à um estimulador de choque elétrico. Efetuou-se o teste durante 2 dias, sendo realizados 5 testes ao total; 4 testes no primeiro dia, e um teste no último dia. No primeiro dia, os ratos ficaram livres para explorar os compartimentos por 5 minutos. Após esse tempo, os animais passaram por 3 testes de 5 minutos, nos quais mensura-se o tempo que o sujeito permanece em cada compartimento. No quarto teste, quando o rato pisa no compartimento escuro, um choque elétrico é liberado sob as patas do animal. Em seguida o rato é colocado novamente em sua caixa de convivência. Após 24h da ocorrência do choque elétrico, os ratos são inseridos no compartimento claro. É mensurado quanto tempo leva para o rato entrar no compartimento escuro (latência de entrada) e a permanência em cada compartimento (Joy, Rao, & Madhyastha, 2018). No estudo, observou-se que os ratos acometidos pela DA induzida por colchicina tiveram uma menor latência de entrada e passaram mais tempo no compartimento

escuro em comparação aos demais grupos. Esses resultados evidenciam que ocorreram falhas na retenção da memória nos modelos de DA induzida pela injeção de colchicina.

Ainda que os efeitos da colchicina impliquem em perda de memória e problemas no aprendizado, estudos demonstram que a colchicina diferencia-se da DA pela degeneração neurofibrilar causada não pela hiperfosforilação da proteína Tau observada na patologia, mas sim, pela desfosforilação da proteína Tau (para uma revisão, ver Nazem, Sankowski, Bacher, & Al-Abed, 2015).

3.4. D-Galactose

A D-Galactose é um nutriente categorizado quimicamente como açúcar reduzido, administrado na reprodução de modelos da DA em razão da reação de envelhecimento e degeneração cerebral provocados pelo estresse oxidativo gerado pela D-Galactose (Parameshwaran, Irwin, Steliou, & Pinkert, 2010). A injeção de D-Galactose em ratos promove a formação dos agregados A β e dos emaranhados neurofibrilares, característicos da patologia (Gok *et al.*, 2015).

Declínios no desempenho da memória e aprendizado podem ser observados na administração da D-Galactose em ratos. Por exemplo, um estudo analisou os efeitos do extrato de *Hericum erinaceus* (cogumelo comestível e medicinal, conhecido como Juba de Leão) sobre a DA (Diling *et al.*, 2017). No estudo utilizou-se 32 Ratos machos (*Sprague Dawley*) os quais foram divididos igualmente em 4 grupos: grupo controle, o qual foi tratado oralmente com água destilada; grupo modelo da DA, o qual recebeu injeção intraperitoneal de D-Galactose; grupo baixa dose, em que foi inicialmente induzido a DA por injeção de D-Galactose, e em período subsequente a indução de DA, foi tratado com baixa dose do extrato de *Hericum erinaceus*; e o grupo de alta dose, em que foi induzido a DA por D-Galactose, porém subsequentemente tratado com maior dose do extrato de *Hericum erinaceus*. A administração das substâncias ocorreu durante 8 semanas.

O desempenho cognitivo foi avaliado com o teste do Labirinto Aquático de Morris. Os resultados mostraram que o grupo modelo da DA gastou mais tempo durante o treinamento da tarefa em relação aos demais grupos. Além disso, o tempo de permanência do grupo modelo no quadrante alvo e o número de vezes em que a plataforma de escape foi cruzada, apresentou-se menor entre todos os grupos. Portanto, os dados evidenciam déficits no desempenho da memória e aprendizado nos modelos de DA induzidos por D-Galactose, verificados pela incapacidade dos animais de recordarem a localização da plataforma de escape (Diling *et al.*, 2017).

3.5. Escopolamina

A disfunção colinérgica apresenta-se como um dos fatores relacionados aos danos no desempenho da memória e aprendizado na DA. Isto ocorre devido a diminuição da enzima acetiltransferase, responsável pela síntese da acetilcolina (ACH), tal como o bloqueio das atividades dos receptores da ACH (Falco, Cukierman, Hauser-Davis, & Rey, 2016). A escopolamina é uma substância anticolinérgica bloqueadora dos receptores muscarínicos da ACH, utilizada na mimetização das disfunções colinérgicas e cognitivas na DA (More, Kumar, Cho, Yun, & Choi, 2016).

Lu *et al.* (2018) examinaram os efeitos neuroprotetores da isoflavona de soja sobre os prejuízos da memória na DA induzida por escopolamina em ratos. No experimento, foram utilizados 60 ratos machos, divididos igualmente entre 6 grupos: grupo controle, administrado oralmente com carboximetilcelulose de sódio (CMC-Na); grupo escopolamina, pré-tratado com CMC-Na; grupo donepezila, pré-tratado com donepezila; e os grupos de baixa, média e alta dose da isoflavona de soja, pré-tratados com as isoflavonas. Após 13 dias de tratamento, os grupos da isoflavona de soja, o grupo escopolamina, e o grupo donepezila receberam, durante 7 dias seguidos, doses de escopolamina. Os grupos foram submetidos a testes cognitivos durante 10 dias depois do período de pré-tratamento.

O desempenho da memória de curto prazo e da memória espacial foi mensurada a partir do teste de Reconhecimento de Localização de Objetos (Lu *et al.*, 2018). Na primeira etapa do teste, os ratos passaram por uma fase de habituação por 10 minutos, durante 3 dias consecutivos, na qual exploraram livremente o interior de uma caixa preta retangular de medidas 40cm x 50cm x 50cm. Na segunda etapa, durante o quarto dia, ocorreu a fase de familiarização, onde os ratos exploraram o interior da caixa, onde foram posicionados dois objetos identificados como A1 e A2. Nesta etapa, foi mensurado o tempo que os animais exploraram cada objeto, e o tempo total em que exploram os dois objetos. Após a familiarização, os sujeitos foram colocados novamente na caixa de convivência. A fase de teste foi realizada após 30 minutos do término da segunda etapa. Os ratos foram colocados na caixa, onde um dos objetos manteve sua posição inicial (antigo), enquanto a localização do outro objeto foi alterada (novo). Na fase de teste, a memória de curto prazo e a memória espacial foram mensuradas com base no Índice de Discriminação, representado pela fórmula: $(TN - TF)/(TN + TF)$, sendo TN o tempo explorando o objeto novo, e TF o tempo explorando o objeto antigo. Os resultados mostraram que na fase de familiarização, os grupos não apresentaram diferenças significantes no tempo de exploração dos objetos A1 e A2, bem como no tempo total de exploração. Na fase de teste, o

grupo escopolamina apresentou um Índice de Discriminação menor em comparação ao grupo controle e aos demais grupos, demonstrando prejuízo na memória espacial e na memória de curto prazo, causadas pela DA induzida por escopolamina.

3.6. Estreptozocina

A estreptozocina tem ação inibidora na secreção e recepção de insulina, sendo ministrada na indução de diabetes em modelos animais não-humanos, devido a sua reação hiperglicêmica no organismo (Nazem, Sankowski, Bacher, & Al-Abed, 2015). A injeção intracerebroventricular dessa substância resulta na resistência à insulina e na deficiência no metabolismo da glicose no cérebro; estresse oxidativo, a hiperfosforilação da proteína Tau e a formação dos agregados A β , ocasionando as disfunções sinápticas e a morte neuronal (Nazem, Sankowski, Bacher, & Al-Abed, 2015).

Disfunções cognitivas podem ser evidenciadas em experimentos utilizando ratos com DA induzida por estreptozocina (Guo *et al.*, 2017; Moreira-Silva *et al.*, 2018). Por exemplo, Cevik *et al.* (2017) realizou um experimento com ratos modelos da DA induzidos por estreptozocina, a fim de investigar os efeitos neuroprotetores da eritropoietina na DA. Os animais foram divididos inicialmente em 3 grupos: grupo estreptozocina, possuindo 12 sujeitos administrados com estreptozocina; grupo de cirurgia placebo, o qual recebeu injeção intracerebroventricular de salina; e o grupo controle, que não foi submetido a tratamentos, nem procedimentos cirúrgicos. Após 5 dias, o grupo estreptozocina foi dividido em 2 grupos, no qual um deles recebeu injeção de salina, e o outro, foi tratado com eritropoietina, durante 2 semanas. Ao término do período de tratamento, foi realizado o teste de Esquiva Passiva com os sujeitos. O desempenho da capacidade de memória e aprendizado foi mensurado com base na duração do tempo de permanência dos animais até saírem do compartimento claro para o escuro (tempo de latência). Os resultados mostraram que o grupo administrado com estreptozocina e salina obteve danos em suas funções cognitivas, apresentando menor tempo de latência em comparação aos demais grupos.

3.7. Homocisteína

A hiper-homocisteinemia apresentou-se possivelmente neurotóxica devido a sua relação com a atrofia cerebral em idosos (Sachdev, 2004). Embora os sintomas de atrofia cerebral sejam independentes da DA, pacientes com altos níveis de Homocisteína (HCY) podem apresentar maiores riscos de desenvolver a patologia, enquanto sujeitos já acometidos pela DA podem ser

vulneráveis à progressão da doença, em consequência do aumento de PN e emaranhados neurofibrilares causados pela HCY (Vilaça *et al.*, 2015).

A neurodegeneração gerada pela hiper-homocisteinemia pode resultar em declínios na capacidade de aprendizagem e memória, tal como evidenciado em experimentos utilizando ratos com DA induzida por HCY (Zeng *et al.*, 2018). Um exemplo disso foi um estudo realizado com a finalidade de investigar os efeitos da *Moringa oleifera* sobre a DA induzida por hiper-homocisteinemia (Mahaman *et al.*, 2018). Foram utilizados 84 ratos machos (*Sprague-Dawley*), os quais foram divididos igualmente em 7 grupos: grupo controle, grupo controle positivo, grupo HCY, grupo de baixa prevenção, grupo de alta prevenção, grupo de baixo tratamento e grupo de alto tratamento. Os grupos controle e HCY receberam doses de salina; o grupo controle positivo recebeu doses de SCR1693; os grupos de baixo e alto tratamento foram administrados, respectivamente, com baixas e altas doses do extrato de *Moringa oleifera*; enquanto os grupos de baixa e alta prevenção receberam, respectivamente, baixas e altas doses de *Moringa oleifera*, simultaneamente com doses de HCY. Durante os primeiros 14 dias, os grupos HCY, controle positivo e os grupos de baixo e alto tratamento receberam injeções de HCY; o grupo controle recebeu uma injeção de salina, enquanto os grupos de baixa e alta prevenção não receberam nenhuma administração. Nos 14 dias finais que se seguiram, o tratamento foi realizado por meio de gavagem.

O desempenho cognitivo dos animais foi mensurado com base no teste do Labirinto Aquático de Morris. O treinamento foi realizado seis dias antes dos 14 dias finais do tratamento por gavagem, e o teste foi executado um dia antes do último dia de tratamento. Os resultados mostraram que o grupo HCY obteve aumento na latência de escape durante o período de treinamento, em comparação ao grupo controle. Na fase de teste, o grupo HCY permaneceu apresentando a maior latência de escape. Além disso, o grupo HCY obteve o menor número de cruzamentos e menor tempo de permanência no quadrante-alvo, em relação ao grupo controle e aos demais grupos. Esses resultados indicam que os danos na capacidade de memória e aprendizado ocasionados pela DA foram produzidos pela hiper-homocisteinemia.

Todas as substâncias encontradas no levantamento realizado para o presente estudo, assim como as principais implicações neurológicas negativas causadas por cada substância e os testes cognitivos usados para avaliar as funções cognitivas no modelo animal não-humano, são apresentadas na tabela a seguir. Apenas 13 dos 44 artigos pesquisados são citados na tabela.

Tabela:

Substâncias encontradas para induzir a Doença de Alzheimer em ratos, assim como as principais implicações neurológicas causadas por cada substância e os testes cognitivos usados no modelo animal não-humano.

Substâncias	Principais implicações	Testes cognitivos utilizados nos experimentos	Referências
Alumínio	Estresse oxidativo; aglomerados beta-amilóide (A β); emaranhados neurofibrilares (ENF) (hiperfosforilação da proteína Tau); disfunções das atividades sinápticas.	Labirinto Aquático de Morris; Labirinto em Y; Campo Aberto; Reconhecimento de Objetos Novos.	Chen <i>et al.</i> (2013); Alawdi <i>et al.</i> (2016); Singh <i>et al.</i> (2018).
Beta-amilóide	Neurotoxicidade; neuroinflamação; disfunções sinápticas.	Labirinto Aquático de Morris; Esquiva Ativa.	Ma <i>et al.</i> (2018); Petrusek <i>et al.</i> (2016).
Colchicina	Estresse oxidativo; degeneração neurofibrilar (desfosforilação da proteína Tau); disfunções das atividades colinérgicas.	Esquiva Passiva.	Joy, Rao, & Madhyastha (2018).
D-galactose	Envelhecimento e degeneração cerebral; Estresse oxidativo; Aglomerados A β ; ENF.	Labirinto Aquático de Morris; Atividade Locomotora; Labirinto em Y; Campo Aberto. Rota-rod.	Parameshwaran, Irwin, Steliou, & Pinkert, (2010); Gok <i>et al.</i> (2015); Diling <i>et al.</i> (2017)
Escopolamina	Disfunções na atividade colinérgica (bloqueio dos receptores de Acetilcolina).	Campo aberto; Reconhecimento da Localização do Objeto; Labirinto Aquático de Morris.	Lu <i>et al.</i> (2018).
Estreptozocina	Disfunção no metabolismo da glicose; estresse oxidativo; disfunções sinápticas; ENF; agregados A β .	Labirinto Aquático de Morris; Reconhecimento de Objetos Novos; Condicionamento Contextual do Medo; Labirinto em Cruz Elevado; Inibição por Pré-Pulso	Guo <i>et al.</i> (2017); Moreira-Silva <i>et al.</i> (2018); Cevik <i>et al.</i> (2017).
Homocisteína	Neurotoxicidade; Atrofia Cerebral; Aglomerados A β ; ENF.	Campo Aberto; Labirinto Aquático de Morris; Condicionamento do Medo.	Zeng <i>et al.</i> (2018); Mahaman <i>et al.</i> (2018).

4. Considerações Finais

Por ser uma potencial ameaça ao envelhecimento saudável da população mundial, a DA tem sido estudada com o objetivo de compreender melhor a sua etiologia e também de buscar a cura ou a inibição de sua progressão. O presente estudo investigou as substâncias ministradas em pesquisas para a simulação da DA em ratos e verificou que, de 44 artigos, a substância mais utilizada na indução da DA foi a beta-amiloide, utilizada em 21 estudos. A preferência por esta substância se deve, provavelmente, pela sua relação direta com as causas da DA. Apesar do possível sucesso na simulação e tratamento da DA em modelos animais não-humanos, não houve progresso na cura da patologia em humanos. Determinados aspectos da DA ainda permanecem incompreendidos, afetando a eficiência do desenvolvimento da reversão ou tratamento dos casos. Portanto, perdura a necessidade de se continuar investigando a DA, tal como na seleção e aperfeiçoamento de métodos de indução da patologia para fins de experimentação.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio fornecido ao presente estudo pelas Faculdades Integradas do Vale do Ribeira – FVR.

Referências

Alawdi, S. H., El-Denshary, E. S., Safar, M. M., Eidi, H., David, M. O., & Abdel-Wahhab, M. A. (2016). Neuroprotective Effect of Nanodiamond in Alzheimer's Disease Rat Model: a Pivotal Role for Modulating NF-Kb and STAT3 Signaling. **Molecular Neurobiology**, 54(3), 1906-1918.

Alzheimer Disease International (2015). **World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia**.

American Psychiatric Association (2014). **Manual Diagnóstico de Transtornos Mentais**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed.

Cazarim M. S., Moriguti, J. C., Ogunjimi, A. T., & Pereira, L. R. L. (2017). Perspectives for treating Alzheimer's disease: a review on promising pharmacological substances. **São Paulo Medical Journal**, 134(4), 342-354.

- Cevik, B., Solmaz, V., Yigitturk, G., Cavusoğlu, T., Peker, G., & Erbas, O. (2017). Neuroprotective effects of erythropoietin on Alzheimer's dementia model in rats. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, 26(1), 23-29.
- Chen S-M., Fan C-C., Chiue M-S., Chou C., & Chen J-H. (2013). Hemodynamic and Neuropathological Analysis in Rats with Aluminum Trichloride-Induced Alzheimer's Disease. **PLOS ONE**, 8(12), 01-11.
- Diling, C., Tianqiao, Y., Jian, Y. Chaoqun, Z., Ou, S. & Yizhen, X. (2017). Docking Studies and Biological Evaluation of a Potential β -Secretase Inhibitor of 3-Hydroxyhericenone F from *Hericium erinaceus*. **Frontiers in Pharmacology**, 8(219), 01-17.
- Falco, A., Cukierman, D. S., Hauser-Davis R. A., & Rey N. A. (2016). Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**, 39(1), 63-80.
- Gok, D. K., Ozturk, N., Er, H., Aslan, M., Demir, N., Derin, N., Agar, A., & Yargicoglu, P. (2015). Effects of rosmarinic acid on cognitive and biochemical alterations in ovariectomized rats treated with D-galactose. **Folia Histochemica Et Cytobiologica**, 53(4), 283-293.
- Guo, Z., Chen, Y., Mao, Y-F., Zheng, T., Jiang, Y., Yan, Y., Yin, X., & Zhang, B. (2017). Long-term treatment with intranasal insulin ameliorates cognitive impairment, tau hyperphosphorylation, and microglial activation in a streptozocin-induced Alzheimer's rat model. **Scientific Reports**, 7(45971), 01-12.
- Joy, T., Rao, M. S., & Madhyastha, S. (2018). N-Acetyl Cysteine Supplement Minimize Tau Expression and Neuronal Loss in Animal Model of Alzheimer's Disease. **Brain Sciences**, 8(10), 02-15, 2018.
- Kocahan, S. & Doğan, Z. (2017). Mechanisms of Alzheimer's Disease Pathogenesis and Prevention: The Brain, Neural Pathology, N-methyl-D-aspartate Receptors, Tau Protein and Other Risk Factors. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**, 15(1), 01-08.
- Korolev, I. O. (2014). Alzheimer's disease: A Clinical and Basic Science Review. **Medical Student Research Journal**, 4(Fall), 24-33.

Lidsky, T. I. (2014). Is the Aluminum Hypothesis Dead? **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, 56(5S), S73-S79.

Lu, C., Wang, Y., Xu, T., Li, Q., Wang, D., Zhang, L., Fan, B., Wang, F., & Liu, X. (2018). Genistein Ameliorates Scopolamine-Induced Amnesia in Mice Through the Regulation of the Cholinergic Neurotransmission, Antioxidant System and the ERK/CREB/BDNF Signaling. **Frontiers of Pharmacology**, 9(1153), 01-11.

Ma, L., Xiao, H. Wen, J., Liu, Z. He, Y., & Yuan, F. (2018). Possible mechanism of *Vitis vinifera L.* **Lipids in Health and Disease**, 17(152), 01-09.

Mahaman, Y. A. R., Huang, F., Wu, M., Wang, Y., Wei, Z., Bao, J., Salissou, M. T. M., Ke, D., Wang Q., Liu, R., Wang, J-Z., Zhang, B., Chen, D., & Wang, X. (2018). *Moringa Oleifera* Alleviates Homocysteine-Induced Alzheimer's Disease-Like Pathology and Cognitive Impairments. **Journal of Alzheimer's Disease**, 63(3), 1141-1159.

More, S. V., Kumar, H., Cho, D-Y., Yun, Y-S., & Choi, D-K. (2016). Toxin-Induced Experimental Models of Learning and Memory Impairment. **International Journal of Molecular Sciences**, 17(1447), 01-34.

Moreira-Silva, D., Carrettiero, D. C., Oliveira, A. S. A., Rodrigues, S., Santos-Lopes, J., Canas, P. M., Cunha, R. A., Almeida, M. C., & Ferreira, T. L. (2018). Anandamide Effects in a Streptozocin-Induced Alzheimer's Disease-Like Sporadic Dementia in Rats. **Frontiers in Neuroscience**, 12(653), 01-14.

Morris, R. G. M., Garrud, P. Rawlins J. N. P., & O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. **Nature**, 297, 681-683.

Munoz, D. G., & Feldman, H. (2000). Causes of Alzheimer's Disease. **Canadian Medical Association Journal**, 162(1), 65-72.

Nazem, A., Sankowski, R., Bacher, M., & Al-Abed, Y. (2015). Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**, 12(74), 01-15.

Ohyagi, Y., & Miyoshi, K. (2013). Aluminum and Alzheimer's Disease: An Update. **Alzheimer's Disease & Parkinsonism**, 3(2), 01-07.

Parameshwaran, K., Irwin, M. H., Steliou, K., & Pinkert, C. A. (2010). D-Galactose Effectiveness in Modeling Aging and Therapeutic Antioxidant Treatment in Mice. **Rejuvenation Research**, 13(6), 729-735.

Petrasek, T., Skurlova, M., Maleninska, K., Vojtechova, I., Kristofikova, Z., Matuskova, H., Sirova, J., Vales, K., Ripova, D., & Stuchlik, A. (2016). A Rat Model of Alzheimer's Disease Based on Abeta42 and Pro-oxidative Substances Exhibits Cognitive Deficit and Alterations in Glutamatergic and Cholinergic Neurotransmitter Systems. **Frontiers in Aging Neuroscience**, 8(93), 01-12.

Sachdev, P. (2004). Homocisteína e transtornos psiquiátricos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 26(1), 50-56.

Singh, N. A., Bhardwaj, V., Ravi, C., Ramesh, N., Mandal, A. K. A., & Khan, Z. A. (2018). EGCG Nanoparticles Attenuate Aluminum Chloride Induced Neurobehavioral Deficits, Beta Amyloid and Tau Pathology in a Rat Model of Alzheimer's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, 10(244), 01-13.

Torres, K. C. L., Santos, R. R., Mapal, F. C., Moraes, F. L., Moraes, E. N., & Silva, M. A. R. (2012). Biomarcadores na doença de Alzheimer. **Geriatrics & Gerontologia**, 6(3), 273-282.

United Nations, Department of Economic and Social Affairs, & Population Division. (2017). **World Population Prospects: The 2017 Revision, key Findings and Advanced Tables**. Working Paper n° ESA/P/WP/248.

Vale, F. A. C., Neto, Y. C., Bertolucci, P. H. F., Machado, J. C. B., Silva, D. J., Allam, N., & Balthazar, M. L. F. (2011). Tratamento da doença de Alzheimer. **Dementia e Neuropsychologia**, 5(1), 34-48.

Vilaça, C. O., Freitas, M. R. G., Nascimento, O. J. M., Orsini, M., Leite, M. A. A., & Souza, J. A. (2015). Metabolismo da homocisteína em doenças neurológicas. **Revista Brasileira de Neurologia**, 51(3),73-78.

Walton, J. R. (2012). Cognitive Deterioration and Associated Pathology Induced by Chronic Low Level Aluminum Ingestion in a Translational Rat Model Provides an Explanation of Alzheimer's Disease Tests for Susceptibility and Avenues for Treatment. **International Journal of Alzheimer's disease**, 2012(914947), 01-17.

Zeng, K., Li, M., Hu, J., Mahaman Y. A. R., Bao J., Huang, F., Xia, Y., Liu, X., Wang, Q., Wang, J. Z., Yang Y., Liu R., & Wang X. (2018). *Ginkgo biloba* Extract EGb761 Attenuates Hyperhomocysteinemia-induced AD Like Tau Hyperphosphorylation and cognitive Impairment in Rats. **Current Alzheimer Research**, 15(1), 89-99.

Zidan, M., Arcoverde, C., Araújo, N. B., Vasques, P., Rios, A., Laks, J., & Deslandes, A. (2012). Alterações motoras e funcionais em diferentes estágios da doença de Alzheimer. **Revista de Psiquiatria Clínica**, 39(5), 161-165.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Raquel Barbosa Cordeiro – 40%

Fábio Kiss Ticli – 30%

Mikael Cavallet – 30%