

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**BARREIRA NASAL COMO VIA TERAPÊUTICA E DE INDUÇÃO DE MODELO DE
DEMÊNCIA**

Charlanne de Oliveira Marques

Porto Alegre

2022

Charlanne de Oliveira Marques

**BARREIRA NASAL COMO VIA TERAPÊUTICA E DE INDUÇÃO DE MODELO DE
DEMÊNCIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Neurociências do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Gonçalves

Porto Alegre

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha existência, inspiração e por colocar pessoas tão amorosas e generosas na minha vida.

Agradeço aos meus pais, e toda minha família, pelo amor, força, apoio e confiança.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e ao CAPES e a UFRGS e ao Instituto de Cardiologia do RS.

Agradeço ao meu orientador Dr. Carlos Alberto Gonçalves, pela oportunidade de eu poder estudar no laboratório 33, pela escuta, conselhos, humanidade e sonhos almejados. És mais que um orientador, és um amigo, mestre e pai daqueles que orienta. Gratidão também ao minha coorientadora Dra. Patrícia Sesterheim, pelo carinho, paciência, orientação, conhecimentos e alegrias compartilhadas, ajuda, conselhos e sempre doçura e ternura. Obrigada por ser tão única e especial.

Paty e CA vocês são um exemplo para mim!

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Proteínas Ligantes de Cálcio, aprendi muito sobre o fazer ciência com todos vocês, minha eterna gratidão. Em especial pela amizade construída e colaboração em conhecimento, experimentos e dúvidas sanadas, agradeço a Krista, Lets, Vanessa, Vitor, Lilly, Ana Paula, Rafaela Pacheco, Adri, Caro, Nick, Éverton, Fernanda, Leo, Bruna e aos queridos alunos de iniciação científica Aline Moreira, Rafa Sampaio, Bárbara, Éder e Miri. Estamos juntos!

Aos colegas do laboratório 31, minha gratidão pelos momentos, risadas e conhecimentos compartilhados nos seminários e experimentos. Agradeço a Juliete Scholl e Francieli Rohden pelos ensinamentos, pela ajuda e materiais compartilhados.

Aos bioteristas do Instituto de Cardiologia do RS e Bioquímica da UFRGS, meu muito obrigada!

Agradeço a todos os amigos cultivados Mirelle, Giana, Nara, Carol, Edson, Magnus, Mateus Rosa, Samuel, Ruan, Joelma, Ana Martini, Jayanna e Vanessa Fernanda que estiveram comigo compartilhando momentos acadêmicos e não acadêmicos tão especiais. Gratidão pela força e por serem parte do meu porto seguro.

Aos profissionais que estiveram comigo contribuindo para meu bem-estar, em especial Francine, Cinthia e Marcelo.

Obrigada aos animais deste trabalho! Gratidão!

Dedicatória

Dedico esta tese a minha avó Cleci e tia Cláudia por me ensinarem a sonhar.
Saudades eternas...

“Aqueles que passam por nós não vão sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”. Antoine Saint Exupéry

Guarda sempre Ítaca em teu pensamento.
É teu destino aí chegar.
Mas não apresses absolutamente tua viagem.
É melhor que dure muitos anos

(...)

Sábio assim como te tornaste, com tanta experiência,
já deves ter compreendido o que significam as Ítacas.

(Konstantinos Kaváfis – Ítaca)

RESUMO

A via de administração intranasal pode ser utilizada para tratamento de patologias do SNC ou para o desenvolvimento de doenças neurológicas experimentais. Entre estas doenças, destacamos a doença de Alzheimer (DA), caracterizada por neurodegeneração progressiva associada a déficits cognitivos como, por exemplo, de memória espacial e de reconhecimento e alterações metabólicas e gliais. Neste estudo, utilizou-se a via intranasal como via de administração de sobrenadante e exossomos mesenquimais, na tentativa de reverter um modelo de DA do tipo esporádica induzido por estreptozotocina intracerebroventricular (STZ-ICV). Para isso, isolou-se células mesenquimais estromais do tecido adiposo de ratos Wistar Kyoto. Sobrenadante de células com 80% de confluência, na quarta passagem, foi utilizado para tratamento ou para isolamento de vesículas extracelulares. Foram administrados 10 µl/narina de sobrenadante ou fração exossomal (1 µg/µl/dia) por 5 dias, iniciados 14 dias após a indução do modelo. Ao final do tratamento, os animais foram submetidos a testes comportamentais de memória espacial (Y-maze) e teste de reconhecimento de objeto (TRO). A análise neuroquímica envolveu a atividade da glutamina sintetase (GS) e captação de glicose de fatias hipocâmpais. Os dados demonstraram que o sobrenadante evitou os déficits de memórias apresentados pelos animais que receberam STZ-ICV assim como aumentou os níveis de captação de glicose. Por outro lado, na atividade da GS, o sobrenadante parcialmente reduziu seus valores ao do controle, enquanto os exossomos não alteraram sua atividade e parcialmente aumentaram os níveis de captação de glicose. Na segunda parte deste estudo, investigou-se os efeitos da administração intranasal de estreptozotocina como suposta indutora de modelo de demência. Para isso, através da literatura, foi revisado a constituição da barreira nasal. Independentemente da presença de transportador de glicose tipo 2 (GLUT-2) em células olfatórias, foi hipotetizado que o transporte de estreptozotocina, que é incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica, seria possível através da via de transporte paracelular, entre os espaços celulares entre células embainhantes olfativas (OECs) e fibroblastos do nervo olfatório (ONF) onde a presença de junções celulares seriam menos abundantes. Nesse sentido, realizou-se um estudo experimental através da administração nasal de 15 mg/kg de estreptozotocina em animais Wistar, e após 4 semanas de administração os animais foram testados no TRO e observando-se déficit cognitivo nos animais que receberam

STZ, em relação ao grupo controle. Esses dados demonstram que a barreira nasal é uma via de propagação de substâncias terapêuticas ou tóxicas para o sistema nervoso central.

Palavras – chave: Astrócito, Barreira intranasal, Estreptozotocina, Doença de Alzheimer.

ABSTRACT

The intranasal route of administration can be used for the treatment of CNS pathologies or for the development of neurological diseases. Among these diseases is Alzheimer's disease (AD), a disease characterized by progressive neurodegeneration associated with cognitive deficits such as, for example, spatial and recognition memory and metabolic and glial changes. In this study, the intranasal route was used as the route of administration of mesenchymal supernatant and exosomes, in an attempt to reverse an intracerebroventricular streptozotocin (STZ-ICV) sporadic-type AD model. For this, stromal mesenchymal cells were isolated from the adipose tissue of Wistar Kyoto rats. Supernatant from cells with 80% confluence, in the fourth passage, was used for treatment or for isolation of extracellular vesicles. Ten microliters per nostril of supernatant or exosomal fraction (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}/\text{day}$) were administered for 5 days, 14 days after model induction. At the end of the treatment, the animals were submitted to behavioral spatial memory tests (Y-maze) and object recognition test (ORT). Neurochemical analysis involved glutamine synthetase (GS) activity and glucose uptake from hippocampal slices. The data showed that the supernatant avoided the memory deficits presented by the animals that received STZ-ICV as well as increased glucose uptake levels. On the other hand, in the GS activity, the supernatant partially reduced its values to the control, while the exosomes did not change their activity and partially increased the glucose uptake levels. In the second part of this study, the effects of intranasal administration of streptozotocin as a supposed inducer of a model of dementia were investigated. For this, through the literature, the constitution of the nasal barrier was reviewed. Regardless of the presence of glucose transporter type 2 (GLUT-2) in olfactory cells, it was hypothesized that the transport of streptozotocin, which is unable to cross the blood-brain barrier, would be possible via the paracellular transport pathway, between the cellular spaces between cells. olfactory scaffolds (OECs) and olfactory nerve fibroblasts (ONF) where the presence of cell junctions would be less abundant. In this sense, an experimental study was carried out through the nasal administration of 15 mg/kg of streptozotocin in Wistar animals, where 4 weeks after administration the animals were tested in the ORT and cognitive deficit was observed in the animals that received STZ, in relation to the group control. These data demonstrate that the nasal barrier is a route of propagation of therapeutic or toxic substances to the central nervous system.

LISTA DE ABREVIATURAS

A β	Peptídeo Beta-Amilóide
A β ₁₋₄₂	Isoforma do peptídeo beta-amilóide com 42 aminoácidos.
A β ₁₋₄₀	Isoforma do peptídeo beta-amilóide com 40 aminoácidos
AchE	Enzima acetilcolinesterase
ADSC	Células estromais derivadas do tecido adiposo
ADSC-EXO	Exossomos isolados de células estromais derivadas do tecido adiposo
APP	Proteína precursora de amilóide
APOE	Apolipoproteína E
ATP	Adenosina trifosfato
BACE-1	Beta secretase 1
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo
ChAT	Enzima colina acetiltransferase
COVID-19	Doença do coronavírus 2019
DA	Doença de Alzheimer
DMT	Terapias modificadoras da doença (<i>Disease-modifying therapy</i>)
DPSCs	Células estromais derivadas da polpa dentária
ESCs	Células tronco embrionárias
EXOS	Exossomos
EV	Vesículas extracelulares
ESCRT	Complexos de classificação endossomal necessário para o transporte
E-CAD	E-caderina
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FBS	Soro fetal bovino
GSK3	Glicogêneo sintase cinase 3
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GS	Glutamina sintetase
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada

GFAP	Protéina fibrilar ácida da glia
GDNF	Fator neurotrófico derivado da glia
GLUT 1	Transportador de glicose 1
GLUT 2	Transportador de glicose 2
GLUT 3	Transportador de glicose 3
GLUT 4	Transportador de glicose 4
GFAT	Glutamina-frutose-6-fosfato transaminase
HLA	Antígeno leucocitário humano
HSP	Proteínas de choque térmico
IBA1	Molécula adaptadora ligante de cálcio ionizado – 1
ICV	Intracerebroventricular
IL-1 β	Interleucina -1 β
IL-6	Interleucina – 6
IL-10	Interleucina – 10
iPSCs	Células tronco pluripotentes induzidas
ILVs	Vesículas intraluminais
IGF-1	Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1
IP	Intraperitoneal
IR	Receptor de insulina
mAbs	anticorpos monoclonais anti- A β
miRNA	microRNA
MHC-1	Complexo de histocompatibilidade classe 1
MHC-2	Complexo de histocompatibilidade classe 2
MMPs	Metaloproteinases
MSCs	Células estromais mesenquimais
MVB	Corpos multivesiculares
M2	Fenótipo da microglia
N-CAD	N-caderina
NMDA	N-metil D- Aspartato
NSCs	Células tronco neurais derivadas do cérebro
oA β	Oligômeros de beta-amilóide
OE	Epitélio Olfatório
OECs	Células embainhantes olfativas

OSNs	Neurônios sensoriais olfativos
ORN	Neurônio receptor olfatório
ONF	Fibroblasto do nervo olfatório
p-Tau	Proteína Tau fosforilada
SRI	Substrato do receptor de insulina
STZ	Estreptozotocina
S100B	Proteína B de ligação ao cálcio
STZ-SOB	Grupo Estreptozotocina-sobrenadante
STZ-EXO	Grupo Estreptozotocina – exossomo
STZ-ICV	Estreptozotocina intracerebroventricular
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TRO	Teste de reconhecimento de objetos
TIMPS	Inibidores teciduais de metaloproteinases
TJ	Junções ocludentes
TrkB	Receptor de tirosina cinase B
TGF- β	Fator de crescimento transformante beta
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
ZO	Zônula ocludente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	DOENÇA DE ALZHEIMER.....	13
1.2	ASTRÓCITOS E DOENÇA DE ALZHEIMER.....	17
1.3	TRATAMENTO.....	19
1.3.1	CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS	20
1.3.2	EXOSSOMOS	22
1.4	VIA INTRANASAL COMO ALTERNATIVA DE ACESSO AO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	24
1.5	MODELOS ANIMAIS PARA DA	28
2	JUSTIFICATIVA	32
3	OBJETIVOS.....	33
3.1	OBJETIVO GERAL	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
4	CAPÍTULO 1.....	34
4.1	Introdução.....	34
4.2	Objetivos	35
4.2.2	Objetivo geral	35
4.2.3	Objetivos específicos	35
4.3	Materiais e Métodos	35
4.3.1	Animais.....	35
4.3.2	Procedimento cirúrgico: modelo esporádico de doença de Alzheimer	36
4.3.3	Isolamento e Caracterização das células estromais derivadas do tecido adiposo (ADSCs)...	37
4.3.3.1	Análise fenotípica das ADSCs por citometria de fluxo:	38
4.3.3.2	Ensaio de diferenciação adipogênica e osteogênica das ADSCs in vitro:.....	38
4.3.4	Experimento 1	39
4.3.5	Experimento 2	40
4.3.6	Testes comportamentais.....	41
4.3.7	Análises bioquímicas	43
4.3.8	Análises estatísticas.....	44
4.4	Resultados	45
4.4.1	Experimento 1	45

4.4.2 Experimento 2	50
5 CAPÍTULO 2.....	54
6 DISCUSSÃO	60
6.1 Capítulo 1: Efeitos do sobrenadante e exossomos de células estromais mesenquimais sobre parâmetros comportamental e neuroquímico em modelo animal de doença de Alzheimer do tipo esporádica por estreptozotocina	60
6.2 Capítulo 2: A hipótese de que a administração de estreptozotocina intranasal é um modelo válido de demência semelhante à doença de Alzheimer	71
7 CONCLUSÕES.....	79
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇA DE ALZHEIMER

A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa crônica e progressiva, considerada a forma mais comum de demência (DeTure; Dickson, 2022; Golde, 2022). Ela foi descrita primeiramente em 1907 quando Alois Alzheimer e o neurologista Perusini descreveram o primeiro paciente com sinais clínicos de demência amnésica cuja autópsia cerebral demonstrava perda neuronal, gliose, presença de placas senis e, emaranhados fibrilares anormais no citoplasma de neurônios do córtex e hipocampo (Ferrari; Sorbi, 2021; Golde, 2022).

Acredita-se que a doença tenha uma progressão média de 8-10 anos, mas seus sintomas clínicos podem ser precedidos por estágios pré-clínico ou prodrômico (Masters *et al.*, 2015). Isso porque, apesar da alteração cognitiva ser crônica e progressiva, na DA, os eventos neurobiológicos podem preceder em 20 a 30 anos a demência (Schaar *et al.*, 2022). Desse modo, podem ser encontrados, casos assintomáticos e atípicos (Atri, 2019; Ferrari; Sorbi, 2021).

A DA pode ser classificada em familiar, genética ou precoce e tardia ou esporádica. Três formas típicas de mutações genéticas nos genes da proteína precursora amilóide (APP), presenilina 1 (PS1) e presenilina 2 (PS2) são responsáveis pelas formas genéticas ou precoce da doença (Ju; Tam.,2022; Knopman, 2021) e representam 1-2% do total de casos da DA. Por outro lado, a maioria (mais que 95%) dos casos são do tipo esporádica (Zhong *et al.*, 2021).

Os maiores fatores de risco para a doença de Alzheimer são a idade, histórico familiar e alterações genéticas, especialmente a forma e4 da apolipoproteína E (APOE). Entre os riscos modificáveis encontram-se níveis de atividade física, tabagismo, hipertensão, dieta desbalanceada, alcoolismo, obesidade e diabetes (Alzheimer's Association, 2022; Livingston *et al.*, 2020; WHO, 2019).

Devida sua complexidade fisiopatológica, tem-se proposto a atualização do conceito da DA, de um conceito clínico e patológico para um conceito clínico e biológico (Alzheimer's Association, 2022; Ferrari; Sorbi, 2021; Jack *et al.*, 2018;). Assim, atualmente é reconhecido que a DA é uma construção biológica dinâmica, composta de neurodegeneração, identificada por biomarcadores proteicos específicos (presença de placas extracelulares (senis) de β -amilóide e emaranhados

neurofibrilares intracelulares contendo proteína tau) (Knopman *et al.*, 2021) e que pode ser manifestada, clinicamente, com alterações cognitivas normais, leves ou demência (Ferrari; Sorbi, 2021).

Com o aumento da longevidade, espera-se um crescimento mundial e pandêmico de desordens cognitivas (Atri, 2019). Isso porque o risco de demência aumenta com a idade (Alzheimer's Association, 2022). Considerando, a relação direta entre aumento da expectativa de vida e DA (Abbas *et al.*, 2022), espera-se que o número de pessoas com a doença aumente progressivamente.

A DA representa cerca de 60-70 % de todas as demências presentes em pessoas acima de 60 anos de idade (Gale; Acar; Daffner, 2018 ;Golde, 2022; WHO,2017), onde disfunções cognitivas amnésicas são mais que 90% associadas a doença de Alzheimer (Atri,2019).

De acordo com estimativas do Relatório Mundial de Alzheimer (*World Alzheimer Report*, Prince *et al.*, 2015), 74,7 milhões de pessoas em 2030 e 131,5 milhões em 2050 (Prince *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2017; Meyers *et al.*, 2022) terão demência e atualmente, em todo o mundo 40 milhões de pessoas são afetadas com a DA (Golde, 2022).

No Brasil, a população com DA aumentou 127% desde 1990 (Feter *et al.*, 2021). Em 2010, cerca de 1,2 milhões de pessoas tinham demência, colocando o país entre os nove países com maiores números de pessoas com demência em 2010, como: China, EUA e Japão (Dadalto;Cavalcante, 2021).

Devido a lenta progressão e sua alta prevalência, a DA causa um enorme custo pessoal, social e econômico (Golde, 2022). No Brasil, o total (87,7%) e a taxa (75,3%) de hospitalizações de 2010 a 2019 aumentaram juntamente com os custos de hospitalizações, sendo 785% e 53 % maiores que doenças como Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica e Diabetes *Mellitus* (Feter *et al.*, 2021), além de ser a terceira principal causa de morte no período em 2019 entre as doenças não transmissíveis (DATASUS apud Feter *et al.*, 2021).

No Brasil, cerca de 32,3% de prevalência da DA se deve a fatores de risco modificáveis (Feter *et al.*, 2021) e, com a recente pandemia do coronavírus – 2019 (COVID-19) durante 2020-2021, as medidas de isolamento e restrição dificultaram o acesso a serviços de saúde para pessoas com demência, resultando em um impacto direto sobre o diagnóstico, prognóstico e qualidade de vida dessas pessoas (Alzheimer's Association, 2022).

A neuropatologia da DA, como citado anteriormente, é caracterizada pelo acúmulo anormal da proteína β - amiloide ($A\beta$) formando placas senis e emaranhados neurofibrilares contendo a proteína tau hiperfosforilada (Karantzoulis; Galvin, 2011) que são complementares a alterações morfológicas como perda sináptica e neuronal, reatividade astrocitária, atrofia encefálica, entre outros (Ayodele *et al.*, 2021).

O peptídeo $A\beta$ é derivado de uma proteína transmembrana precursora amilóide (APP) (Knopman *et al.*, 2021). Embora sua função não esteja totalmente esclarecida, acredita-se que a APP seja importante para modulação das atividades neuronais de crescimento celular e função sináptica (Tiwari *et al.*, 2019).

Quando clivada pelas secretases β (BACE-1) e sequencialmente pela secretase γ , a APP produz fibrilas insolúveis de beta amilóide ($A\beta$). Existem duas principais formas do $A\beta$ que são neurotóxicos: monômeros $A\beta_{40}$ e $A\beta_{42}$, sendo o $A\beta_{42}$ altamente insolúvel, mais neurotóxico e mais propenso a agregação (Tiwari *et al.*, 2019). Ao polimerizarem e agregarem-se pelo processo de nucleação, os monômeros podem formar produtos intermediários solúveis tóxicos como os oligômeros ($oA\beta$) que se difundem para dentro dos terminais sinápticos, comprometendo sua função (Knopman *et al.*, 2021) além de poderem propagar-se para outras regiões (Sardar Sinha *et al.*, 2018).

Os $oA\beta$ podem polimerizar em fibrilas insolúveis que ao precipitarem e acumularem, formam placas também insolúveis que interferem na homeostase celular podendo interagir com receptores sinápticos, alterar o metabolismo energético e ativarem proteínas cinases que desencadeiam a hiperfosforilação da proteína tau (Tiwari *et al.*, 2019). Ao longo da formação das fibrilas, produtos intermediários com diferentes propriedades e níveis de toxicidade são produzidos; não estando totalmente claros quais os produtos realmente são os desencadeantes da DA (Brown *et al.*, 2020; Sardar Sinha *et al.*, 2018; Verma; Vats; Taneja, 2015;).

A proteína tau faz parte da família de proteínas associadas aos microtúbulos celulares e sua principal função é estabilização dos microtúbulos axonais. Ela geralmente ocorre em seis isoformas que podem ser associadas a 3 ou 4 domínios de microtúbulos (3R ou 4R), ambos presentes na DA (Knopman *et al.*, 2021). Ela pode ser fosforilada em três posições diferentes: tirosina, serina e resíduo de prolina, ocorrendo principalmente em T231, S235 e S265 (Srivastava; Ahmad; Khare, 2021). Os agregados da proteína tau formam filamentos pareados e torcidos conhecidos como emaranhados neurofibrilares (Prem Kumar *et al.*, 2021) que quando acumulados

e hiperfosforilados podem se depositar nos corpos celulares e dendritos ou serem liberados no espaço extracelular pela atividade sináptica e captada por neurônios e células da glia (Knopman *et al.*, 2021).

As placas amiloides e os emaranhados neurofibrilares da proteína tau acumulam-se progressivamente em diferentes regiões encefálicas (Karantzoulis; Galvin, 2011). Na maioria dos casos, os emaranhados neurofibrilares envolvem inicialmente estruturas do lobo temporal medial, como por exemplo, hipocampo e córtex entorrinal (Prem Kumar *et al.*, 2021), e, em seguida, áreas associativas do lobo parietal e frontal, enquanto a deposição de A β começa nas áreas de associação dos lobos parietal, temporal e frontal (Karantzoulis; Galvin, 2011; Tiwari *et al.*, 2019). A degeneração nas estruturas do prosencéfalo basal resulta em uma grande redução das projeções colinérgicas corticais, límbicas e hipocampais (Karantzoulis; Galvin, 2011), contribuindo para a severidade da demência (Ju; Tam, 2022).

No SNC, a insulina é importante para a manutenção e regulação da cognição, formação sináptica e plasticidade, sobrevivência celular e neurotransmissão. Disfunções nos seus receptores e sinalização estão relacionadas a fisiopatologia da DA (Bedse *et al.*, 2015; Hammond; Lin, 2022; Grunblatt *et al.*, 2007; Mاتيولي; Nitri, 2015; Sedzikowska; Szablewski, 2021).

O receptor de insulina e do fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-1) são glicoproteínas tetraméricas que pertencem aos receptores do tipo tirosina cinase (Tyr). Uma vez ligado a seus receptores, a insulina/IGF-1 promovem a autofosforilação de seus resíduos de tirosina, aumentando a atividade intrínseca da tirosina e fosforilando o substrato de receptor de insulina (SRI) no resíduo de tirosina. Os SRI são os primeiros mediadores dos processos de mitose dependente de insulina, assim como, da regulação do metabolismo da glicose. A sua fosforilação no resíduo tirosina lidera a ativação da proteína cinase B (Akt), mTor e da glicogênio sintase cinase 3 (GSK3). A fosforilação do SRI em determinados resíduos de serina, entretanto, inibe a atividade dos receptores de insulina, promovendo resistência à insulina e favorecendo ao desenvolvimento dos mecanismos da DA, uma vez que, a sinalização da insulina /IGF modula negativamente a deposição intracelular do A β e a fosforilação da proteína tau (Bagaméry *et al.*, 2020; Bedse *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2020; Sedzikowska; Szablewski, 2021).

O hipometabolismo da glicose é outro evento que tem um importante papel no desenvolvimento da doença. Diminuição na captação de glicose em áreas encefálicas

podem não suprir as atividades neuronais e, portanto, contribuir para redução da cognição (Hammond; Lin,2022). A diminuição do consumo de glicose pelo encéfalo pode ser considerado um sinal de início da doença (Grieb *et al.*, 2016) e seu metabolismo correlacionado com o grau de prejuízo cognitivo, sendo o nível do radiotraçador análogo da glicose 2-[18F] fluoro-2-deoxi-d-glicose ([18F] FDG) uma medida usada para o diagnóstico da doença. (Minoshima *et al.*, 2021).

1.2 ASTRÓCITOS E DOENÇA DE ALZHEIMER

Os astrócitos são células que participam de várias funções fisiológicas do SNC. Eles fornecem suporte metabólico para os neurônios e outros tipos celulares enquanto os protegem através da liberação de fatores de crescimento e outros mensageiros químicos essenciais e, da remoção do excesso de K⁺ e glutamato (Price; Johnson; Norris,2021). A remoção do glutamato, através do ciclo glutamato-glutamina converte glutamato em glutamina através da enzima glutamina sintetase (GS) (Robinson, 2000) e transporta glutamina ao neurônio para futura conversão em glutamato e ácido gama-aminobutírico (GABA) (Kulijewicz-Nawrot *et al.*, 2013). A desregulação desse ciclo e da atividade da GS tem sido associada a perda neuronal e alterações na plasticidade sináptica associada a processos cognitivos na doença de Alzheimer (Mulica; Grunewald; Pereira,2021). A GS é considerada um marcador específico astrocitário (Anlauf; Derouiche, 2013).

Além disso, os astrócitos proveem um importante sistema antioxidante e neuroprotetor através do equilíbrio entre as formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) da glutathione, a qual funciona de modo enzimático e não enzimático na conversão de peróxido de hidrogênio em água. Níveis reduzidos da GSH deixam os neurônios mais expostos a excitotoxicidade do glutamato sendo predispostos a neurodegeneração na DA (Gonçalves *et al.*, 2019) e sugere falha da defesa antioxidante astrogliar (Rodrigues *et al.*, 2010).

Durante a agressão ao SNC, os astrócitos também produzem citocinas inflamatórias como IL-1 β e TNF- α que podem ter consequências benéficas ou deletérias. Eles têm a capacidade de interagir com a microglia, exercendo um controle sobre sua ativação, capacidade fagocitária e capacidade de secretar mediadores inflamatórios (Fakhoury,2018).

No estado reativo, os astrócitos apresentam hipertrofia, proliferação celular e mudança nos filamentos intermediários do citoesqueleto associado ao aumento na expressão de proteína glial fibrilar ácida (GFAP), vimentina e nestina. A mudança para estado reativo pode diretamente impactar a atividade neuronal e transmissão sináptica contribuindo para problemas cognitivos na DA (Smit; Borchelt; Hol, 2021). Astrócitos hipertróficos são encontrados em proximidade a placas senis. No estágio avançado de formação da placa A β , a expressão astrocítica da aquaporina 4 está alterada e sua regulação suprimida (Lan *et al.*, 2016), interferindo na permeabilidade da barreira hematoencefálica e no sistema glinfático, importante para *clearance* do A β (Price; Johnson; Norris, 2021). A reatividade dos astrócitos pode ser considerado um sinal precoce da DA (Carter *et al.*, 2012; De Strooper; Karran, 2016).

Além da GFAP e GS, eles expressam outra proteína específica, a proteína B da família S100 ligante de cálcio (S100B). A S100B modula a plasticidade sináptica neuronal e sua liberação é afetada por citocinas e neurotransmissores como glutamato e dopamina (Vizuete *et al.*, 2019). Envolvida no crescimento e diferenciação celular; apresenta papel neurotrófico. A S100B extracelular estimula a proliferação de astrócitos e aumenta a sobrevivência de neurônios. Em cultura, níveis micromolares da S100B podem induzir apoptose em astrócitos e neurônios e altos níveis extracelulares de S100B podem estar envolvidos na patogênese da doença de Alzheimer (Gonçalves *et al.*, 2002). Juntas, a proteína glial fibrilar ácida (GFAP) (Guo *et al.*, 2022) e a proteína B da família S100 ligante ao cálcio (S100B) são marcadores astrocíticos de atividade e lesão cerebral em várias doenças neuropsiquiátricas (Gonçalves *et al.*, 2008).

Mesmo depois de um século da descrição da DA, pouco se sabe sobre as causas e a base dos mecanismos multifatoriais da progressão da doença (Ferrari; Sorbi, 2021). Apesar do predomínio da hipótese amilóide e o papel do A β e da proteína tau, outros eventos tem desencadeado um papel importante na progressão da doença como estresse oxidativo, a disfunção colinérgica e os mecanismos neuronais e gliais de neuroinflamação (Ju; Tam, 2022).

Uma prova disto é a inexistência de um tratamento eficaz e seguro para a doença (Tatulian, 2022), que muitas vezes se centra apenas na sintomatologia e não impede a progressão dela (Alzheimer's Association, 2022) demonstrando, portanto, a necessidade de mais estudos pré-clínicos sobre a doença (Tatulian, 2022).

Faz-se necessário o melhor entendimento sobre o início e a natureza dos primeiros déficits cognitivos, sua progressão e aprimorar as informações disponíveis acerca da fisiopatologia da doença, sua heterogeneidade, biomarcadores e tratamentos para o futuro (Bondi; Edmonds; Samon, 2017) a fim de se evitar o crescimento global ainda maior da DA (Tatulian, 2022).

1.3 TRATAMENTO

Para o tratamento da DA, duas classes de fármacos são tradicionalmente aprovadas como os inibidores de acetilcolinesterase (AChE) e antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). Ao inibirem a AChE aumenta-se os níveis de acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas. Por outro lado, os antagonistas de NMDA previnem a ativação exacerbada de NMDA, o influxo de Ca^{2+} e a excitotoxicidade glutamatérgica. Entre os inibidores de AChE encontra-se donepezil, rivastigmina, galantamina e memantina como inibidor do NMDA. (Breijyeh; Karaman, 2020; Cummings; Tong; Ballard, 2019; Alzheimer's Association, 2022). Esses fármacos são efetivos apenas no tratamento dos sintomas, mas não na cura ou prevenção da doença (Alzheimer's Association, 2022).

Terapias modificadoras da doença (*Disease-modifying therapy* – DMT) são outras categorias de tratamento para a Doença de Alzheimer e têm atuado principalmente nas fases pré-clínica e prodrômica da doença. Como exemplo, tem-se o tratamento com agentes farmacológicos como os anticorpos monoclonais anti- $A\beta$ (mAbs), por exemplo, Aducanumab, Bapineuzumab, Gantenerumab, Solanezumab e Lecanemab, cuja efetividade clínica é controversa (Shi *et al.*, 2022; Yefroyev; Jin, 2022).

Outro exemplo, são as DMT não farmacológicas que também têm sido utilizadas como proposta terapêutica. Como exemplo, tem-se a terapia celular com células tronco (Cummings; Fox, 2017; Pais *et al.*, 2020). Entre essas células tem-se utilizado, as células tronco embrionárias (ESCs), células estromais mesenquimais (MSCs), células tronco neurais derivadas do cérebro (NSCs) e células tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) (Duncan; Valenzuela, 2017).

Essas células possuem potencial de autorrenovação e diferenciação em outras linhagens celulares e sua terapia é uma modalidade de tratamento que pode atuar

sobre múltiplos mecanismos da doença e conseqüentemente trazer benefícios para os pacientes (Hu; Wang,2021).

Devido a fácil acessibilidade, relativa facilidade de manuseio e ampla variedade de tipos celulares que são capazes de se diferenciar, o número de estudos com as MSCs, (Duncan;Valenzuela, 2017), tem aumentado no mundo científico com efeitos consideráveis sobre a doença (Zhao *et al.*, 2021;Li *et al.*, 2018; Wang;Jia;Wang,2018), em modelos pré-clínicos e em ensaios clínicos da DA (Hu; Wang,2021).

1.3.1 CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS

As células estromais mesenquimais (MSCs) são células-tronco adultas que derivam do folheto embrionário intermediário, o mesoderma, que é responsável pela formação dos tecidos ósseo, cartilaginoso e adiposo. Elas são consideradas uma população heterogênea e não clonal de células-tronco multipotentes, células progenitoras e células diferenciadas (Squillaro *et al.*, 2016; Viswanathan *et al.*, 2019), com propriedades de autorrenovação e diferenciação em tecidos mesenquimais e, provavelmente, não mesenquimais como células endoteliais, cardiomiócitos, hepatócitos e células neurais (Amorim *et al.*, 2012; Nombela-Arrieta; Ritz; Silberstein, 2011;), apresentando características de plasticidade, *turnover* e manutenção de tecidos do organismo (Caplan, 2010).

Uma determinada população de células é classificada como MSCs quando apresenta as seguintes características: são isoladas com base nas suas propriedades de adesão seletiva à superfícies do material onde são cultivadas, expressam determinados antígenos de membrana (CD105, CD73, CD90), não expressam moléculas do complexo de histocompatibilidade classe 2 (MHC-2) e podem ser diferenciadas em tecido ósseo, gorduroso e cartilaginoso após estímulo (Amorim *et al.*, 2012).

As MSCs foram descobertas por Friedenstein *et al.* (1974) na medula óssea como células com morfologia fibroblastoide. Atualmente essas células são isoladas de várias fontes como tecido adiposo, cordão umbilical, tecido placentários, líquido amniótico e polpa dentária (Hu; Wang,2021; (Duncan;Valenzuela, 2017) e podem ser expandidas com sucesso *in vitro* (Huang *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2013).

Devida a sua disponibilidade e significativo potencial terapêutico, o isolamento de MSCs do tecido adiposo oferece vantagens, como sua capacidade regenerativa

intrínseca e propriedades imunomoduladoras. A taxa de células estromais adiposas (ADSC) é 100% e o rendimento do tecido adiposo é de 40 vezes superior ao da medula óssea. Assim, além da fácil obtenção, o tecido adiposo é uma rica fonte de células estromais que podem ser usadas com sucessos em transplante autólogo (Kern *et al.*, 2006; Wartchow *et al.*, 2020). Além disso, o isolamento do tecido adiposo é um método menos invasivo e é melhor opção para clínica (Baer *et al.*, 2014).

Por serem facilmente acessíveis, expansíveis, imunossupressoras e não provocarem respostas imunes imediatas, as MSCs são uma importante fonte celular para terapia celular (Huang *et al.*, 2014). Além disso, elas quase não expressam antígeno leucocitário humano (HLA), dessa forma, imunossupressão no transplante alogênico não se faz necessária e são menos propensas a formação tumoral (Hu; Wang, 2021)

As MSCs possuem uma tendência de migrar para sítios de lesão tecidual, capacidade conhecida como *homing* (Caplan, 2010) onde através de estímulos locais como citocinas inflamatórias e hipóxia, são estimuladas a produzirem muitos fatores de crescimento para regeneração tecidual. Esses fatores de crescimento são mediadores importantes para angiogênese e prevenção da apoptose celular (Wei *et al.*, 2013), promovendo a reparação tecidual por meio de seus efeitos (Yamagishi; Shigematsu, 2022) com a substituição de células que são perdidas em diversas condições patológicas (Shigematsu, 2021; Wei *et al.*, 2013).

A terapia com MSCs parecem ser promissoras para doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (Neves *et al.*, 2021). Suas ações no contexto da terapia para essa doença podem ser resumidas em três principais efeitos: imunomodulação, redução da placa A β pela internalização e degradação de oA β via endossomal-lisossomal e potencial neurotrófico e regenerativo (Elia *et al.*, 2019).

Acredita-se que a sinalização parácrina é o mecanismo primário dos efeitos terapêuticos das MSCs, modelando respostas celulares, sobrevivência, proliferação, migração e expressão gênica (Linero; Chaparro, 2014).

Os efeitos terapêuticos parácrinos das MSCs tem despertado interesse sobre o sobrenadante resultante da cultura dessas células (Kraskiewicz *et al.*, 2020). As substâncias e fatores secretados dentro do sobrenadante das células em cultura é chamado de secretoma (Lou; Chen; Zheng, 2017; Ranganath *et al.*, 2012), as quais tem efeitos proporcionais aos exercidos pelas próprias células (Kraskiewicz *et al.*, 2020; Linero; Chaparro, 2014).

Em sua composição, o secretoma pode conter fatores de crescimento, como, fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), fator de crescimento endotelial (VEGF) (Kraskiewicz *et al.*, 2020), fatores de crescimento neurotróficos como fator neurotrófico derivado de células gliais (GDNF), fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (Staff *et al.*, 2019), citocinas (IL-10, IL-1 β , TNF- α , por exemplo), microRNAs, vesículas extracelulares (EVs) como as microvesículas (Baek *et al.*, 2019) e os exossomos (Scholl *et al.*, 2020) e outras moléculas de sinalização (Lou; Chen; Zheng, 2017; Iwasaki *et al.*, 2019; Ranganath *et al.*, 2012;).

Ao secretarem estas substâncias, as MSCs podem estimular a neurogênese e sinaptogênese, modular a resposta celular, por exemplo, das células da glia, melhorar a neovascularização, reduzir o estresse oxidativo e apoptose e alterar as vias de produção/degradação de A β , consequentemente diminuindo o tamanho das placas senis (Alipour *et al.*, 2019; Hernandez; Garcia, 2021).

Acredita-se que a liberação de vesículas extracelulares (EVs) (Rohden *et al.*, 2020) em comparação com as MSCs, tem efeitos promissores, uma vez que, as EVs tem mais baixa imunogenicidade, ausência de efeito obstrutivo vascular, redução do risco de trombose microvascular secundária e possuem capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Rohden *et al.*, 2020), além de que os exossomos têm efeitos igualmente efetivos e equivalentes as MSCs, além de serem mais fáceis de serem isolados e armazenados (Chen *et al.*, 2021).

1.3.2 EXOSSOMOS

Exossomos (EXOs) são um tipo de vesículas extracelulares de origem endossomal. Sua origem vem da membrana plasmática que ao invaginar para o interior celular, carrega materiais da superfície celular e conteúdo extracelular. Vesículas intracelulares então se fundem com um endossomo precoce que, com o auxílio de complexos de classificação endossomal necessários para o transporte (ESCRT) se movem ao longo de microtúbulos celulares, à medida que várias proteínas são maturadas. A membrana celular, então, invagina novamente formando vesículas intraluminais (ILVs), contidas no interior de corpos multivesiculares (MVBs) que são conduzidos à superfície celular. Com o ação de proteínas SNAREs e Rab, ocorre a fusão dos MVBs com a membrana plasmática levando à liberação das ILVs

que são secretadas, e passam a ser chamadas de exossomos (Colombo;Raposo;Théry, 2014; Liew *et al.*, 2017; Scholl *et al.*, 2020; Tschuschke *et al.*, 2020;).

Isso lhes permite ter uma membrana plasmática semelhante ao de suas células parentais, enriquecida com lipídios como colesterol, esfingomiélin e ceramida. O termo exossomo foi inicialmente usado para vesículas de 40-1000 nm de diâmetro (Raposo; Stoorvogel, 2013), posteriormente, o termo foi adaptado para vesículas de 30 a 150 nm (Scholl *et al.*,2020).

Conforme a sua origem celular, os EXOs podem apresentar características moleculares similares as células parentais e carregam diversos tipos de cargas iônicas, proteínas, lipídios, DNA, RNAs e miRNAs que podem desencadear mudanças fenotípicas e funcionais nas células receptoras (Scholl *et al.*, 2020; Soliman *et al.*, 2021).

Os exossomos são encontrados em fluidos biológicos como sangue, saliva, urina e líquido cerebrospinal (CSF) (Soliman *et al.*,2021). Quando encontram a célula-alvo, eles podem atuar por diferentes mecanismos: internalização que se seguirá com fusão dos endossomos da célula-alvo em transcitose ou maturação em lisossomos que sofrem degradação; fusão das vesículas com as células receptoras e liberação direta do conteúdo no citoplasma, regulando diretamente os mecanismos intracelulares e interação direta entre as proteínas da membrana da vesícula e os receptores celulares, gerando uma resposta secundária (Elia *et al.*, 2019).

Assim, agem como mensageiros (Raposo; Stoorvogel, 2013), podendo modular a transmissão sináptica, por exemplo, (Martins *et al.*, 2019) e afetar a comunicação celular em várias condições fisiológicas e patológicas, inclusive em doenças neurodegenerativas ou na sua propagação (Liu *et al.*, 2019).

Devido seu processo de formação, os exossomos podem apresentar marcadores característicos como HSP, flotilina, anexinas, GTPases, SNAREs, Tsg101 e Alix e níveis elevados de tetraspaninas como CD9, CD63, CD81 e CD82, que modulam a sua sinalização, fusão celular e migração além de facilitar a sua caracterização em relação a outras vesículas extracelulares (Scholl *et al.*, 2020; Moon;Chang, 2022) e o “reconhecimento” pela célula alvo (Bellingham *et al.*, 2012). Eles também são enriquecidos em complexos de histocompatibilidade classe I e II (MHC-I e MHC-II) (Scholl *et al.*, 2020).

Devida as funções terapêuticas das MSCs em patologias do sistema nervoso central, exossomos isolados dessas células também tem demonstrado um papel terapêutico nessas patologias (Chen *et al.*, 2021), usando vias como junções comunicantes, transmissão sináptica, sistema de secreção endossomal/lisossomal para fornecer fatores neuroprotetores, tróficos e moléculas sinalizadoras originadas de MSCs em neurônios lesionados; promover a degradação de A β , regulação da neuroinflamação, inibir microglia e astrócitos reativos, por exemplo (Guo *et al.*, 2020), contribuindo para redução da progressão da doença (Harrel *et al.*, 2021).

1.4 VIA INTRANASAL COMO ALTERNATIVA DE ACESSO AO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A cavidade nasal estende-se das narinas até a nasofaringe e é dividida simetricamente e medialmente pelo septo nasal constituído parcialmente de osso e cartilagem, onde se articula com ossos do crânio como o vômer, ventralmente, o etmóide, caudalmente e os ossos frontais e nasais, dorsalmente. Seu teto ósseo consiste na placa cribriforme (Chamanza; Wright, 2015; Ogle; Weinstock; Friedman, 2012).

Fibras do nervo olfatório saem da cavidade nasal e entram na cavidade do crânio por perfurações na lâmina cribriforme. Em forames entre a lâmina e o osso vizinho, ramos do nervo olfáltmico (porção do nervo trigêmeo) passam da órbita para cavidade do crânio e depois mais abaixo, pela cavidade nasal (Chamanza; Wright, 2015; Ogle, Weinstock; Friedman, 2012).

Histologicamente, a cavidade nasal é constituída por quatro tipos de tecidos epiteliais: escamoso (SE), transição (TE), respiratório (RE) e olfatório (OE), os quais possuem subtipos celulares específicos (Chamanza; Wright, 2015).

A mucosa olfatória é composta por três componentes: epitélio olfatório (OE), a membrana basal e a lâmina própria que é uma camada de tecido conjuntivo localizada abaixo do epitélio (Chen *et al.*, 2014). O epitélio olfatório é um neuroepitélio estratificado que contém células basais horizontais e globosas, células de sustentação (Tanos *et al.*, 2017;) e receptores neuronais maduros e imaturos, cujos neurônios possuem capacidade de regeneração. A lâmina própria, por sua vez, originada da crista neural (ectomesenquimal) contém células serosas e mucosas, fascículos nervosos, células linfóides e capilares sanguíneos e linfáticos, além de células-tronco

mesenquimais, células embainhantes olfativas (OECs) e os ácinos das glândulas de Bowman que contém muco (Borgmann-Winter *et al.*, 2015; Delorme *et al.*, 2010).

No OE, os neurônios sensoriais olfativos (OSNs) são importantes células que compõem esse sistema sensorial, envolvendo a recepção, condução e transdução dos estímulos. Neurônios bipolares estendem dendritos na superfície epitelial, que terminam em um botão dendrítico apical, que estende vários cílios com receptores para moléculas odorantes, enquanto, axônios não mielinizados ascendem e atravessam a placa cribiforme, agrupados em “feixes” ou fascículos (*fila olfactoria*) nervosos que após atravessarem o espaço subaracnóide entram no bulbo olfatório. Essas projeções axonais vão para a camada glomerular do bulbo olfatório (Choi *et al.*, 2018; Helwany; Bordoni,2021), cuja superfície ventral fica no topo do terço posterior da lâmina cribiforme, e a superfície dorsal fica abaixo da superfície inferior dos lobos frontais, especificamente os giros orbital e reto (Helwany; Bordoni,2021).

O bulbo olfatório consiste em vários neurônios e sinapses distribuídas ao longo de cinco camadas celulares. A variedade de neurônios no bulbo olfatório contém células mitrais, células tufoas, células granulares e neurônios periglomerulares. Axônios dos neurônios olfatórios convergem com dendritos das células mitral e tufoas formando glomérulos e a camada glomerular. Glomérulos recebem sinais de interneurônios como as células periglomerulares e granulares (Helwany; Bordoni,2021; Nagayama; Homma; Imamura, 2014).

Células mitral e tufoas projetam para estruturas centrais como núcleo anterior olfatório, tubérculo olfatório, córtex olfatório, amígdala e córtex entorrinal (Mori *et al.*,2015). Desse modo, o bulbo olfatório serve como uma estação de retransmissão de impulsos entre o epitélio olfativo e o encéfalo (Helwany; Bordoni,2021). Além disso, ele tem conexões retrógradas com banda diagonal colinérgica, núcleo serotoninérgico dorsal da rafe, conexões noradrenérgicas via *locus coeruleus* e dopaminérgicas via área tegmental ventral (Mori *et al.*,2015) sugerindo propagação retrógrada de moléculas que podem ser também propagadoras de doenças (Hoglinger *et al.*, 2015; Rey; Wesson; Brundin, 2018)

O OE é um tecido capaz de produzir novos neurônios a partir de suas células tronco e progenitoras basais (Bradley *et al.*, 2013), havendo também a participação de MSCs que podem modular ou mesmo produzir novas células (Duan;Lu, 2015) e de OECs que desempenham um importante papel na regeneração e crescimento celular neuronal (Dhuria;Hanson;Frey, 2010; Li;Field;Raisman,2005).

Originárias da crista neural, as OECs apresentam parte de suas características fenotípicas semelhantes as células de Schwann e astrócitos (Beiersdorfer *et al.*, 2019). Elas circundam os axônios dos neurônios olfatórios ao longo de sua extensão, criando uma camada contínua que juntamente com camadas adicionais de fibroblastos formam um contínuo e fluido canal perineural que pode ser uma via de transporte para células e moléculas (Dhuria;Hanson;Frey, 2010; Li;Field;Raisman,2005). A camada de fibroblastos é contínua com meninges que cobrem o encéfalo, o que significa que esse espaço perineural formado entre a camada envolvente e a camada de fibroblastos é contínuo com o espaço subaracnóideo (Crowe *et al.*, 2018).

A maior e mais vascularizada área da cavidade nasal é a região respiratória. Ela contém quatro tipos principais de células: basal, globosas e colunares ciliadas e não ciliadas. Células globosas produzem muco onde substâncias podem ser absorvidas. Microvilosidades das células basais aumentam a área de superfície que juntamente com o alto grau de vascularização faz com que essa região seja um alvo de absorção de substâncias mais via sistêmica do que diretamente para o SNC (Crowe *et al.*, 2018).

A região respiratória é inervada pelo ramo maxilar do nervo trigêmeo que se origina do tronco encefálico, na ponte, (Crowe *et al.*, 2018) e que sai do SNC através do forame redondo (Shafique; Das,2021), criando pontos de entrada caudal e rostral para substâncias no SNC (Dhuria; Hanson; Frey, 2010).

Fibras do nervo trigêmeo formam o gânglio trigeminal, fora do tronco encefálico e abaixo da dura-máter (Dando *et al.*, 2014) e, portanto, são também um possível meio de transporte de substâncias ao sistema nervoso central, além do nervo olfatório (Crowe *et al.*, 2018). Ramos olfáltmico e maxilar do nervo trigêmeo passam diretamente pela mucosa nasal. Além disso, algum segmento do nervo também termina nos bulbos olfatórios (Selvaraj; Growthamarajan; Karri, 2018).

O transporte de substâncias exógenas diretamente da cavidade nasal ao encéfalo tem sido utilizado como uma potente via para contornar a BHE. A administração intranasal de fármacos para o tratamento de patologias, por exemplo, é uma via não invasiva que tem o potencial de prevenir a degradação periférica, eliminar os efeitos não desejáveis associados a administração oral e permitir a entrega direcionada ao local de ação, o encéfalo (Dimiou *et al.*, 2022; Pires *et al.*, 2022).

O método de uso da via intranasal foi desenvolvido pela primeira vez por Frey em 1989 para direcionar fatores neurotróficos para o SNC (Hanson; Frey, 2008); desde então é crescente seu uso (Mato, 2019), como por exemplo, para administração de fármacos (Alam *et al.*, 2013; Cárdenas *et al.*, 2022; Dimiou *et al.*, 2022); células-tronco (Wei *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2021), exossomos (; Guo *et al.*, 2019; Perets *et al.*, 2018) e hormônios (Hallschmid, 2021; Wingrove *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021) para tratamento de patologias do sistema nervoso central.

Por outro lado, esta via também tem sido utilizada para criação de modelos experimentais de estudos de doenças do sistema nervoso central como doença de Parkinson (Prediger *et al.*, 2006; Rojo *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2018;) e *status epilepticus* (Sabilallah *et al.*, 2016), demonstrando, portanto, que a via de administração nasal pode ter efeitos benéficos ou deletérios ao sistema nervoso central.

Para que uma substância possa ser transportada da cavidade nasal para o SNC, ela precisa percorrer via circulação sistêmica e então atravessar a Barreira Hematoencefálica (BHE) ou ser captada via cavidade nasal e distribuída diretamente para o SNC por mecanismo intracelular ou extracelular, de modo perineural ou transcelular ao longo do trajeto dos nervos trigêmeo e olfatório, por meio de canais perivasculares ou, via sistema linfático (Yokel, 2021; Dhuria; Hanson; Frey, 2010); Dentre essas vias e mecanismos, acredita-se que os principais pareçam ser a difusão extracelular e o transporte nos espaços perineural e perivascular (Keller; Merkel; Popp, 2021), sendo a que ocorre ao longo do trajeto do nervo olfatório, a mais importante, devido o contato direto dos dendritos do neurônio receptor olfatório (ORN) com o meio externo (Nguyen; Maeng, 2022).

Seguindo o trajeto do nervo olfatório os mecanismos de transporte intracelular envolvem a captação de moléculas pelos ORNs por difusão passiva, endocitose mediada por receptor ou endocitose adsortiva, seguida de transporte axonal em direção ao terminal axonal do neurônio e bulbo olfatório dentro do encéfalo (Dhuria; Hanson; Frey, 2010). Uma vez que o conteúdo chega ao terminal do nervo ele é excitado e liberado nas células pós-sinápticas do bulbo olfatório, na camada glomerular, onde das células mitrais e tufoosas, vai para as regiões de suas projeções axonais. Esse tipo de transporte pode levar várias horas a dias para chegada no bulbo olfatório e outras áreas do cérebro, porém comparando-se ao comprimento maior do nervo trigêmeo (~20 mm) *versus* do nervo olfatório (~4 mm), seu tempo de transporte

é menor (Crowe *et al.*, 2018). Ele ocorre preferencialmente para moléculas pequenas, lipofílicas e substâncias com receptores em ORNs (Dhuria; Hanson; Frey, 2010).

A via extracelular começa com a substância cruzando o epitélio nasal até a lâmina própria seja por captação transcelular pelas células de suporte ou por difusão paracelular através de espaços intercelulares no epitélio nasal. Da lâmina própria, ela viaja ao longo de diferentes caminhos: pode ser absorvida pelos vasos sanguíneos locais e entrar na circulação sistêmica; ser absorvida pela submucosa para o sistema linfático ou percorrer o espaço perineural até o espaço subaracnóide e atingir o parênquima cerebral (Dhuria; Hanson; Frey, 2010; Keller; Merkel; Popp, 2021).

A continuidade da camada de fibroblasto do nervo olfatório (ONF) com as meninges que envolvem o encéfalo, faz com que este espaço perineural formado entre a camada de OECs e ONF se comunique diretamente com o espaço subaracnóide. O líquido do espaço subaracnóide é contínuo com o fluido extracelular da lâmina própria na região ao redor dos axônios dos ORNs. Isto cria uma via através da qual substâncias podem mover de um compartimento para o outro (Crowe *et al.*, 2018). Esta via é a mesma tanto no nervo trigêmeo como no nervo olfatório e a translocação de moléculas através do espaço perineural é mais rápida (minutos) do que o transporte intracelular axonal (Nguyen; Maeng, 2022).

Da lâmina própria as moléculas podem também ser absorvidas na submucosa para o sistema linfático, podendo ser drenadas para linfonodos cervicais profundos do pescoço (Keller; Merkel; Popp, 2021).

Outro modo de acesso é via circulação sanguínea. Ela é uma via indireta onde a substância passa para os pulmões e para circulação sanguínea antes de ir para o SNC (Costa *et al.*, 2021). Ramos das artérias maxilar, oftálmica e facial que suprem o epitélio respiratório se originam da artéria carótida e podem ser uma via de acesso (Dhuria; Hanson; Frey, 2010; Selvaraj; Growthamarajan; Karri, 2018).

1.5 MODELOS ANIMAIS PARA DA

Embora estudos em pacientes com DA sejam a melhor abordagem experimental possível, enfrentamos muitos desafios devido à natureza intrigante da doença, como por exemplo, o longo processo de doença em humanos, período assintomático variável, variação interindividual e falta de uma técnica diagnóstica confirmatória não invasiva. Estudos pré-clínicos têm procurado estudar a doença de

Alzheimer através de um modelo que, mesmo não reproduzindo integralmente a doença humana, apresente lesões histopatológicas características e de memória associadas a déficit nos mecanismos de plasticidade sináptica.

Modelos murinos, sejam espontâneos (envelhecimento) ou induzidos (resultado de manipulação artificial, como através de procedimentos cirúrgicos, administração de algum medicamento ou aplicação de alguns estímulos ambientais e manipulações genéticas - transgenia) têm sido usados nos últimos 25 anos para estudar os mecanismos patogénéticos, a progressão da doença e a eficácia de novos medicamentos (Javonillo *et al.*, 2022; Mckean *et al.*, 2021; Puzzo *et al.*, 2015).

Animais com mutações no gene que codifica a proteína precursora amiloide (APP), APP/PS1 ou APP/tau têm sido desenvolvidos para mimetizar a doença do tipo familiar ou genética (Puzzo *et al.*, 2015). Camundongos 3xTg-AD, com três mutações na APP (KM670/671NL), PSEN1 M146V e MAPT (tau) P301L (Javonillo *et al.*, 2022), camundongos 5XFAD que superexpressam APP com três mutações FAD (K670N, N671L; I716V e V717I) e PSEN1 com duas mutações (M146L e L286V) (Oblak *et al.*, 2021) também são utilizados.

Apesar dos fenótipos clínicos apresentados por esses modelos e da similaridade destes com os apresentados pela DA do tipo esporádica (Chen *et al.*, 2013), eles representam menos de 2% dos casos. Desse modo, modelos genéticos têm sido inadequados para o estudo da etiologia e patogenia da DA esporádica, que representa a maioria dos casos da doença (Lecanu; Papadopoulos, 2013).

Assim, tem sido utilizados modelos induzidos, como por exemplo, a oclusão das carótidas comuns, gerando hipoperfusão cerebral e danos hipocámpais (Park *et al.*, 2019), lesão por ácido ibotênico do núcleo basal magnocelular, comprometendo as projeções colinérgicas (Swarowsky *et al.*, 2008), a infusão de A β intracerebroventricular (ICV) (Kim *et al.*, 2016), ou de ácido ocaídico (Broetto *et al.*, 2016) ou bilateralmente de estreptozotocina (Biasibetti *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2009)

A estreptozotocina (STZ, 2-desoxi-2-(3-(metil-3-nitrosureido)-D-glicopiranosil) induzindo DA é um modelo bem estabelecido na literatura (Rodrigues *et al.*, 2019). É uma glicosamina-nitrosureia que foi inicialmente isolada da bactéria *Streptomyces achromogene*, sendo um antibiótico e agente oncolítico e oncogénico (Capdevila *et al.*, 2022; Rossini *et al.*, 1977). O grupo glucopiranosil de sua composição possui afinidade com o tecido pancreático (Capdevila *et al.*, 2022). Como análogo da

molécula de glicose, ela é internalizada através do transportador de glicose 2 (GLUT 2) nas células beta pancreáticas, inibe a oxidação da glicose e síntese e secreção de insulina via reações que estimulam a produção de óxido nítrico, alcalinização e fragmentação do DNA e subsequente ativação da poli-ADP ribose polimerase causando uma redução nos níveis de NAD⁺ celular e consequente redução dos níveis de ATP e a morte celular (Kahraman *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2019; Konrad *et al.*, 2001; Szudelski, 2001).

Ao ser administrada experimentalmente via intraperitoneal (IP) (40-75 mg/kg, por exemplo) produz uma ação dose-dependente que mimetiza características periféricas e centrais da diabetes *mellitus* como hiperglicemia e déficits cognitivos (Gusmulu *et al.*, 2016; Wartchow *et al.*, 2020; Zanotto *et al.*, 2019).

Acredita-se que quando administrada via intracerebroventricular (ICV), a STZ atue dessensibilizando os receptores de insulina (IRs) e do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1), causando resistência à insulina, por meio da fosforilação dos substratos dos IRs através de proteínas cinases C e interferindo na sinalização da insulina e alterando o metabolismo cerebral da glicose. Isso é acompanhado por alterações bioquímicas e neuropatológicas semelhantes às encontradas na doença de Alzheimer do tipo esporádica como disfunção sináptica (Shonesy *et al.*, 2012), hiperfosforilação da tau (Gonçalves *et al.*, 2019), estresse oxidativo (Lu *et al.*, 2017), acúmulo de A β (Nikmahzar *et al.*, 2019) e neurodegeneração (Fronza *et al.*, 2021).

É importante lembrar que a STZ quando administrada ICV não causa uma condição sistêmica diabetogênica, uma vez que ela é incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica (Park *et al.*, 2020). Além disso, acredita-se que no sistema nervoso central ela seja internalizada por transportadores de glicose tipo 2 (GLUT-2), assim como periféricamente, os quais são amplamente encontrados nos ventrículos laterais e órgão circunventriculares e onde os efeitos tóxicos da STZ se propagam para diferentes regiões encefálicas (Grieb *et al.*, 2016). O GLUT-2 também é densamente encontrado em regiões límbicas e seus núcleos, como o hipocampo (Aluirson *et al.*, 2004; Grunblatt *et al.*, 2007).

A STZ pode ser administrada via ICV em doses, por exemplo, de 1 mg/Kg (Mishra *et al.*, 2018); 1,5 mg/Kg (Knezovic *et al.*, 2017) ou 3 mg/Kg (Biasibetti *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2010; Tramontina *et al.*, 2011), sendo, entretanto, a dose de 3 mg/Kg a mais apropriada para produzir efeitos fisiopatológicos rápidos e de prejuízo

de memória como modelo esporádico da DA (Mehla *et al.*, 2013; de la Monte *et al.*, 2006).

Na dose de 3mg/kg, estudos tem observado, por exemplo, alterações neuroquímicas como diminuição da captação de glicose (Biasibetti *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017), aumento da fosforilação de IRS (Ser 307) (Santos *et al.*, 2017), alteração do sistema colinérgico (redução do conteúdo da ChAT e aumento da atividade de AchE) (Biasibetti *et al.*, 2013; Biasibetti *et al.*, 2017), perda neuronal hipocampal (Rodrigues *et al.*, 2009), ativação microglial (aumento do conteúdo hipocampal de IBA1) (Dos Santos *et al.*, 2019) e astrocitária (redução/aumento da secreção/conteúdo de S100B no líquido e hipocampo, respectivamente; redução do conteúdo ou atividade de GSH e GS; aumento de GFAP hipocampal) (Dos Santos *et al.*, 2017; Biasibetti *et al.*, 2016; Rodrigues *et al.*, 2010; Tramontina *et al.*, 2011).

2 JUSTIFICATIVA

A busca por novas metodologias de estudo da fisiopatologia da DA pode ser promissora, assim como, a busca de novas abordagens terapêuticas que compreendam toda a fisiopatologia da doença, pois um tratamento efetivo ainda necessita ser desenvolvido.

Nesse sentido, estudos clínicos e experimentais têm sido realizados sobre os efeitos das células-tronco mesenquimais sobre o Alzheimer. Nestes modelos, diferentes são os tecidos de origem das células mesenquimais transplantadas: medula óssea, tecido adiposo, placenta e cordão umbilical (Park *et al.* 2017).

Atualmente, o conteúdo produzido por células tronco mesenquimais presente no sobrenadante e exossomos têm sido promissores em estudos de patologias neurológicas, regulando os mecanismos celulares, assim como, promovendo redução na progressão de doenças que afetam o sistema nervoso central (Raposo; Stoorvogel, 2013).

Associado a isso, a administração intranasal tem sido um método de uso de transporte de substâncias, células e exossomos para o sistema nervoso central com objetivo terapêutico. Por outro lado, a mesma via permite a propagação de agentes neurotóxicos. Adicionalmente, por ser um método rápido, não invasivo e de baixa mortalidade animal, a via intranasal tem sido utilizada também para o desenvolvimento de modelos experimentais de estudos de doenças neurodegenerativas.

Para nosso conhecimento, poucos são os estudos que avaliam os efeitos do sobrenadante ou de exossomos de células tronco mesenquimais em modelo experimental de Alzheimer do tipo esporádico (estreptozotocina) e sua administração via intranasal, assim como, não existe na literatura trabalhos que utilizaram esta via para administração de estreptozotocina e indução de um modelo experimental da Doença de Alzheimer do tipo esporádica.

Desse modo, este estudo pretendeu investigar os efeitos da administração intranasal do sobrenadante e exossomos de células estromais mesenquimais estromais no modelo de Alzheimer do tipo esporádico e explorar a possibilidade do uso dessa via de administração para desenvolvimento de um modelo experimental de doença dessa Alzheimer do tipo esporádica com estreptozotocina, abrindo portas para estudos futuros que possam reproduzir este modelo e compreender melhor a doença.

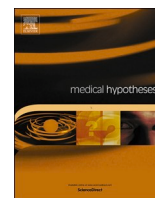
5 CAPÍTULO 2

Hypothesizing that the intranasal administration of streptozotocin would be a valid model of Alzheimer´s disease-like dementia.

Charlanne de Oliveira Marques, Patrícia Sesterheim, Vitor Gayer Dias, Vanessa Fernanda da Silva, Letícia Rodrigues, Carlos-Alberto Gonçalves.

Postgraduate Programs in Biochemistry and Neurosciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, 90035-003, Porto Alegre, Brazil.

Artigo publicado no periódico *Medical Hypotheses*, Volume 166, 2022, 110904, ISSN 0306-9877, <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2022.110904>.



Hypothesizing that the intranasal administration of streptozotocin would be a valid model of Alzheimer's disease-like dementia

Charlanne de Oliveira Marques, Patricia Sesterheim, Vitor Gayger Dias, Vanessa Fernanda da Silva, Letícia Rodrigues, Carlos-Alberto Gonçalves*

Postgraduate Programs in Biochemistry and Neurosciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, 90035-003 Porto Alegre, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Alzheimer's disease
Animal model
Intranasal administration
Nose-brain barrier
Streptozotocin

ABSTRACT

Streptozotocin (STZ) is a glucose analogue containing an N-methyl-N-nitrosourea group that is used to induce experimental diabetes mellitus in rodents and clinically as a chemotherapeutic for neuroendocrine tumors. As it does not cross the blood brain barrier, STZ is also administered intracerebroventricularly to induce a widely-used Alzheimer's disease (AD)-like pre-clinical model of dementia. In this work, we aim to briefly discuss some structural and functional aspects of the intranasal barrier, raising the hypothesis that STZ could be used to induce a dementia model via its nasal instillation. We approached intranasal administration as a possible route to reach the hippocampus, independently of the presence of the GLUT-2 glucose transporter in olfactory cells, which is capable of transporting STZ. We then discuss the neurotoxicity of STZ to neural cells and finally propose how this hypothesis could be confirmed experimentally. This alternative AD-like model of dementia would be very attractive for preclinical studies, as it is less invasive, simpler (since it does not require a surgical procedure), cheaper and less stressful for animals.

Introduction

When we talk about the selective barrier that protects the central nervous system (CNS), we are usually referring to the blood–brain barrier (BBB), but neglecting other important barriers such as the blood–cerebrospinal fluid barrier (BCSFB) and the naso–brain barrier (NBB) or intranasal barrier or simply nasal barrier. Recently, the NBB has been highlighted by newspapers and magazines, in view of the Sars-CoV-2 pandemic that we are experiencing, due to the possibility of neuroinfection through this barrier. However, this barrier was already gaining prominence as a route of entry for drugs, as well as a route of entry for neurotoxins [1–3].

The NBB refers to a set of cells of neural origin, basically olfactory sensitive neurons (OSNs) and supporting cells (SCs) that, like the respiratory epithelium, line part of the nasal cavities. This neural surface can allow access of many substances to the CNS, including proteins (e.g. insulin), toxic metals, viruses (e.g. Influenza and Sars-CoV-2) and microorganism products (e.g. lipopolysaccharide from gram-negative bacteria and brevetoxins from marine dinoflagellate) [4,5]. This access involves transport through these neural cells (transcytosis or

transcellular transport, mediated by protein carriers in the membrane) or between them (paracellular transport). Transcellular transport via OSNs is commonly called “intracellular” transport, although in this case CNS targets (neurons and astrocytes of the olfactory bulb) are reached by transcytosis.

The dysfunction of the olfactory system is strongly linked to neurodegenerative diseases (NDD), such as Parkinson's disease (PD) and Alzheimer's disease (AD). This is due to the connectivity of the olfactory bulb to cortical and subcortical regions of the brain. Based on olfactory dysfunction, which precedes or accompanies NDD, neurotoxins, such as MPTP and other toxic compounds, are administered via this route to dopaminergic neurons to induce the PD model [6]. Recently, it has been suggested that β -N-methylamino-alanine, a product of a cyanobacterium ubiquitously distributed in water and naturally found in aerosols, could be a toxin that may contribute to NDD, such as PD and amyotrophic lateral sclerosis [7]. Reports indicate that bacterial toxins from the nasopharyngeal microbiota can also reach the CNS and contribute to multiple sclerosis pathogenesis [8].

We postulate that streptozotocin (STZ or 2-deoxy-2-[3-methyl-3-nitrosourea]-D-glucose), produced by a soil bacterium (*Streptomyces*

* Corresponding author at: Department of Biochemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, Lab 33, Zip Code 90035-003, Porto Alegre, Brazil.

E-mail address: casg@ufrgs.br (C.-A. Gonçalves).

<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2022.110904>

Received 11 March 2022; Received in revised form 13 May 2022; Accepted 23 May 2022

Available online 1 July 2022

0306-9877/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

achromogenes), could also be capable of causing damage to the CNS through the NBB. STZ has been used as a chemotherapeutic for neuroendocrine tumors, as well as for inducing diabetes mellitus by intraperitoneal administration and for the sporadic model of AD by intracerebroventricular (ICV) administration [9,10]. However, it is used at high concentrations for these purposes and potentially would not be able to cause metabolic damage similar to that of an environmental toxin (e.g. β -N-methylamino-alanine) [7,9].

Herein, we briefly discuss some structural and functional aspects of the NBB, raising the hypothesis that STZ could be used experimentally to induce a dementia model by nasal instillation of this toxin. Entry of STZ into cells depends on a specific glucose transporter, GLUT-2. STZ does not cross the BBB (which does not contain GLUT-2) and therefore needs to be intracerebroventricularly injected to cause dementia. The possibility of STZ injury to the CNS through the NBB (which also does not contain GLUT-2), via the paracellular route (see Fig. 1), would allow us to better understand the neurotoxicity of STZ, as well as the consequences on the affected neural pathways. This alternative would have some advantages over the intracerebroventricular pathway that is used to induce the dementia model.

NBB structure and flux to the CNS

NBB cells occupy only 10% of the surface of the nasal fossae in humans, but about 50% in rodents [1,11]. The lamina propria (of mesenchymal origin) lies under the ethmoid bone, more specifically under the horizontal cribriform lamina of this bone, and below it is the olfactory epithelium (derived mainly from the neural crest). The lamina propria contains, in addition to blood vessels and lymphatic vessels, the mesenchymal stem cells formed in the neural crests (EMSC, ectomesenchymal stem cells) [12], which will generate the olfactory ensheathing cells (OECs) that will envelop the OSNs axons from the olfactory epithelium (see Fig. 1). The OECs and axons form bundles, which in turn are surrounded by olfactory fibroblasts, also originating from EMSC.

The olfactory epithelium, formed by OSNs and SCs, is located just below the basal layer of the lamina propria [13]. Next to the basal lamina of this layer, are located the stem cells (from the neural crest) that will form basal cells (classified into horizontal and globose basal cells), the OSNs and the SCs. The globose basal cells, like the EMSC, generate part of the OECs. It is worth mentioning that OECs express glial fibrillary acidic protein (GFAP) and S100 calcium-binding protein B (S100B), typical astrocyte markers.

OSN dendrites containing olfactory receptors spread over the ciliated surface of SCs. Cilia and dendrites are embedded in a layer of mucus produced by Bowman's glands located in the lamina propria and released into tubular channels that traverse the olfactory epithelium. The transcellular flux of substances depends on the lipid solubility and/or the presence of protein carriers in the membrane. Based on these carriers, the idea of Trojan horses, that carry drugs to cross the BBB and the NBB, has been formulated [14].

SCs have tight junctions (TJs) to prevent the free paracellular flow of molecules (including water) and ions, which occurs more easily in the space between SCs and OSNs [15]. In fact, the dense distribution of TJs defines the impermeability of the epithelial and endothelial layers [16]. If we look carefully at the BBB, it is the TJs in the endothelial layer that make this barrier impermeable, leaving the selectivity of the barrier to the responsibility of general carriers and specific transporters in the endothelial membrane. TJs, also called occluding junctions, are complex macromolecular structures involving transmembrane and cytoplasmic proteins. The three major transmembrane proteins are claudins, occludin and junction adhesion molecules, which bind to cytoplasmic proteins called ZO (from zona occludens), which in turn anchor proteins to the actin cytoskeleton. Thus, TJs join the cytoskeletons of neighboring cells. Of course, TJs have variable composition and are physiologically adjustable, increasing or decreasing paracellular flow under certain

conditions [17].

In the case of the BBB, astrocytes, which surround it for about 90% of its extension, do not have such a high density of interglial TJs, but they are important elements in the regulation of endothelial permeability and selectivity [18]. Unlike in BCSFB, capillaries are fenestrated, but the epithelium of choroid plexuses, as well as ependymal cells and tanicytes lining the ventricles, have a high density of TJs [19]. With regard to the composition of TJs, in relation to claudins, claudin-5 is generally regarded as a marker for BBB, while claudin-2 is a marker for BCSFB [20]. In contrast, olfactory epithelium TJs express all claudins, except claudin-2 [15].

A lower density of TJs between SCs and OSNs allows a corridor for paracellular flow, which also exists between OECs and OSNs axons. See Fig. 1. Furthermore, the TJs are less abundant among the OEC and among the fibroblasts that surround them, forming the olfactory fila. Therefore, there is a possibility of flow from these corridors to the subarachnoid space, where the CSF is, allowing access to remote areas of the CNS. It is important to mention that substances captured by the SCs and OSNs by transcytosis, may also end up in the CSF. However, only those captured by OSNs can reach the neurons of the olfactory bulb by transcytosis.

The peripheral layer of the olfactory bulb has capillaries and demonstrates similarities to the basic structure of the BBB, i.e. non-fenestrated endothelium surrounded by glial cells [21]. The capillaries of the outermost layer are surrounded by endfeet from OECs, which do not express aquaporin-4, while the innermost ones are surrounded by endfeet from astrocytes positive for aquaporin-4. However, in both cases, TJs prevent paracellular flow. Another important aspect of the NBB transport, in addition to the possibility of reaching the CNS, is the speed with which this happens [1]. The functional channels/corridors for paracellular transport of molecules in the olfactory bundle allow and justify rapid transport to the CSF (in the order of minutes), compared to intracellular nervous transport (in the order of hours).

Olfactory bulb neurons can reach remote regions, including the limbic system [22,23]. This means that an olfactory dysfunction leads to a reduction of inputs over several brain regions. One of the destinations of the olfactory projections is the entorhinal cortex, which in turn connects to the hippocampal dentate gyrus, where neurogenesis occurs. This highlights the complexity of the relationship between olfaction and depressive behavior and cognition.

STZ neurotoxicity

STZ is a glucose analogue, but structural differences prevent it from being metabolized like glucose and, in addition, induce cytotoxic changes. As glucose transporters have different affinities for glucose, only GLUT-2 can transport STZ. In fact, cell death triggered by STZ depends on the presence of this transporter [24]. GLUT-2 is present in pancreatic beta cells, hepatocytes, renal tubular cells, adipocytes and brain cells [25]. In the CNS, GLUT-2 is present on astrocytes, tanicytes, ependymal cells, oligodendrocytes and neurons, but is not present in brain capillaries. In addition, brain endothelial cells have TJs, which prevent the passage of glucose (and analogues such as STZ) to the brain tissue. GLUT-2 has a low affinity for glucose (~17 mM), compared to GLUT-1 (~1 mM) or neuronal GLUT-3 (~1.5 mM), but has the same affinity for 2-deoxy-glucose as GLUT-1 (~10 mM) [25]. The role that this transporter plays in regulating food and glucose intake in the hypothalamus (in astrocytes and neurons) seems well established, but the sensing of glucose in other regions of the brain needs to be further investigated [26]. Interestingly, in Alzheimer's disease (AD), characterized by hypometabolism of glucose, reductions in GLUT-1 and 3 are observed, and an up-regulation of GLUT-2 [27].

It is not our intention to extensively discuss the mechanism of STZ cytotoxicity, and references [9] and [24] may be referred to for a detailed review. Structurally, STZ resembles 2-deoxy-D-glucose, with the addition of N-methyl-N-nitrosurea at carbon 2. This group causes

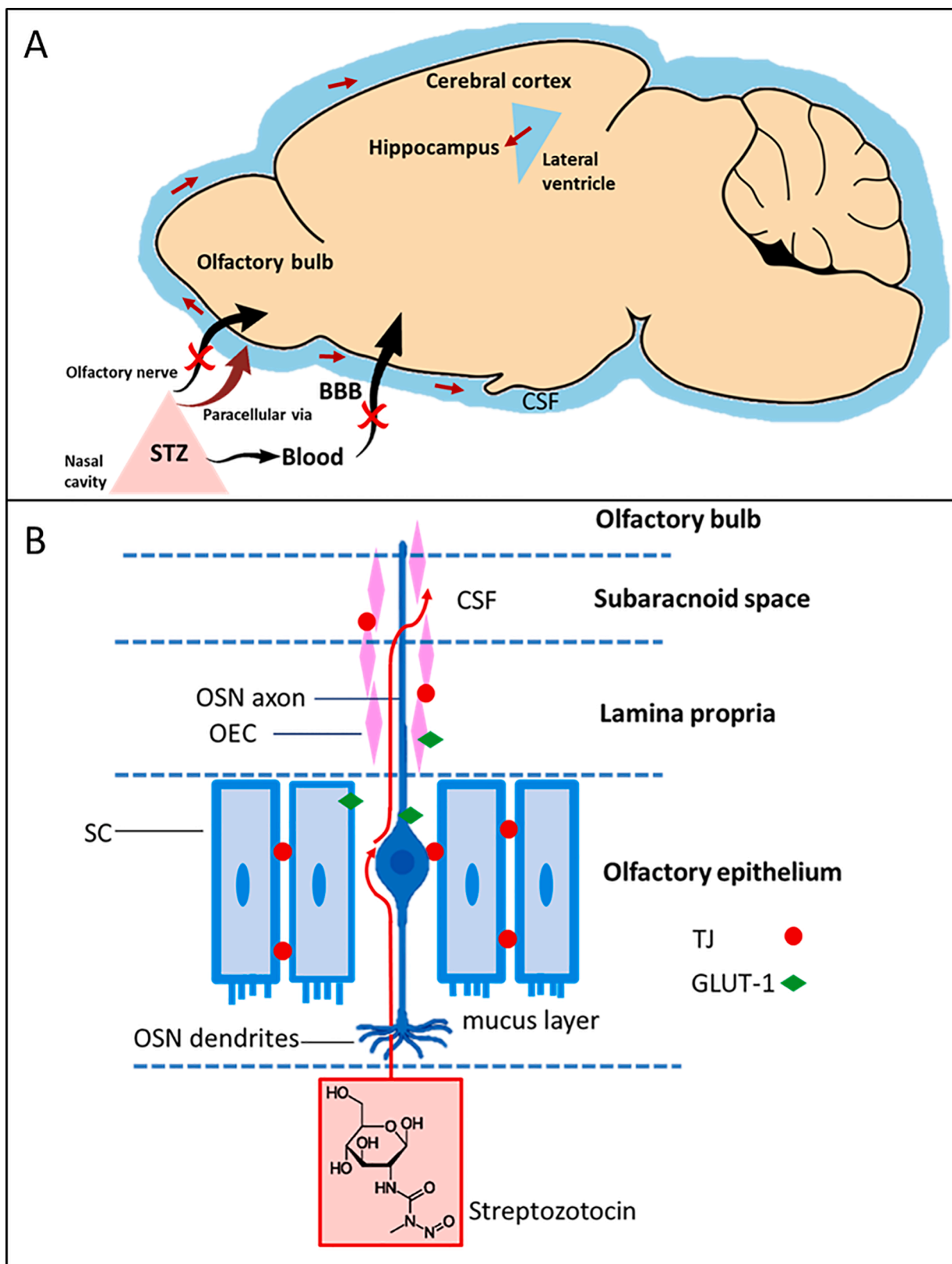


Fig. 1. Diagrams showing possible routes of STZ entry into the brain. Panel A is a diagram showing that STZ does not enter via the olfactory nerve (because there is no glucose transporter GLUT-2) and does not enter brain tissue via the BBB, for the same reason. STZ probably enters via the paracellular route, taking advantage of a lower density of tight junctions between some cells of the olfactory mucosa, as detailed in B. Note that STZ reaches the CSF via the paracellular route and, from there, can make contact with several brain structures, including the olfactory bulb and hippocampus. Panel B is a diagram showing the route of STZ through the olfactory mucosa. Dashed lines separate the various tissue layers, omitting the bone layer that is traversed by the axonal cables. An olfactory sensitive neuron (OSN) is represented, in dark blue, with its dendrites and axon; ciliated supporting cells (SC), in light blue; olfactory ensheathing cells (OECs) involving the OSN axon are represented in pink. Tight junctions (TJs) are represented by red circles and the glucose transporter-1 (GLUT-1) is represented on these cells by a green diamond. The structure of streptozotocin is represented below the panel, as well as its path through the layers, by a red line, until it reaches the cerebrospinal fluid (CSF).

DNA alkylation, which in turn demands greater activity of the repair enzyme PARP - poly adenosine diphosphate ribose polymerase, and consumption of NAD^+ . In addition, NO, also released by this group, affects several enzymes, including aconitase, of the Krebs cycle. The consumption of NAD^+ (preventing glycolysis) and inhibition of mitochondrial aconitase cause an energy depletion that can trigger cell dysfunction and death. In addition, STZ-damaged GLUT-2 positive cells can affect neighboring cells, even if they are GLUT-2 negative. This is particularly important in the case of astrocyte-neuron communication, where astroglial GLUT-2 plays a key role in metabolic coupling [25].

We postulate that nasally-administered STZ may cause hippocampal damage. For our hypothesis to be correct, it is important that hippocampal neurons and astrocytes are affected by STZ when administered intranasally. GLUT-2 is not expressed by the OSNs or by the SCs of the olfactory mucosa [28]. If GLUT-2 were expressed, this would lead to the destruction of olfactory cells with loss of glomerular input in the olfactory bulb and consequently in the entorhinal cortex, affecting hippocampal functionality and leading to cognitive impairment. Therefore, due to the olfactory impairment itself, there would be changes in olfaction and depressive behavior, making it difficult to assess and interpret a cognitive deficit due to the loss of hippocampal integrity. However, considering that olfactory epithelium lacks GLUT-2, the STZ would reach CNS regions (including the hippocampus) via the paracellular route, taking advantage of “failures” in the TJ barrier between the OSNs and SCs (in the olfactory epithelium) and, further up, among the OECs that involve the olfactory axons flowing from there into the subarachnoid space (Fig. 1).

STZ-induced hippocampal damage: Molecular targets and cognitive assessment

ICV administration of STZ causes direct damage to the hippocampus to induce a model of AD-like dementia, while indirect damage is incurred by intraperitoneal administration to induce a model of diabetes mellitus. In both cases, we observed changes in glial reactivity, reduced neurogenesis and cognitive impairment. Although hippocampal changes in diabetes occur later and are neurochemically distinct, it is these parameters that we must analyze in the case of a hippocampal lesion produced by the intranasal instillation of STZ. Preliminary data reporting on the administration of a single intranasal dose of STZ (15 mg/Kg) suggest that Wistar rats exhibit cognitive impairment four weeks later, as assessed by a behavioral task that depends on hippocampal integrity (Fig. 2).

The hypothesis of direct hippocampal damage by STZ, when administered by the nasal/paracellular access, must be confirmed by early neurochemical alterations (e.g. reduced glucose uptake, glutathione levels and N-Acetyl-Glucosamine modification in proteins), cellular changes (e.g. reduced number of neurons and increased immunoreactivity to GFAP) and cognitive impairment (e.g. Morris water maze), as found in the ICV STZ-induced dementia model [10,29–31]. This ICV-STZ model, in non-transgenic rodents, reproduces (in months) neurochemical findings that support the AD amyloid beta cascade hypothesis [32]. As such, the model is widely used in pre-clinical studies for the development of (pharmacological or not) therapeutic and/or preventive strategies [33–38]. An alternative method that employed intra nasal STZ would have many advantages for these investigative approaches.

The close relationship between olfaction, depressive behavior and cognition makes it difficult to interpret cognitive tests and requires specific tests to be performed, in parallel, for olfaction and depressive behavior (e.g. forced swimming). Additionally, other data may complement this hypothesis, such as the confirmation of the absence of GLUT-2 in the olfactory epithelium or the absence of damage to pancreatic beta cells. As such, the amount of STZ to be administered, as used in the dementia model, should be subdiabetogenic. However, the model should be standardized based on response and toxicity curves.

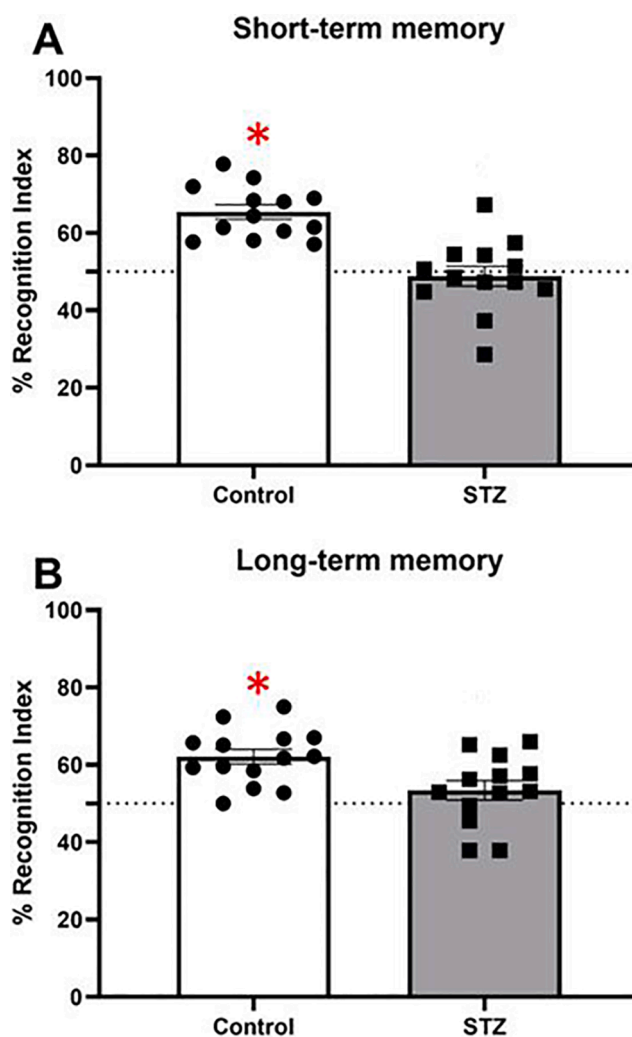


Fig. 2. Preliminary data suggesting that intranasal nasal STZ leads to cognitive impairment in rats. STZ (15 mg/Kg prepared in citrate buffer) was instilled in a volume of 10 μl into each nostril. After 4 weeks, these animals were evaluated for cognitive impairment and compared to animals that received vehicle alone. Cognitive testing was performed by novel object recognition [39]. The asterisk indicates that the control group of animals recognized a new object more effectively than the STZ group at 1 and 24 h, representing short (panel A) and long-term memory (panel B), respectively, based on *t* test ($p < 0.05$).

Ideally, while a single nasal application should be employed to induce neural damage, the efficiency of the method needs to be evaluated with dose fractioning and even with variation in the physicochemical characteristics of the nasal vehicle. We also need to define when it is best to assess the cognitive state of these animals. Therefore, many aspects of the proposed model require standardization to establish and confirm this route of STZ administration for the induction of the dementia model.

Conclusions

We believe that the presentation of this hypothesis has been very useful to review some concepts of the NBB, emphasizing the possibility of access of STZ, in this case, to the CNS. STZ is a small water-soluble molecule that does not have a carrier in the olfactory cells; transport would take place via the paracellular route, circumventing the TJ barrier and, as Chico Buarque lyrically says in the Brazilian song Futebol (Football), “with accuracy of an arrow and dry leaf”. This work contributes to highlighting the importance of NBB as a target for

neurotoxins and therapeutic drugs destined for the brain. Finally, the intranasal STZ-induced hippocampal lesion model, if experimentally confirmed, will be very useful as an AD-like model of dementia to evaluate new pharmacological strategies, being less invasive, simpler (since it does not require anesthesia and the surgical procedure), cheaper and less stressful for animals.

Funding

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Excitotoxicidade e Neuroproteção (INCTEN/CNPq).

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

- Djupesland PG, Messina JC, Mahmoud RA. The nasal approach to delivering treatment for brain diseases: an anatomic, physiologic, and delivery technology overview. *Ther Deliv* 2014;5:709–33. <https://doi.org/10.4155/tde.14.41>.
- Trevino JT, Quispe RC, Khan F, Novak V. Non-Invasive Strategies for Nose-to-Brain Drug Delivery. *J Clin Trials* 2020;10.
- Keller L-A, Merkel O, Popp A. Intranasal drug delivery: opportunities and toxicologic challenges during drug development. *Drug Deliv Transl Res* 2022;12(4):735–57.
- Benson JM, Hahn FF, March TH, McDonald JD, Gomez AP, Sopori MJ, et al. Inhalation toxicity of brevetoxin 3 in rats exposed for twenty-two days. *Environ Health Perspect* 2005;113(5):626–31.
- He Q, Yu W, Wu J, Chen C, Lou Z, Zhang Q, et al. Intranasal LPS-mediated Parkinson's model challenges the pathogenesis of nasal cavity and environmental toxins. *PLoS One* 2013;8(11):e78418.
- Prediger RDS, Aguiar AS, Moreira ELG, Matheus FC, Castro AA, Walz R, et al. The intranasal administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP): a new rodent model to test palliative and neuroprotective agents for Parkinson's disease. *Curr Pharm Des* 2011;17(5):489–507.
- Pierozan P, Piras E, Brittebo E, Karlsson O. The cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) targets the olfactory bulb region. *Arch Toxicol* 2020;94:2799–808. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02775-6>.
- Gay F. Bacterial transportable toxins of the nasopharyngeal microbiota in multiple sclerosis. *Nose-to-brain direct*. *Rev Neurol (Paris)* 2019;175:644–9. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2019.09.004>.
- Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diabetes Metab Disord* 2013;12:60. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-60>.
- Dos Santos JPA, Vizuete A, Hansen F, Biasibetti R, Gonçalves C-A. Early and Persistent O-GlcNAc Protein Modification in the Streptozotocin Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2018;61:237–49. <https://doi.org/10.3233/JAD-170211>.
- Landis MS, Boyden T, Pegg S. Nasal-to-CNS drug delivery: where are we now and where are we heading? An industrial perspective. *Ther Deliv* 2012;3:195–208. <https://doi.org/10.4155/tde.11.149>.
- Delorme B, Nivet E, Gaillard J, Häupl T, Ringe J, Devèze A, et al. The human nose harbors a niche of olfactory ectomesenchymal stem cells displaying neurogenic and osteogenic properties. *Stem Cells Dev* 2010;19(6):853–66.
- Duan D, Lu M. Olfactory mucosa: a rich source of cell therapy for central nervous system repair. *Rev Neurosci* 2015;26:281–93. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0065>.
- Mignani S, Shi X, Karpus A, Majoral J-P. Non-invasive intranasal administration route directly to the brain using dendrimer nanoplatforms: An opportunity to develop new CNS drugs. *Eur J Med Chem* 2021;209:112905. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112905>.
- Steinke A, Meier-Stiegen S, Drenckhahn D, Asan E. Molecular composition of tight and adherens junctions in the rat olfactory epithelium and fila. *Histochem Cell Biol* 2008;130:339–61. <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0441-8>.
- Shen L, Weber CR, Raleigh DR, Yu D, Turner JR. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo. *Annu Rev Physiol* 2011;73:283–309. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142150>.
- Reinhold AK, Rittner HL. Barrier function in the peripheral and central nervous system—a review. *Pflugers Arch* 2017;469:123–34. <https://doi.org/10.1007/s00424-016-1920-8>.
- Stamatovic SM, Johnson AM, Keep RF, Andjelkovic AV. Junctional proteins of the blood-brain barrier: New insights into function and dysfunction. *Tissue Barriers* 2016;4(1):e1154641.
- Castro Dias M, Mapunda JA, Vladymyrov M, Engelhardt B. Structure and Junctional Complexes of Endothelial, Epithelial and Glial Brain Barriers. *Int J Mol Sci* 2019;20(21):5372.
- Zanotto C, Simão F, Gasparin MS, Biasibetti R, Tortorelli LS, Nardin P, et al. Exendin-4 Reverses Biochemical and Functional Alterations in the Blood-Brain and Blood-CSF Barriers in Diabetic Rats. *Mol Neurobiol* 2017;54(3):2154–66.
- Beiersdorfer A, Wolburg H, Grawe J, Scheller A, Kirchhoff F, Lohr C. Sublamina-specific organization of the blood brain barrier in the mouse olfactory nerve layer. *Glia* 2020;68:631–45. <https://doi.org/10.1002/glia.23744>.
- Pope K, Wilson DA. Olfactory system modulation of hippocampal cell death. *Neurosci Lett* 2007;422:13–7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.05.041>.
- De La Rosa-Prieto C, De Moya-Pinilla M, Saiz-Sanchez D, Ubeda-banon I, Arzate DM, Flores-Cuadrado A, et al. Olfactory and cortical projections to bulbar and hippocampal adult-born neurons. *Front Neuroanat* 2015;9. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00004>.
- Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, Nakhate KT, Ojha S, Patil CR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact* 2016;244:49–63.
- Koepsell H. Glucose transporters in the small intestine in health and disease. *Pflugers Arch* 2020;472:1207–48. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02439-5>.
- Salkovic-Petrisic M, Tribl F, Schmidt M, Hoyer S, Riederer P. Alzheimer-like changes in protein kinase B and glycogen synthase kinase-3 in rat frontal cortex and hippocampus after damage to the insulin signalling pathway. *J Neurochem* 2006;96:1005–15. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03637.x>.
- Knezovic A, Loncar A, Homolak J, Smailovic U, Osmanovic Barilar J, Ganoci L, et al. Rat brain glucose transporter-2, insulin receptor and glial expression are acute targets of intracerebroventricular streptozotocin: risk factors for sporadic Alzheimer's disease? *J Neural Transm* 2017;124(6):695–708.
- Nunez-Parra A, Cortes-Campos C, Bacigalupo J, de la Garcia M, Nualart F, Reyes JG. Expression and distribution of facilitative glucose (GLUTs) and monocarboxylate/H⁺ (MCTs) transporters in rat olfactory epithelia. *Chem Senses* 2011;36:771–80. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr052>.
- de la Monte SM, Tong M, Lester-Coll N, Plater M, Wands JR. Therapeutic rescue of neurodegeneration in experimental type 3 diabetes: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006;10:89–109. <https://doi.org/10.3233/jad-2006-10113>.
- Biasibetti R, Almeida dos Santos JP, Rodrigues L, Wartchow KM, Suardi LZ, Nardin P, et al. Hippocampal changes in STZ-model of Alzheimer's disease are dependent on sex. *Behav Brain Res* 2017;316:205–14.
- Dos Santos JPA, Vizuete AF, Gonçalves C-A. Calcineurin-Mediated Hippocampal Inflammatory Alterations in Streptozotocin-Induced Model of Dementia. *Mol Neurobiol* 2020;57:502–12. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01718-2>.
- Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992;256:184–5. <https://doi.org/10.1126/science.1566067>.
- Rodrigues L, Biasibetti R, Swarowsky A, Leite MC, Quincozes-Santos A, Quilfeldt JA, et al. Hippocampal alterations in rats submitted to streptozotocin-induced dementia model are prevented by aminoguanidine. *J Alzheimers Dis* 2009;17(1):193–202.
- Tramontina AC, Wartchow KM, Rodrigues L, Biasibetti R, Quincozes-Santos A, Bobermin L, et al. The neuroprotective effect of two statins: simvastatin and pravastatin on a streptozotocin-induced model of Alzheimer's disease in rats. *J Neural Transm* 2011;118(11):1641–9.
- Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, Riederer P. 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* 2013;120:233–52. <https://doi.org/10.1007/s00702-012-0877-9>.
- Knezovic A, Osmanovic-Barilar J, Curlin M, Hof PR, Simic G, Riederer P, et al. Staging of cognitive deficits and neuropathological and ultrastructural changes in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2015;122(4):577–92.
- Nazem A, Sankowski R, Bacher M, Al-Abed Y. Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease. *J Neuroinflamm* 2015;12:74. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0291-y>.
- Grieb P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. *Mol Neurobiol* 2016;53:1741–52. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9132-3>.
- Lissner LJ, Wartchow KM, Toniazzi AP, Gonçalves C-A, Rodrigues L. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience. *Pharmacol Biochem Behav* 2021;210:173273. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173273>.

7 CONCLUSÕES

A doença de Alzheimer encontra-se entre as principais causas de demência. Desse modo, diversos estudos têm procurado melhor entender a fisiopatologia da doença e propor métodos de tratamento. Para isso, modelos como o modelo de administração intracerebroventricular de estreptozotocina que representa a doença em seu tipo esporádico, tem sido utilizado. Por ser um método não invasível e de fácil reprodutibilidade, a administração intranasal de substâncias que possuem como alvo o SNC tem sido também utilizada.

No capítulo 1, os resultados apresentados demonstraram que o tratamento intranasal com sobrenadante e exossomos tem algum efeito sobre o SNC. Em suma, o sobrenadante foi capaz de promover neuroproteção, evitando os déficits cognitivos de memória espacial e de reconhecimento, assim como, bioquimicamente, evitou redução da captação de glicose e parcialmente reduziu para níveis basais a atividade da glutamina sintetase. Por outro lado, os exossomos quando administrados permitiram aumento parcial da captação de glicose e não alteraram os níveis da atividade da glutamina sintetase em relação ao grupo que recebeu STZ-ICV.

A presença de substâncias como fatores neurotróficos, citocinas e outras moléculas sinalizadoras não analisadas neste estudo, mas potencialmente presentes no secretoma de células estromais mesenquimais, conforme a literatura, podem ter influenciado os resultados. Entre estas substâncias podemos destacar BDNF, IGF-1, VEGF, TGF- β , entre outras.

No capítulo 2, avaliamos a utilização da via intranasal como potencial indutora do modelo de doença de Alzheimer, através da administração de estreptozotocina por esta via.

Os resultados apresentados demonstraram que, devida provável ausência de GLUT-2 na barreira nasal, a estreptozotocina administrada via intranasal teria como alvo o SNC através de via paracelular, percorrendo os espaços intercelulares entre células como OECs, ONF para assim atingir o líquido no espaço subaracnóide e entrar no SNC.

Além disso, foi possível demonstrar que a administração intranasal de 15mg/kg de estreptozotocina induziu danos cognitivos em memória de reconhecimento, quatro semanas após administração, sugerindo, portanto, a viabilidade desta hipótese e a

necessidade de implementá-la e padronizá-la em futuros estudos como modelo da doença de Alzheimer.

Em suma, os dados do primeiro capítulo, corroborando com dados prévios da literatura, demonstram a importância da via intranasal para fins terapêuticos. De forma muito relevante, os dados do capítulo 2 sugerem que determinadas substâncias tóxicas ao sistema nervoso central, como a STZ, possam ser empregadas como modelo para estudo de demência do tipo doença de Alzheimer.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.; MONFARED, T.; BYRNES, M. J. The Humanistic and Economic Burden of Alzheimer' s Disease. **Neurology and Therapy**, v. 11, n. 2, p. 525–551, 2022.

AHMED NEL-M. *et al.* Therapeutic Potential of Dental Pulp Stem Cell Secretome for Alzheimer's Disease Treatment: An *In vitro* Study. **Stem cells international**, v.2016, p. 8102478, 2016.

AL KOBORSSY D. *et al.* Cellular and molecular cues of glucose sensing in the rat olfactory bulb. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, n. OCT, 2014.

ALAM, M.I. *et al.* Intranasal infusion of nanostructured lipid carriers (NLC) containing CNS acting drug and estimation in brain and blood. **Drug delivery**, v.20, n.6, p.247-51,2013.

ALAVI MS. *et al.* Beneficial effects of levetiracetam in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. **Metabolic brain disease**, v.37, n.3, p.689-700,2022.

Alzheimer's Association, 2022. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2022 Apr;18(4):700-789. doi: 10.1002/alz.12638. Epub 2022 Mar 14. PMID: 35289055.

AMORIM, B. *et al.* Mesenchymal stem cells – characterization, cultivation, immunological properties and clinical applications. **Rev HCPA**, v.32, n.1, 2012.

ANLAUF E, DEROUICHE A. Glutamine synthetase as an astrocytic marker: its cell type and vesicle localization. **Frontiers in endocrinology**, v.4, p.144, 2013.

ARLUISON M. *et al.* Distribution and anatomical localization of the glucose transporter 2 (GLUT2) in the adult rat brain--an immunohistochemical study. **Journal of chemical neuroanatomy**, v.28, n.3, p.117-36,2004.

ATRI, A. T h e A l z h e i m e r ' s D i s e a s e Clinical Spectrum. **Medical Clinics of NA**, v. 103, n. 2, p. 263–293, 2019.

AYODELE, T. Early-Onset Alzheimer' s Disease : What Is Missing in Research ?. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v.21, n. 2, p.4, 2021.

BAER, P. C. Adipose-derived mesenchymal stromal / stem cells : An update on their phenotype *in vivo* and *in vitro*. **World Journal of Stem Cells**, v. 6, n. 3, p. 256–265, 2014.

BAGAMÉRY, F. *et al.* Lack of insulin resistance in response to streptozotocin treatment in neuronal SH - SY5Y cell line. **Journal of Neural Transmission**, v. 127, n. 1, p. 71–80, 2020.

BASSANI T.B. *et al.* .Decrease in Adult Neurogenesis and Neuroinflammation Are Involved in Spatial Memory Impairment in the Streptozotocin-Induced Model of Sporadic Alzheimer's Disease in Rats. **Molecular neurobiology**, v.55, n.5, p.4280-4296,2018.

BASSANI, T.B. *et al.* Effects of curcumin on short-term spatial and recognition memory, adult neurogenesis and neuroinflammation in a streptozotocin-induced rat model of dementia of Alzheimer's type. **Behavioural brain research**, v.335, p. 41-54,2017.

BEDSE, G. *et al.* Aberrant insulin signaling in Alzheimer's disease: current knowledge. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, p. 204, 2015.

BEIERSDORFER A. *et al.* Sublamina-specific organization of the blood brain barrier in the mouse olfactory nerve layer. **Glia**, v. 68, n.3, p.631-645, 2020.

BELLINGHAM, S. A. *et al.*Exosomes: vehicles for the transfer of toxic proteins associated with neurodegenerative diseases? **Frontiers in physiology**, v. 3, p.124, 2012.

BENICE T.S. *et al.* Sex-differences in age-related cognitive decline in C57BL/6J mice associated with increased brain microtubule-associated protein 2 and synaptophysin immunoreactivity. **Neuroscience**, v.137, n.2, p.413-23,2006.

BIASIBETTI R. *et al.* Hippocampal changes in STZ-model of Alzheimer's disease are dependent on sex. **Behavioural Brain Research**, v.316, p. 205-214, 2017.

BIASIBETTI, R. *et al.* Green tea (-) epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia. **Behavioural Brain Research**, v. 236, n. 1, p. 186–193, 2013

BONDI, M.W; EDMONDS, E.C; SALMON, D.P. Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 23; n.9-10, p. 818-831, 2017.

BORGMANN-WINTER. *et al.* Translational potential of olfactory mucosa for the study of neuropsychiatric illness. **Translational Psychiatry**, v. 5, n.3, e527, 2015.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer' s Disease: Causes and Treatment. **Molecules**, v.25; n.24, p.5789, 2020.

BROADBENT N.J. *et al.* Object recognition memory and the rodent hippocampus. **Learning & memory**, v.17, n.1, p.5-11,2009.

BROETTO, N. *et.al.* Intracerebroventricular administration of okadaic acid induces hippocampal glucose uptake dysfunction and tau phosphorylation. **Brain Research Bulletin**, v.124, p.136-43, 2016.

BROWN, M. R.; RADFORD, S. E.; HEWITT, E. W. Modulation of β -Amyloid Fibril Formation in Alzheimer' s Disease by Microglia and Infection. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 13, e.609073, 2020.

CAMPBEL, H.K; MAIERS, J.L; DEMALI, K.A. Interplay between tight junctions & adherens junctions. **Experimental cell research** , v. 358, n. 1, p. 39-44, 2017.

CAPDEVILA, J. *et al.* Streptozotocin. 1982- 2022: Forty Years from The FDA' s Approval To Treat Pancreatic Neuroendocrine Tumors. **Neuroendocrinology**, 2022.

CAPLAN A.I. Mesenchymal Stem Cells: The Past, the Present, the Future. **Cartilage**, v.1, n.1, p:6-9, 2010.

CÁRDENAS G. *et al.* Intranasal dexamethasone: a new clinical trial for the control of inflammation and neuroinflammation in COVID-19 patients. **Trials**, v. 23, n.1, p.148,2022.

CARTER, S.F. *et al.* Evidence for astrocytosis in prodromal Alzheimer disease provided by 11C-deuterium-L-deprenyl: a multitracers PET paradigm combining 11C-Pittsburgh compound B and 18F-FDG. **Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine**, v.53, n.1, p. 37-45, 2012.

CASTEGNA, A.; MENGA, A. Glutamine Synthetase : Localization Dictates Outcome. **Genes**, v.9, n.2, p.108, 2018.

CHACKO, A. *et al.* *Streptococcus agalactiae* Infects Glial Cells and Invades the Central Nervous System *via* the Olfactory and Trigeminal Nerves. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v.12, p. 793416,2022.

CHAMANZA, R; WRIGHT, J.A. A review of the comparative anatomy, histology, physiology and pathology of the nasal cavity of rats, mice, dogs and non-human primates. Relevance to inhalation toxicology and human health risk assessment. **Journal of comparative pathology**, v.153,n.4, p.287-314,2015.

CHAO, C. C. *et al.* Effects of Transforming Growth Factor- β Murine Astrocyte Glutamine Synthetase Activity Implications in Neuronal Injury. **The Journal of clinical investigation**, v. 90, p. 1786–1793, 1992

CHEN Z, ZHONG C. Decoding Alzheimer's disease from perturbed cerebral glucose metabolism: implications for diagnostic and therapeutic strategies. **Progress in neurobiology**, v.108, p. 21-43,2013.

CHEN, C.R. *et al.* Anatomy and Cellular Constituents of the Human Olfactory Mucosa : A Review. **Journal of Neurological Surgery. Part B, Skull base**, v.75, n.5, p.293-300, 2014.

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). **Molecular neurobiology**, v. 47, n.2, p. 711-25, 2013.

CHEN, Y. *et al.* Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Ameliorate Alzheimer's Disease Pathology and Improve Cognitive Deficits. **Biomedicines**, v.9, n.6, p.594, 2021.

CHOI, R.; GOLDSTEIN, B. J. Olfactory Epithelium: Cells, Clinical Disorders, and Insights from an Adult Stem Cell Niche. **Laryngoscope Investigative Otolaryngology**, v.3, n.1, p. 35-42, 2018.

COLOMBO, M; RAPOSO, G; THÉRY, C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. **Annual review of cell and developmental biology**, 30:255-89, 2014.

CONRAD, C.D. *et al.* Chronic Stress Impairs Rat Spatial Memory on the Y Maze, and This Effect Is Blocked by Tianeptine Pretreatment. **Behavioral neuroscience**, v. 110, n. 6, p. 1321–1334, 1996.

CORY-SLECHTA, D.A. *et al.* The Impact of Inhaled Ambient Ultrafine Particulate Matter on Developing Brain: Potential Importance of Elemental Contaminants. **Toxicologic Pathology**. v. 47, n.8, p.976-992, 2019

CROWE, T. P. *et al.* Mechanism of intranasal drug delivery directly to the brain. **Life sciences**, v. 195, p. 44–52, fev. 2018.

CROWE, T.P. *et al.* Evaluation of Recent Intranasal Drug Delivery Systems to the Central Nervous System. **Pharmaceutics**, v.14, n.3, p. 629, 2022.

CRUNFLI, F. *et al.* NO-dependent Akt inactivation by S-Nitrosylation as a possible mechanism of STZ-Induced neuronal insulin resistance. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v.65, n.4, p. 1427-1443, 2018.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, p. 779–794, 2019.

CUMMINGS, J; FOX, N. Defining Disease Modifying Therapy for Alzheimer's Disease. **The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, v. 4, n. 2, p. 109–115, 2017.

CZARNECKI, L.A. *et al.* *In vivo* visualization of olfactory pathophysiology induced by intranasal cadmium instillation in mice. **Neurotoxicology**, v.32, n.4, p.441-9, 2011.

DADALTO, E; CAVALCANTE, F.G. The place of family caregivers for older adults with Alzheimer's disease: a literature review in Brazil and the United States. **Ciências Saúde Coletiva**, v.26, n. 1, 2021.

DANDO, S.J. *et al.* Pathogens penetrating the central nervous system: infection pathways and the cellular and molecular mechanisms of invasion. **Clinical Microbiology Reviews**, v.27, n.4, p.691-726, 2014.

DE GODOY, M.A. *et al.* Mesenchymal stem cells and cell-derived extracellular vesicles protect hippocampal neurons from oxidative stress and synapse damage induced by amyloid- β oligomers. **The Journal of biological chemistry**, v.296, n.6, p.1957-1975,2018.

DE LA MONTE S.M. *et al.* Therapeutic rescue of neurodegeneration in experimental type 3 diabetes: relevance to Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v.10, n.1, p. 89-109, 2006.

DE PAULA FARIA, D. *et al.* Cannabidiol Treatment Improves Glucose Metabolism and Memory in Streptozotocin-Induced Alzheimer's Disease Rat Model: A Proof-of-Concept Study. **International journal of molecular sciences**, v.23, n.3, p. 1076, 2022.

DE STROOPER, B; KARRAN, E. The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. **Cell**, v. 164, n.4, p. 603-15, 2016.

DELLU, F. *et al.* Extension of a new two-trial memory task in the rat: influence of environmental context on recognition processes. **Neurobiology of learning and memory**, v.67, n.2, p.112-20,1997.

DELORME, B. *et al.* The Human Nose Harbors a Niche of Olfactory Ectomesenchymal Stem Cells Displaying Neurogenic and Osteogenic Properties. **Stem Cells and Development**, v. 19, n. 6, 2010.

DETURE, M.A; DICKSON, D.W. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. **Molecular neurodegeneration**, v.14, n.1,p.32, 2019.

DHURIA SV, HANSON LR, FREY WH 2ND. Intranasal delivery to the central nervous system: mechanisms and experimental considerations. **Journal of pharmaceutical sciences**, v.99, n.4, p. 1654-73, 2010.

DIMIOU, S. *et al.* Particulate levodopa nose-to-brain delivery targets dopamine to the brain with no plasma exposure. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 618: 121658, 2022.

DING, M. *et al.* Exosomes Isolated From Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Alleviate Neuroinflammation and Reduce Amyloid-Beta Deposition by Modulating Microglial Activation in Alzheimer's Disease. **Neurochemical research**, v.43, n.11, p. 2165-2177, 2018.

DOS SANTOS, J. P. A.; VIZUETE, A. F.; GONÇALVES, C. A. Calcineurin-Mediated Hippocampal Inflammatory Alterations in Streptozotocin-Induced Model of Dementia. **Molecular Neurobiology**, v. 57, n. 1, p. 502–512, 2020.

DOS SANTOS, J.P.A. *et al.* Early and Persistent O-GlcNAc Protein Modification in the Streptozotocin Model of Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease: JAD**, v. 61, n.1, p.237-249, 2019.

DOUAUD, G. *et al.* SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank. **Nature**, v.604, n. 7907, p.697-707,2022.

DUAN, D; LU, M. Olfactory mucosa: a rich source of cell therapy for central nervous system repair. **Reviews in the neurosciences**, v.26, n.3, p. 281-93,2015.

DUNCAN, T.; VALENZUELA, M.; AD, S. Alzheimer ' s disease , dementia , and stem cell therapy. **Stem Cell Research & Therapy**, v.8, n. 1, p.111, 2017.

EGASHIRA,Y. *et al.* The conditioned medium of murine and human adipose-derived stem cells exerts neuroprotective effects against experimental stroke model. **Brain Research**, v. 1461, p. 87–95, 2012.

EID, T.; HAVEN, N.; LEE, T. W. Roles of glutamine synthetase inhibition in epilepsy. **Neurochemical research**, v.37, n.11, p. 2339-50,2012.

ELEUTERI S, FIERABRACCI A. Insights into the Secretome of Mesenchymal Stem Cells and Its Potential Applications. **International journal of molecular sciences**, v.20, n.18, p.4597,2019.

ELIA, C. A. *et al.* Intracerebral Injection of Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells Exerts Reduced A β Plaque Burden in Early Stages of a Preclinical Model of Alzheimer' s Disease. **Cells**, v.8, n.9, p. 1059, 2019.

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

ENNACEUR A. One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. **Behavioural brain research**, v.215, n.2, p. 244-54, 2010.

EZQUER, F. *et al.* Intranasal delivery of mesenchymal stem cell-derived exosomes reduces oxidative stress and markedly inhibits ethanol consumption and post-deprivation relapse drinking. **Addiction biology**, v.24, n.5, p.994-1007,2019.

FAKHOURY, M. Microglia and Astrocytes in Alzheimer's Disease: Implications for Therapy. **Current Neuropharmacology**, v.16, n.5, p. 508-518, 2018.

FERRARI, C; SORBI, S. The complexity of alzheimer ' s disease : an evolving puzzle. **Physiological Reviews**, v. 101, n.3, p.1047-1081, 2021.

FETER, N.; LEITE, J. S.; DUMITH, S. C. Ten-year trends in hospitalizations due to Alzheimer ' s disease in Brazil : a national-based study. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, n. 8, 2021.

FINE, J.M. *et al.*Intranasal deferoxamine affects memory loss, oxidation, and the insulin pathway in the streptozotocin rat model of Alzheimer's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 380, p. 164–171, 2017.

FRIEDENSTEIN, A.J. *et al.* Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method. **Experimental Hematology**, v.2, p.83-92, 1974.

FRONZA, M. *et al.* Effect of QTC-4-MeOBnE treatment on memory, neurodegeneration, and neurogenesis in a streptozotocin-induced mouse model of Alzheimer's disease. **ACS chemical neuroscience**, v.12, n.1, p.109-122, 2021.

GALE, S.A; ACAR, D; DAFFNER, K.R. Dementia. **The American Journal of Medicine**, v.131, n.10, p.1161-1169, 2018.

GÄNGER, S.; SCHINDOWSKI, K. Tailoring Formulations for Intranasal Nose-to-Brain Delivery: A Review on Architecture , Physico- Chemical Characteristics and Mucociliary Clearance of the Nasal Olfactory Mucosa. **Pharmaceutics**, v.10, n.3, p.116, 2018.

GAO, L. *et al.* Brain - derived neurotrophic factor in Alzheimer ' s disease and its pharmaceutical potential. **Translational Neurodegeneration**, v.11. n.1, p. 4, 2022.

GARCIA, K.O. *et al.* Therapeutic effects of the transplantation of VEGF overexpressing bone marrow mesenchymal stem cells in the hippocampus of murine model of Alzheimer's disease. **Frontiers in aging neuroscience**, v.6, p.30, 2014.

GARDNER, B. *et al.* Metal concentrations and distributions in the human olfactory bulb in Parkinson's disease. **Scientific Reports**, v.7, p.10454,2017.

GÁSPÁR, A. *et al.* Intracerebroventricularly Injected Streptozotocin Exerts Subtle Effects on the Cognitive Performance of Long-Evans Rats. **Frontiers in pharmacology**, v.7, p. 662173, 2021.

GAY, F. Bacterial transportable toxins of the nasopharyngeal microbiota in multiple sclerosis. Nose to brain direct. **Revue neurologique**, v.175, n.10, p. 644-649, 2019.

GIUNCHEDI, P.; GAVINI, E. Nose-to-Brain Delivery. **Pharmaceutics**, v.12, n.2, p.138, 2020.

Global action plan on the public health response to dementia 2017–2025. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

GOLDE, T. E. Alzheimer ' s disease – the journey of a healthy brain into organ failure. **Molecular Neurodegeneration**, v. 17, n.1, p. 18, 2022.

GONÇALVES, C.A. *et al.* Glycolysis-Derived Compounds From Astrocytes That Modulate Synaptic Communication. **Frontiers in Neuroscience**, v.12, p. 1035, 2019.

GONÇALVES, D. *et al.* High glutamate decreases S100B secretion stimulated by serum deprivation in astrocytes. **Neuroreport**, v.13, n.12, p.1533-5, 2002

GONÇALVES, R. A. *et al.* The Link Between Tau and Insulin Signaling: Implications for Alzheimer's Disease and Other Tauopathies. **Frontiers in cellular neuroscience**, v.13, p.17, 2019.

GONÇALVES,C.A; LEITE, M.C; NARDIN, P. Biological and methodological features of the measurement of S100B, a putative marker of brain injury. **Clinical Biochemistry**, v. 41, n. 10-11, p.755-63, 2008.

GRIEB, P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. **Molecular Neurobiology**, v. 53, n. 3, p. 1741–1752, 2016.

GRUNBLATT, E. *et al.* Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. **Journal of Neurochemistry**, v.103,n.3, p. 757-70, 2007.

GU ,Y. *et al.* Endogenous IL-6 of mesenchymal stem cell improves behavioral outcome of hypoxic-ischemic brain damage neonatal rats by suppressing apoptosis in astrocyte. **Scientific reports**, v.6, p. 18587,2016.

Guo, M. *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosome: a promising alternative in the therapy of Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 12, p.109,2020.

GUO, S. *et al.* Intranasal delivery of mesenchymal stem cell derived exosomes loaded with phosphatase and tensin homolog siRNA repairs complete spinal cord injury. **ACS nano**, v.13, n.9, p. 10015-10028,2019.

GUSMULU, E. *et al.* Exenatide enhances cognitive performance and upregulates neurotrophic factor gene expression levels in diabetic mice. **Fundamental & clinical pharmacology**, v.30, n. 4, p. 376-84, 2016.

HAJINEJAD M, SAHAB-NEGAH S. Neuroinflammation : The next target of exosomal microRNAs derived from mesenchymal stem cells in the context of neurological disorders. **Journal of cellular physiology**, v.236, n.12, p.8070-8081,2021.

HALLSCHMID, M. Intranasal insulin. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 33, n.4, e 12934, 2021

HANSON, L.R; FREY, W. Intranasal delivery bypasses the blood-brain barrier to target therapeutic agents to the central nervous system and treat neurodegenerative disease. **BMC Neuroscience**, v.9, n.3, S5, 2008

HARACH, T. *et al.* Administrations of human adult ischemia-tolerant mesenchymal stem cells and factors reduce amyloid beta pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. **Neurobiology of aging**, v.51, p.83-96, 2017.

HARRELL, C. R. *et al.* Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes as New Remedy for the Treatment of Neurocognitive Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v.22, n.3, p.1433, 2021.

HARTSOCK A, NELSON WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. **Biochimica et biophysica acta**, v.1778, n.3, p. 660-9, 2008.

HE, M. *et al.* Mesenchymal stem cells-derived IL-6 activates AMPK/mTOR signaling to inhibit the proliferation of reactive astrocytes induced by hypoxic-ischemic brain damage. **Experimental neurology**, v.311, p.15-32, 2019.

HELWANY, M; BORDONI, B. Neuroanatomy, Cranial Nerve 1 (Olfactory). 2021. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

HERNÁNDEZ, A.A; GARCÍA, E. Mesenchymal stem cell therapy for Alzheimer's disease. **Stem cells international**, 2021:7834421, 2021

HIGGINSON JR, BARNETT SC. The culture of olfactory ensheathing cells (OECs)--a distinct glial cell type. **Experimental neurology**, v.229, n. 1, p.2-9, 2011.

HÖGLINGER, G.U. *et al.* A new dopaminergic nigro-olfactory projection. **Acta neuropathologica**, v.130, n.3, p.333-48, 2015

HU, G. *et al.* Astrocyte EV-Induced lincRNA-Cox2 Regulates Microglial Phagocytosis: Implications for Morphine-Mediated Neurodegeneration. **Molecular therapy. Nucleic acids**, v.13, p.450-463,2018.

HU, J.; WANG, X. Alzheimer ' s Disease : From Pathogenesis to Mesenchymal Stem Cell Therapy – Bridging the Missing Link. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 15, n. February, p. 1–18, 2022.

HUANG, S.*et al.* An improved protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. **Journal of orthopaedic translation**, v.3,n.1, p.26-33, 2014.

HÜTTENRAUCH, M. *et al.* Neprilysin deficiency alters the neuropathological and behavioral phenotype in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v.44, n.4, p.1291-302,2015.

JACK, C.R. J. *et al.* NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. **Alzheimers & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association**, v.14,n.4, p.535-562, 2018

JAHANGARD, Y. *et al.* Therapeutic Effects of Transplanted Exosomes Containing miR-29b to a Rat Model of Alzheimer's Disease. **Frontiers in Neuroscience**, v.18, n.14, p.564, 2020.

JAVONILLO, D.J. *et al.* Systemic phenotyping and characterization of the 3xTg- AD mouse model of Alzheimer's disease. **Frontiers in neuroscience**, v.15, p.785276, 2022.

JU, Y.; TAM, K. Y. Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer ' s disease. **Neural Regeneration Research**, v. 17, n. 3, p. 543–549, 2022.

KAHRAMAN, S. *et al.* Diabetes-Resistant NOR Mice Are More Severely Affected by Streptozotocin Compared to the Diabetes-Prone NOD Mice : Correlations with Liver and Kidney GLUT2 Expressions. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, p.450128, 2015.

KARANTZOULIS, S; GALVIN, J.E. Distinguishing Alzheimer's Disease from Other Major Forms of Dementia. *Expert Review of Neurotherapeutics*, **Expert Review of Neurotherapeutics**, v.11, n.11, p. 1579-1591, 2011.

KATSUDA T, OKI K, OCHIYA T. Potential application of extracellular vesicles of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease therapeutics. **Methods in molecular biology**, v. 1212, p.171-81, 2015.

KELLER, L. A.; MERKEL, O.; POPP, A. Intranasal drug delivery : opportunities and toxicologic challenges during drug development. **Drug Delivery and Translational Research**, v.12, n.4 p. 735–757, 2022.

KERN, S. *et al.* Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. **Stem Cells**, v. 24, n.5, p. 1294-301, 2006.

KIM, H.Y. *et al.* Intracerebroventricular Injection of Amyloid- β Peptides in Normal Mice to Acutely Induce Alzheimer-like Cognitive Deficits. **Journal of visualized experiments: JoVE**, v. 109, p.53308, 2016.

KIM, J. *et al.* 1-Palmitoyl-2-Linoleoyl-3-Acetyl-*rac*-Glycerol Attenuates Streptozotocin-Induced Pancreatic Beta Cell Damage by Promoting Glucose Transporter 2 Endocytosis. **Molecular and cellular biology**, v.39, n.21, e00157-19,2019.

KINNAVANE, L. *et al.* Detecting and discriminating novel objects: The impact of perirhinal cortex disconnection on hippocampal activity patterns. **Hippocampus**, v.26, n.11, p.1393-1413,2016.

KNEZOVIC, A. *et al.* Rat brain glucose transporter-2, insulin receptor and glial expression are acute targets of intracerebroventricular streptozotocin: risk factors for sporadic Alzheimer's disease? **Journal of neural transmission**, v.124, n.6, p.695-708,2017.

KNEZOVIC, A. *et al.* Rat brain glucose transporter-2, insulin receptor and glial expression are acute targets of intracerebroventricular streptozotocin: risk factors for sporadic Alzheimer's disease? **Journal of Neural Transmission**, v. 124, n. 6, p. 695–708, 2017.

KNOPMAN, S. *et al.* Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 1–21, 2021.

KOEPSELL, H. Glucose transporters in brain in health and disease. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 472, n. 9, p. 1299–1343, 2020.

KRAEUTER AK, GUEST PC, SARNYAI Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. **Methods in molecular biology**, v. 1916, p. 105-111, 2019.

KRASKIEWICZ, H. *et al.* Can supernatant from immortalized adipose tissue MSC replace cell therapy? An *in vitro* study in chronic wounds model. **Stem cell research & therapy**, v.11, n.1, p.29,2020.

KRAUSE, G. *et al.* Structure and function of claudins. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1778, n.3, p.631-45, 2008.

KULIJEWICZ-NAWROT, M. *et al.* Astrocytes and glutamate homoeostasis in Alzheimer's disease: a decrease in glutamine synthetase, but not in glutamate transporter-1, in the prefrontal cortex. **ASN Neuro**, v.5, p. 273–282,2013.

LAN, Y; ZHAO, J; MA, T; LI, S. The potential roles of aquaporin 4 in Alzheimer's disease. **Molecular Neurobiology**, v.53, p. 5300-5309, 2016.

LECANU, L; PAPADOPOULOS, V. Modeling Alzheimer's disease with non-transgenic rat models. **Alzheimer's research & therapy**, v.5, n.3, p. 17, 2013.

LEE, M. *et al.* The exosome of adipose-derived stem cells reduces b -amyloid pathology and apoptosis of neuronal cells derived from the transgenic mouse model of Alzheimer ' s disease. **Brain Research**, v. 1691, p. 87–93, 2018.

LELOUP, C. *et al.* Glucose transporter 2 (GLUT 2)" expression in specific brain nuclei. **Brain Research**, v. 638, p. 221–226, 1994.

LI, C. *et al.* Allogeneic vs. autologous mesenchymal stem/stromal cells in their medication practice. **Cell & bioscience**, v.11,n.1, p.187,2021.

LI, X. *et al.* Peripheral Circulation and Astrocytes Contribute to the MSC-Mediated Increase in IGF-1 Levels in the Infarct Cortex in a dMCAO Rat Model. **Stem cells international**, v. 2020, p. 8853444, 2020.

LI, Y.; FIELD, P. M.; RAISMAN, G. Olfactory ensheathing cells and olfactory nerve fibroblasts maintain continuous open channels for regrowth of olfactory nerve fibres. **Glia**, v. 52, n. 3, p. 245–251, 2005.

LIEW, L.C. *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: a glimmer of hope in treating Alzheimer's disease. **International immunology**, v.29, n. 1, p.11-19, 2017.

LINERO, I.; CHAPARRO, O. Paracrine Effect of Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Adipose Tissue in Bone Regeneration. **Plos One**, v. 9, n. 9, p. 1–12, 2014.

LISSNER, L.J. *et al.* Short-Term Alterations in Behavior and Astroglial Function After Intracerebroventricular Infusion of Methylglyoxal in Rats. **Neurochemical research**, v.46, n.2, p.183-196, 2021.

LISSNER, L.J. *et al.* Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v.210, p.173273,2021.

LIU, Q. *et al.* Insulin-like growth factor 1 receptor-mediated cell survival in hypoxia depends on the promotion of autophagy via suppression of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **Molecular medicine reports**, v.15, n.4, 2136-2142, 2017.

LIU, S. *et al.* Exosomes derived from bone - marrow mesenchymal stem cells alleviate cognitive decline in AD - like mice by improving BDNF - related neuropathology. **Journal of Neuroinflammation**, v.19, n.1, p.35, 2022.

LIU, W. *et al.* Role of Exosomes in Central Nervous System Diseases. **Frontiers in Molecular Neuroscience**. v. 12, p.240, 2019.

LIU, X. *et al.* Acute formaldehyde exposure induced early Alzheimer-like changes in mouse brain. **Toxicology Mechanism and Methods**, v.28, n.2, p. 95-104, 2018.

LIVINGSTON, G. *et al.* Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. **Lancet**, v.396, n. 10248, p. 413-446, 2020.

LLORENS-MARTÍN M, TORRES-ALEMÁN I, TREJO JL. Exercise modulates insulin-like growth factor 1-dependent and -independent effects on adult hippocampal neurogenesis and behaviour. **Molecular and cellular neurosciences**, v.44, n. 2, p. 109-17, 2010.

LONG, Q. *et al.* Intranasal MSC-derived A1-exosomes ease inflammation, and prevent abnormal neurogenesis and memory dysfunction after status epilepticus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n.17, E3536-E3545, 2017.

LONG, Q. *et al.* Intranasal MSC-derived A1-exosomes ease inflammation, and prevent abnormal neurogenesis and memory dysfunction after status epilepticus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.114, n.17, e3536-e3545, 2017.

LOSURDO, M. *et al.* Intranasal delivery of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles exerts immunomodulatory and neuroprotective effects in a 3xTg model of Alzheimer's disease. **Stem cells translational medicine**, v. 9, n.9, p. 1068-1084, 2020.

LOU, G. *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. **Experimental & Molecular Medicine**, v.49, n.6, e346, 2017.

LU, Y. *et al.* Treadmill Exercise Exerts Neuroprotection and Regulates Microglial Polarization and Oxidative Stress in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease: JAD**, v.56, n.4, p.1469-1484, 2017.

LUO J. TGF- β as a Key Modulator of Astrocyte Reactivity: Disease Relevance and Therapeutic Implications. **Biomedicines**, v.10, n.5, p.1206, 2022.

LUO, H. *et al.* Apelin-13 Suppresses Neuroinflammation Against Cognitive Deficit in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Alzheimer's Disease Through Activation of BDNF-TrkB Signaling Pathway. **Frontiers in pharmacology**, v.10, p. 395, 2019.

LYKHMUS, O. *et al.* Mesenchymal Stem Cells or Interleukin-6 Improve Episodic Memory of Mice Lacking $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors. **Neuroscience**, v. 413, p. 31–44, 2019.

LYRA E SILVA, N.M. *et al.* Pro-inflammatory interleukin-6 signaling links cognitive impairments and peripheral metabolic alterations in Alzheimer's disease. **Translational Psychiatry**, v.11, p.251, 2021.

MATO, Y.L. Nasal route for vaccine and drug delivery: Features and current opportunities. **International journal of pharmaceutics**, v.572:118813,2019.

MCCABE, S. M.; ZHAO, N. Blood – Cerebrospinal Fluid Barrier in Maintaining Brain. 2021.

MCKEAN, N.E.; HANDLEY, R.R.; SNELL, R.G. A Review of the Current Mammalian Models of Alzheimer's Disease and Challenges That Need to Be Overcome. **Int. J. Mol. Sci.** 1, 22, 13168, 2022.

MEHLA, J; PAHUJA, M; GUPTA, Y.K. Streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease: selection of appropriate dose. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v. 33, n. 1, p. 17-21, 2013.

MEIRELLES, L.D.A. S, NARDI, N.B. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, *in vitro* expansion, and characterization. **British journal of haematology**, v.123, n.4, p. 702-11,2003.

MEYERS, E. A. *et al.* Commentary : Global Alzheimer ' s disease and Alzheimer ' s disease related dementia research funding organizations support and engage the research community throughout the COVID-19 pandemic. **Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association**, v.18, n.15, p.1067-1070,2022.

MIGNANI, S. *et al.* Non-invasive intranasal administration route directly to the brain using dendrimer nanoplateforms: An opportunity to develop new CNS drugs. **European journal of medicinal chemistry**, v. 209, p. 112905, 2021.

MINOSHIMA, S. *et al.* Brain [F-18]FDG PET for Clinical Dementia Workup: Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease and Other Types of Dementing Disorders. **Seminars in nuclear medicine**, v.51, n.3, p. 230-240, 2021.

MISHRA, S.K. *et al.* Intracerebroventricular streptozotocin impairs adult neurogenesis and cognitive functions via regulating neuroinflammation and insulin signaling in adult rats. **Neurochemistry international**, v. 113, p. 56-68, 2018.

MOBERLY, A.H. *et al.* Intranasal exposure to manganese disrupts neurotransmitter release from glutamatergic synapses in the central nervous system *in vivo*. **Neurotoxicology**, v.33, n.5, p.996-1004, 2012.

MOON, B.; CHANG, S. Exosome as a Delivery Vehicle for Cancer Therapy. **Cells**, v.11, n. 3, p.316, 2022.

MOREIRA, A.P. *et al.* The Methylglyoxal/RAGE/NOX-2 Pathway is Persistently Activated in the Hippocampus of Rats with STZ-Induced Sporadic Alzheimer's Disease. **Neurotoxicity research**, v.40, n.2, p.395-409, 2022.

MORI, I. Transolfactory neuroinvasion by viruses threatens the human brain. **Acta Virologica**, v. 59, n.4, p. 338-49, 2015

MOURI, A. *et al.* Inhibition of neprilysin by thiorphan (i.c.v.) causes an accumulation of amyloid beta and impairment of learning and memory. **Behavioural brain research**, v. 168, p. 83–91, 2006.

MULICA, P.; GRÜNEWALD, A.; PEREIRA, S. L. Astrocyte-Neuron Metabolic Crosstalk in Neurodegeneration: A Mitochondrial Perspective. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, p.668514, 2021.

NAGAYAMA, S; HOMMA, R; IMAMURA, F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits. **Frontiers in neural circuits**, 8:98, 2014.

NAKANO, M. *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve diabetes-induced cognitive impairment by exosome transfer into damaged neurons and astrocytes. **Scientific reports**, v.6, p. 24805, 2016.

NALIVAEVA, N. N. *et al.* Role of neprilysin in synaptic plasticity and memory. **Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova / Rossiiskaia akademiia nauk**, v. 106, n.10, p. 1191-1208, 2020.

NEVES, A.F. *et al.* Intravenous administration of mesenchymal stem cells reduces Tau phosphorylation and inflammation in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease. **Experimental neurology**, 341:113706,2021.

NG, T.K.S. *et al.* Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): A Systematic Review and Meta-Analysis. **International journal of molecular sciences**, v.20, n.2, p. 257, 2019.

NGUYEN, T. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intranasal Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers for Nose-to-Brain Delivery. **Pharmaceutics**, v.14, n.3, p. 572, 2022.

NIKMAHZAR,E. *et al.* Human chorionic gonadotropin attenuates amyloid- β plaques induced by streptozotocin in the rat brain by affecting cytochrome c-ir neuron density. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 22, n.2, p.166-172, 2019.

NOMBELA-ARRIETA, C; RITZ, J; SILBERSTEIN, L.E. The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. Nature Reviews. **Molecular Cell Biology**, v.12, n.2, p.126-31, 2011.

NOOR, N.A. *et al.* Effect of curcumin nanoparticles on streptozotocin-induced male Wistar rat model of Alzheimer's disease. **Metabolic brain disease**, v.37, n.2, p.343-357,2022.

NUNEZ-PARRA, A. *et al.* Expression and Distribution of Facilitative Glucose (GLUTs) and Monocarboxylate / H⁺ (MCTs) Transporters in Rat Olfactory Epithelia. **Chemical senses** ,v. 1, p. 771–780, 2011

OBLAK, A. L. *et al.* Comprehensive Evaluation of the 5XFAD Mouse Model for Preclinical Testing Applications: A MODEL-AD Study. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 13, p. 713726, 2021.

OGLE, OE; WEINSTOCK, RJ; FRIEDMAN, E. Surgical anatomy of the nasal cavity and paranasal sinuses. **Oral and maxillofacial surgery clinics of North America**, v.24, n.2, p. 155-66, 2012

PAIS, M. *et al.* Early diagnosis and treatment of Alzheimer's disease: new definitions and challenges. **Revista brasileira de psiquiatria: órgão oficial da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 42, n.4, p.431-441,2020.

PANDOLFO, P. *et al.* Caffeine regulates frontocorticostriatal dopamine transporter density and improves attention and cognitive deficits in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder. **European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v.23, n.4, p. 317-28, 2013.

PARK, J. *et al.* Streptozotocin induces Alzheimer's disease -like pathology in hippocampal neuronal cells via CDK5/Drp1-mediated mitochondrial fragmentation. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 4, n. 14, p. 235, 2020.

PARK, J. *et al.* The effect of chronic cerebral hypoperfusion on the pathology of Alzheimer's disease: a positron emission tomography study in rats. **Science Reports**, v.9; n.1, p.14102, 2019.

PARK,S.E *et al.*Exposure of Mesenchymal Stem Cells to an Alzheimer ' s Disease Environment Enhances Therapeutic Effects. **Stem cells international**, v. 2021, p. 6660186, 2021.

PELLERIN L, MAGISTRETTI PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.91, n.22, p.10625-9,1994.

PERETS,N. *et al.* Intranasal administration of exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorates autistic-like behaviors of BTBR mice. **Molecular Autism**, v.9:57, 2018.

PERSSON, E.; HENRIKSSON, J.; TJALVE, H. Uptake of cobalt from the nasal mucosa into the brain via olfactory pathways in rats. **Toxicology letters**, v. 145, n. 1, p. 19–27, nov. 2003.

PIRES, C.; RODRIGUES, M.; ALVES, G. Strategies to Improve Drug Strength in Nasal Preparations for Brain Delivery of Low Aqueous Solubility Drugs. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 3, p.588, 2022.

PREDIGER, R. D. S. *et al.* The risk is in the air: Intranasal administration of MPTP to rats reproducing clinical features of Parkinson's disease. **Experimental neurology**, v. 202, n. 2, p. 391–403, dez. 2006.

PRICE, B.R; JOHNSON, L.A; NORRIS,C.M. Reactive astrocytes: The nexus of pathological and clinical hallmarks of Alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**, v. 68, p. 101335, 2021

PUZZO, D. *et al.* Rodent models for Alzheimer's disease drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v.10, n.7, p.703-11, 2015

RANGANATH, S.H. *et al.* Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. **Cell Stem Cell**, v. 10, n.3, p.244-58, 2012.

RAPOSO, G; STOORVOGEL, W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. **The Journal of cell biology**, v. 200, n.4, p. 373-83,2013.

RAVELLI, K.G. *et al.* Intracerebroventricular Streptozotocin as a Model of Alzheimer's Disease: Neurochemical and Behavioral Characterization in Mice. **Neurotoxicity research**, v.31, n.3, p. 327-333, 2017

RELIGA, P. *et al.* VEGF significantly restores impaired memory behavior in Alzheimer's mice by improvement of vascular survival. **Scientific reports**, v.3, p. 2053,2013.

REZA-ZALDIVAR, E. E. *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote neurogenesis and cognitive function recovery in a mouse model of Alzheimer's disease. **Neural regeneration research**, v.14, n.9, p. 1626-1634, 2019

ROBINSON, S.R. Neuronal expression of glutamine synthetase in Alzheimer's disease indicates a profound impairment of metabolic interactions with astrocytes. **Neurochemistry International**, v. 36, n. 4-5, p. 471-82, p. 2000.

RODRIGUES, L. *et al.* Treadmill training restores spatial cognitive deficits and neurochemical alterations in the hippocampus of rats submitted to an intracerebroventricular administration of streptozotocin. *Journal of Neural Transmission*, v. 117, n.11, p. 1295-305, 2010.

RODRIGUES,L. *et al.* Hippocampal alterations in rats submitted to streptozotocin-induced dementia model are prevented by aminoguanidine. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 17, n.1, p.193-202, 2009.

RODRIGUES,L. *et al.* Streptozotocin causes acute responses on hippocampal S100B and BDNF proteins linked to glucose metabolism alterations. **Neurochemistry International**, v. 128, p.85-93, 2019.

RODRIGUEZ, M. *et al.*Intranasal drug delivery of small interfering RNA targeting Beclin1 encapsulated with polyethylenimine (PEI) in mouse brain to achieve HIV attenuation. **Scientific Reports**, v.7, n.1862, p. 1–10, 2017.

ROHDEN, F. *et al.* Functional recovery caused by human adipose tissue mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles administered 24h after stroke in rats. **International journal of molecular sciences**, v.22, n.23: 12860,2021.

ROJO, A. I. *et al.* Chronic inhalation of rotenone or paraquat does not induce Parkinson's disease symptoms in mice or rats. **Experimental neurology**, v. 208, n. 1, p. 120–126, 2007.

ROTTSTÄDT, F. *et al.* Reduced olfactory bulb volume in depression-A structural moderator analysis. **Human brain mapping**, v.39, n.6, p. 2573-2582, 2018.

ROY, A. *et al.* Cognitive dysfunction and anxiety resulted from synaptic downscaling, hippocampal atrophy and ventricular enlargement in i.c.v. streptozotocin injected male Wistar rats. **bioRxiv** .04.04.486747, 2022.

SABILALLAH, M. *et al.* Evidence for status epilepticus and pro-inflammatory changes after intranasal kainic acid administration in mice. **PLoS ONE**, v. 11, n. 3, p. 1–13, 2016.

SALAMA, A.; HEGAZY, R.; HASSAN, A. Intranasal Chromium Induces Acute Brain and Lung Injuries in Rats: Assessment of Different Potential Hazardous Effects of Environmental and Occupational Exposure to Chromium and Introduction of a Novel Pharmacological and Toxicological Animal Model. **PloS One**, v. 11, n. 12, p. e0168688, 2016.

SALIMI, M. *et al.* The olfactory bulb modulates entorhinal cortex oscillations during spatial working memory. **The Journal of Physiological Sciences**, v.1, n.1, p. 21, 2021.

SANCHEZ-MEJIAS, E. *et al.* Distinct disease-sensitive GABAergic neurons in the perirhinal cortex of Alzheimer's mice and patients. **Brain pathology**, v. 30, n.2, p. 345-363, 2020.

SANTAMARIA, G. *et al.* Intranasal delivery of mesenchymal stem cell secretome repairs the brain of Alzheimer's mice. **Cell death and differentiation**, v.28, n.1, p.203-218, 2021.

SARDAR SINHA, M. *et al.* Alzheimer's disease pathology propagation by exosomes containing toxic amyloid-beta oligomers. **Acta neuropathologica**, v.136, n. 1, p.41-56, 2018.

SCHAAR, J. *et al.* Considerations regarding a diagnosis of Alzheimer's disease before dementia : a systematic review. **Alzheimer's Research & Therapy**, v.14,n.1, p.31, 2022.

SCHOLL, J.N. *et al.* Characterization and antiproliferative activity of glioma-derived extracellular vesicles. **Nanomedicine**, v.15. n.10, p.1001-1018, 2020.

SCHOLL, J.N. *et al.* Extracellular vesicles in cancer progression: are they part of the problem or part of the solution? **Future Medicine**, v.15, n.26, p. 2625-2641, 2020.

SEŹDIKOWSKA, A; SZABLEWSKI, L. Insulin and Insulin Resistance in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **International Journal of Molecular Sciences**, v.22, n.18, p. 9987, 2021.

SELVARAJ, K; GROWTHAMARAJAN, K; KARRI, V.V.S.R. Nose to brain transport pathways an overview: potential of nanostructured lip carriers in nose to brain targeting. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v.46, n.8, p.2088-2095,2018.

SEO, H.G. *et al.* Neuroprotective effect of secreted factors from human adipose stem cells in a rat stroke model. **Neurological Research**, v.39, n. 12. p.1114-1124, 2017.

SHAFIQUE, S; DAS, J.M. Anatomy, Head and Neck, Maxillary Nerve. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.

SHI, M. *et al.* Impact of Anti-amyloid- β Monoclonal Antibodies on the Pathology and Clinical Profile of Alzheimer ' s Disease : A Focus on Aducanumab and Lecanemab. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 14, n. April, p. 1–11, 2022.

SHIGEMATSU, K. *et al.* Hypothesis: Intravenous administration of mesenchymal stem cells is effective in the treatment of Alzheimer's disease. **Medical hypotheses**, v. 150, p. 110572,2021.

SHONESY, B. C. *et al.* Central insulin resistance and synaptic dysfunction in intracerebroventricular-streptozotocin injected rodents. **Neurobiology Aging**, v. 33, n. 2, p. 430.e5-430.e18, 2012.

SIPOS,E. *et al.* Intranasal delivery of human beta-amyloid peptide in rats: effective brain targeting. **Cellular and molecular neurobiology**, v.30, n.3, p. 405-13,2010.

SKOK, M. Mesenchymal stem cells as a potential therapeutic tool to cure cognitive impairment caused by neuroinflammation. **World journal of stem cells**, v. 13, n. 8, p. 1072–1084, 2021.

SMIT, T.; BORCHELT, D. R.; HOL, E. M. Reactive astrocytes as treatment targets in Alzheimer ' s disease — Systematic review of studies using the APPswePS1dE9 mouse model. **Glia**, v. 69,n.8, p. 1852-1881, 2021.

SOLIMAN, H. M. *et al.* Exosomes in Alzheimer ' s Disease : From Being Pathological Players to Potential Diagnostics and Therapeutics. **International Journal of Molecular Sciences**, v.22, n.19, p.10794, 2021.

SORIAL ME, EL SAYED NSED. Protective effect of valproic acid in streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease mouse model: possible involvement of the cholinergic system. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v.390, n.6, p.581-593, 2017.

SOUZA, M. F. *et al.* Deltamethrin Intranasal administration induces memory, emotional and tyrosine hydroxylase immunoreactivity alterations in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 142, p. 297–303, 2018.

SQUILLARO, T; PELUSO, G; GALDERISI, U. Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update. **Cell Transplantation**, v.25, n.5, p.829-48, 2016

SRIVASTAVA, S.; AHMAD, R.; KHARE, S. K. European Journal of Medicinal Chemistry Alzheimer ' s disease and its treatment by different approaches : A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 216, p. 113320, 2021.

STEINKE, A. *et al.* Molecular composition of tight and adherens junctions in the rat olfactory epithelium and fila. **Histochemistry and cell biology**, v.130, n.2, p.339-61, 2008.

SWAROWSKY, A. *et al.* Glial alterations in the hippocampus of rats submitted to ibotenic-induced lesion of the nucleus basalis magnocellularis. **Behavioural Brain Research**, v.190, n.2, p.206-11, 2008.

SZUKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiological research/Academia Scientiarum Bohemoslovaca**, v.50, n.6, p. 537-46, 2001.

TANG, L. *et al.* Expression Profiles of Long Noncoding RNAs in Intranasal LPS-Mediated Alzheimer's Disease Model in Mice. **BioMed research international**, v. 2019, p. 9642589, 2019.

TANOS, T. *et al.* Isolation of putative stem cells present in human adult olfactory mucosa. **Plos One**, v.12, n.7, e0121151, 2017.

TATULIAN, SA. Challenges and hopes for Alzheimer's disease. **Drug discovery today**, v.27, n.4, p. 1027-1043,2022.

TIWARI,S. *et al.* Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. **International Journal of Nanomedicine**, v.14, p. 5541-5554, 2019.

TRAMONTINA, A. C. *et al.* The neuroprotective effect of two statins: Simvastatin and pravastatin on a streptozotocin-induced model of Alzheimer's disease in rats. **Journal of Neural Transmission**, v. 118, n. 11, p. 1641–1649, 2011.

TSCHUSCHKE, M. *et al* Inclusion Biogenesis, Methods of Isolation and Clinical Application of Human Cellular Exosomes. **Journal of Clinical Medicine**, v.9, n.2, p.436, 2020.

VENUGOPAL S, ANWER S, SZÁSZI K. Claudin-2: Roles beyond Permeability Functions. **International journal of molecular sciences**, v.20, n.22, p.5655,2019.

VERMA, M.; VATS, A.; TANEJA, V. Toxic species in amyloid disorders : Oligomers or mature fibrils. **Annals of Indian Academy of Neurology**, v. 18, n. 2, p.138-45, 2015.

VISWANATHAN, S. *et al.* Mesenchymal stem versus stromal cells: international society for cell & gene therapy (ISCT®) Mesenchymal stromal cell committee position statement on nomenclature. **Cytotherapy**, v.21, n.10, p. 1019-1024,2019.

VIZUETE, A. F. K. *et al.* GABA A Modulation of S100B Secretion in Acute Hippocampal Slices and Astrocyte Cultures. **Neurochemical Research**, v. 44, n. 2, p. 301–311, 2019.

WANG, F. *et al.* Association between olfactory function and inhibition of emotional competing distractors in major depressive disorder. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

WANG, S.S; JIA,J; WANG,Z. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles suppresses iNOS expression and ameliorates neural impairment in Alzheimer's disease mice. **Journal of Alzheimer's Disease-JAD**, v.61, n.3, p. 1005-10013, 2018.

WANG, X; GUOJIE, Y. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes reduce A β deposition and improve cognitive function recovery in mice with Alzheimer's disease by activating sphingosine kinase/sphingosine-1-phosphate signaling pathway. **Cell biology international**, v.45, n.4, p.775-784, 2021.

WARTCHOW, K.M. *et al.* Insulin Stimulates S100B Secretion and These Proteins Antagonistically Modulate Brain Glucose Metabolism. **Neurochemical Research**, v. 41, n. 6, p. 1420–1429, 2016.

WARTCHOW,K.M. *et al.* Insulin-producing cells from mesenchymal stromal cells: Protection against cognitive impairment in diabetic rats depends upon implant site. **Life Sciences**, v. 251, p. 117587, 2020

WEI , X. *et al.* Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. **Acta pharmacologica Sinica**, v.34, n.6, p. 747-54,2013.

WEI, H. *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-223 regulates neuronal cell apoptosis. **Cell Death and Disease**, v.11, n.4, p.290, 2020

WEI, Z. Z. *et al.* Intranasal delivery of bone marrow mesenchymal stem cells improved neurovascular regeneration and rescued neuropsychiatric deficits after neonatal stroke in rats. **Cell transplantation**, v. 24, n. 3, p. 391–402, 2015.

WESTWOOD, A.J. *et al.* Insulin-like growth factor-1 and risk of Alzheimer dementia and brain atrophy. **Neurology**, v.82, n.18, p.1613-9,2014.

WOLBURG, H. *et al.* Epithelial and endothelial barriers in the olfactory region of the nasal cavity of the rat. **Histochemistry and cell biology**, v.130, n.1, p. 127-40, 2009.

WRIGLEY, S.; ARAFA, D.; TROPEA, D. Insulin-Like Growth Factor 1: At the Crossroads of Brain Development and Aging. **Frontiers in cellular neuroscience** , v. 11, p. 14, 2017.

WU, Y.T. *et al.* The changing prevalence and incidence of dementia over time – current evidence. **Nature Reviews and Neurology**, v.13, n.6, p.327-339, 2017.

YAMAGISHI, H ;SHIGEMATSU, K. Perspectives on stem cell-based regenerative medicine with a particular emphasis on mesenchymal stem cell therapy. **JMA Journal**, v. 5, n.1, p.36-43, 2022

YEFROYEV, D. A.; JIN, S. Induced Pluripotent Stem Cells for Treatment of Alzheimer ' s and Parkinson ' s Diseases. **Biomedicines**, v. 10, n.2, p.208, 2022.

YOKEL, R. A. Direct nose to the brain nanomedicine delivery presents a formidable challenge. **Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v.14, n.2, e1767, 2022

ZANOTTO, C. *et al.* Glutamatergic Alterations in STZ-Induced Diabetic Rats Are Reversed by Exendin-4. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n.5, p.3538-3551, 2019.

ZAPPA VILLAR, M.F. *et al.* Intracerebroventricular streptozotocin induces impaired Barnes maze spatial memory and reduces astrocyte branching in the CA1 and CA3 hippocampal regions. **Journal of neural transmission**, v.125, n. 12, p. 1787-1803, 2018.

ZHANG, K. *et al.* Intranasal oxytocin administration but not peripheral oxytocin regulates behaviors of attachment insecurity: A meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 132, n. July, p. 105369, 2021.

ZHANG, S. *et al.* Glucose metabolic crosstalk and regulation in brain function and diseases. **Progress in neurobiology**, v.204, p. 102089, 2021.

ZHAO, Q. *et al.* Intranasal administration of human umbilical cord mesenchymal stem cells-conditioned medium enhances vascular remodeling after stroke. **Brain Research**, v. 1624, n. 99, p. 489–496, 2015.

ZHAO, X. *et al.* Mesenchymal stem cell therapies for Alzheimer ' s disease: preclinical studies. **Metabolic brain disease**, v.36, n.7, p. 1687-1695, 2021.

ZHONG, W. *et al.* Pathogenesis of sporadic Alzheimer ' s disease by deficiency of NMDA receptor subunit GluN3A. **Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association**, v.18, n.2, p.222-239,2022.

ZHU, W. *et al.* Insulin growth factor-1 gene transfer enhances neurovascular remodeling and improves long-term stroke outcome in mice. **Stroke**, v.39, n.4, p. 1254-61, 2008.

ZONG, X. *et al.* Transplantation of VEGF-mediated bone marrow mesenchymal stem cells promotes functional improvement in a rat acute cerebral infarction model. **Brain research**, v.1676, p. 9-18,2017.

ZOU, J. *et al.* Glutamine synthetase down-regulation reduces astrocyte protection against glutamate excitotoxicity to neurons. **Neurochem Int** , v.56, n.4, p. 577-84,2010.

ZULFIQAR, S.; GARG, P.; NIEWEG, K. Contribution of astrocytes to metabolic dysfunction in the Alzheimer ' s disease brain. **Biological chemistry**, v. 400, n. 9, p. 1113–1127, 2019.