

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E LONGEVIDADE

THAIS DA SILVA MACIEL

**O TRATAMENTO COM CURCUMINA REVERTE OS DÉFICITS DE MEMÓRIA
NAS TAREFAS DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS EM RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

ALFENAS/MG

2022

THAIS DA SILVA MACIEL

**O TRATAMENTO COM CURCUMINA REVERTE OS DÉFICITS DE MEMÓRIA
NAS TAREFAS DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS EM RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Longevidade da Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Fabiana Cardoso Vilela Giusti

ALFENAS/MG

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Maciel, Thais da Silva.

O tratamento com curcumina reverte os déficits de memória nas tarefas de reconhecimento de objetos em ratas ovariectomizadas / Thais da Silva Maciel. - Alfenas, MG, 2022.

92 f. -

Orientador(a): Alexandre Giusti Paiva.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Longevidade) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Cúrcuma. 2. Memória . 3. Menopausa. 4. Estrogênio. I. Paiva, Alexandre Giusti, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

THAÍS DA SILVA MACIEL

O TRATAMENTO COM CURCUMINA REVERTE OS DÉFICITS DE MEMÓRIA NAS TAREFAS DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS EM RATAS OVARECTOMIZADAS

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Longevidade pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Nutrição e Longevidade.

Aprovada em: 21 de novembro de 2022

Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Deidiane Elisa Ribeiro
Instituição: Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Bruna Kalil Cutti
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Giusti Paiva, Professor do Magistério Superior**, em 21/11/2022, às 11:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruna Kalil, Usuário Externo**, em 21/11/2022, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Deidiane Elisa Ribeiro, Usuário Externo**, em 21/11/2022, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0865749** e o código CRC **05D2DE0D**.

Dedico a finalização desta etapa à Deus, e aos meus pais Célia e Jair que sempre me apoiaram na conquista dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por terem me fortalecido ao longo desta caminhada e que foram o alicerce nos momentos de dificuldade.

Agradeço a minha família, em especial minha mãe Célia e meu pai Jair, que nunca mediram esforços para tornar este sonho em realidade, a minha madrinha Dirce, meu padrinho Ari, e todos os outros familiares que sempre estiveram presentes ao longo desta caminhada.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva e a Prof^a Dr^a Fabiana Cardoso Vilela Gisuti, pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa, pela contribuição na minha formação acadêmica, pela confiança e especialmente por terem me acolhido nos momentos difíceis.

Agradeço aos colegas de laboratório, ao Técnico José Reis e professores visitantes por toda a ajuda e companheirismo ao longo destes quase dois anos de convivência. Agradeço as meninas do “Lab Meeting” pela amizade, risadas, apoio e por contribuírem para o meu crescimento profissional.

Agradeço as amigas que foram construídas neste período, Flávia, Renata, Eduardo, Priscila, Lídia, Carol, Mari, Teresa, e em especial a minha amiga Leticia, que além de amiga foi a minha grande incentivadora e me ajudou nos momentos difíceis. Levarei vocês no meu coração sempre.

Agradeço aos meus amigos de longa data, pela compreensão, paciência e apoio ao longo desta jornada, Mayra, Thais, Mhayara, Marianne, Eliza, Carol, Livia, Ana Clara, Josi e Tulio.

Agradeço ao Programa Institucional de Bolsas de Pós-Graduação (PIB-PÓS) da Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG) e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Longevidade da Universidade Federal de Alfenas, por tornar-me Mestre.

E finalmente, com eterna gratidão e respeito agradeço aquelas que deram sua vida em prol da realização deste trabalho, as minhas “bebês” roedores, sem vocês nada seria possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A menopausa é caracterizada pela ausência de menstruação e a principal mudança fisiológica que o corpo da mulher sente é a queda do hormônio estrogênio. Os hormônios sexuais femininos estão intimamente ligados ao envelhecimento e a progressão de desordens neurológicas, o estrogênio no cérebro previne a deterioração das habilidades cognitivas, evidenciando assim, seu papel neuroprotetor. A cúrcuma vem despertando interesse nos últimos anos como um agente terapêutico devido às suas características anti inflamatórias. A curcumina, composto bioativo da cúrcuma, vem se destacando por apresentar um fator neuroprotetor, sendo assim, um potencial composto que contribui para a melhora das funções cerebrais. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da curcumina sobre a memória de reconhecimento de objetos em ratas ovariectomizadas. Foram utilizadas ratas da linhagem *Wistar* na idade adulta. Os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para retirada dos ovários (ovariectomia - OVX) ou submetidos à simulação de retirada do órgão (celiotomia - SHAM). Após a cirurgia os animais foram separados em grupos com 12 animais cada, para o teste comportamental de reconhecimento de objetos. A partir de 15 dias pós cirurgia as ratas OVX e SHAM curcumina (OVX-C e SHAM-C) receberam via gavagem a curcumina na dose de 50mg/Kg, ou veículo (OVX+V e SHAM+V), outros dois grupos foram os controles hormonais onde um grupo recebeu por via subcutânea 17 β -estradiol (10 μ g / kg) (OVX+E) e o outro grupo recebeu óleo de milho como controle (OVX+OM). A duração do tratamento com curcumina foi de dezessete dias, sendo que no 14º dia foi realizado o teste de campo aberto e no décimo quinto dia o teste de reconhecimento de objetos foi iniciado em cada grupo. Ao final dos testes foi realizada a eutanásia dos animais, onde, foram decapitados para retirada do hipocampo, para posterior análise da expressão das proteínas BDNF, Sinaptofisina e GFAP por *Western Blotting*, e retirados e pesados os tecidos adiposos e útero. Como resultado da caracterização do déficit de memória, o grupo ovariectomizado apresentou aumento do tempo de exploração ao objeto familiar e uma redução do tempo de exploração ao objeto novo em 2 e 24h no teste de reconhecimento de objetos, quando comparado ao grupo Sham. Quanto aos animais que receberam o tratamento com estradiol e com curcumina, foi notada uma melhora das memórias de curta e longa duração quando comparado ao grupo OVX+veículo. Em relação ao peso corporal é possível notar que os grupos submetidos à ovariectomia apresentaram maior ganho de peso em relação ao grupo sham, e o tratamento com estradiol mostrou-se capaz de reduzir o peso dos animais, já a curcumina não mostrou resultados quanto a redução do peso em animais OVX+C. O acúmulo de gordura não foi diferente em ambos os grupos, independentemente do

tratamento. Quanto ao útero, o grupo ovariectomizado apresentou menor peso, sendo a falta do estrogênio o fator que leva a involução deste órgão. Sobre a avaliação da expressão de proteínas BDNF, Sinaptofisina e GFAP não foram encontradas diferenças entre os grupos OVX e Sham. Podemos concluir que o tratamento com curcumina reverteu os déficits de memória observados nas tarefas de reconhecimento de objetos nas ratas ovariectomizadas.

Palavras chave: cúrcuma; memória; menopausa; estrogênio.

ABSTRACT

Menopause is characterized by the absence of menstruation and the main physiological change that a woman's body experiences is the drop in the hormone estrogen. Female sex hormones are closely linked to aging and the progression of neurological disorders, estrogen in the brain prevents the deterioration of cognitive abilities, thus evidencing its neuroprotective role. Turmeric has aroused interest in recent years as a therapeutic agent due to its anti-inflammatory properties. Curcumin, a bioactive compound of turmeric, has been highlighted for presenting a neuroprotective factor, thus, a potential compound that contributes to the improvement of brain functions. The objective of this work was to evaluate the effect of curcumin on object recognition memory in ovariectomized rats. Adult female Wistar rats were used. The animals were submitted to the surgical procedure for removal of the ovaries (ovariectomy - OVX) or submitted to simulated organ removal (celiotomy - SHAM). After surgery, the animals were separated into groups of 12 animals each, for the object recognition behavioral test. From 15 days after surgery, OVX and SHAM curcumin rats (OVX-C and SHAM-C) received curcumin via gavage at a dose of 50mg/Kg, or vehicle (OVX+V and SHAM+V), two other groups were hormonal controls where one group received 17 β -estradiol (10 μ g / kg) subcutaneously (OVX+E) and the other group received corn oil as a control (OVX+OM). The duration of treatment with curcumin was seventeen days, and on the 14th day the open field test was performed and on the fifteenth day the object recognition test was started in each group. At the end of the tests, the animals were euthanized, where they were decapitated to remove the hippocampus, for later analysis of the expression of BDNF, Synaptophysin and GFAP proteins by Western Blotting, and the adipose tissues and uterus were removed and weighed. As a result of the characterization of memory deficit, the ovariectomized group showed an increase in exploration time for the familiar object and a reduction in exploration time for the new object at 2 and 24 h in the object recognition test, when compared to the Sham group. As for the animals that received treatment with estradiol and curcumin, an improvement in short and long-term memories was noted when compared to the OVX+vehicle group. Regarding body weight, it is possible to note that the groups submitted to ovariectomy showed greater weight gain compared to the sham group, and the treatment with estradiol was able to reduce the weight of the animals, while curcumin did not show results in terms of reduction. of weight in OVX+C animals. Fat accumulation was not different in both groups, regardless of treatment. As for the uterus, the ovariectomized group had a lower weight, with the lack of estrogen being the factor that leads to the involution of this organ. Regarding the evaluation of the expression of BDNF,

Synaptophysin and GFAP proteins, no differences were found between the OVX and Sham groups. We can conclude that curcumin treatment reversed the memory deficits observed in object recognition tasks in ovariectomized rats.

Keywords: turmeric; memory; menopause; estrogen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais tarefas de avaliação do aprendizado e memória em roedores.....	17
Figura 2 - Delineamento experimental.....	33
Figura 3 – Demonstração do procedimento cirúrgico de ovariectomia e celiotomia.....	34
Figura 4 – Aparato referente ao teste de campo aberto.....	35
Figura 5 – Aparato utilizado para a execução do teste de reconhecimento de objetos.....	36
Figura 6 – Desempenho dos animais submetidos ao teste comportamental de campo aberto após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia.....	41
Figura 7 – Desempenho dos animais submetidos ao teste de reconhecimento de objetos de 2 e 24 horas após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia	42
Figura 8 – Acompanhamento do ganho de peso dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia durante o período do experimento.....	43
Figura 9 – Peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após 30 dias da realização da cirurgia	44
Figura 10 – Peso do útero que foi dissecado no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após 30 dias da realização da cirurgia.....	45
Figura 11 – Desenvolvimento comportamental no teste de campo aberto em animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 14 dias.....	46
Figura 12 – Desenvolvimento comportamental no teste de reconhecimento de objetos em animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.....	47
Figura 13 – Acompanhamento do ganho de peso dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.....	48

Figura 14 – Peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.....	49
Figura 15 – Peso do útero que foi dissecado no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.....	50
Figura 16 – Desempenho comportamental no teste de reconhecimento de objetos dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia e aos tratamentos com curcumina por 17 dias.....	51
Figura 17 – Desempenho comportamental no teste de reconhecimento de objetos dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia e aos tratamentos com curcumina por 17 dias.....	52
Figura 18 – Acompanhamento do ganho de peso dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia e ao tratamento com curcumina por 17 dias.....	53
Figura 19 – Peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina por 14 dias.....	54
Figura 20 – Peso do útero que foi dissecado no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina por 17 dias.....	55
Figura 21 - Efeito da cirurgia de ovariectomia sobre a expressão das proteínas BDNF, Sinaptofisina e GFAP após 30 dias da realização da cirurgia.....	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 MEMÓRIA E COGNIÇÃO.....	16
2.2 MENOPAUSA E DÉFICITS COGNITIVOS.....	19
2.3 MODELO DE OVARIECTOMIA EXPERIMENTAL E O DESENVOLVIMENTO DE DÉFICITS COGNITIVOS.....	21
2.4 O PAPEL DO ESTROGÊNIO NA MEMÓRIA.....	23
2.5 CURCUMINA E SEUS BENEFÍCIOS PARA A MEMÓRIA.....	26
3 JUSTIFICATIVA.....	29
4 OBJETIVOS.....	30
4.1 OBJETIVO GERAL.....	30
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
5 MATERIAL E METÓDOS	31
5.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	31
5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	31
5.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	32
5.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	33
5.5. TRATAMENTO COM CURCUMINA OU ESTRADIOL.....	34
5.6. TESTE DE CAMPO ABERTO.....	35
5.7. TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS.....	35
5.8. MEDIDAS BIOMÉTRICAS DOS ANIMAIS.....	37
5.9. EUTANÁSIA DOS ANIMAIS.....	37
5.10 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO PROTEICA.....	38

5.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
5.12. ASPECTOS ÉTICOS.....	39
6 RESULTADOS.....	40
6.1 EXPERIMENTO 1: AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CIRURGIA OVARIECTOMIA EM RELAÇÃO A CIRURGIA CELIOTOMIA.....	40
6.1.1 Teste de campo aberto.....	40
6.1.2 Teste de reconhecimento de objetos.....	41
6.1.3 Acompanhamento do ganho de peso.....	42
6.1.4 Peso dos tecidos adiposos.....	43
6.1.5 Peso do útero.....	44
6.2 EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM ESTRADIOL EM RATAS OVARIECTOMIZADAS.....	45
6.2.1 Teste de campo aberto.....	45
6.2.2 Teste de reconhecimento de objetos.....	46
6.2.3 Acompanhamento do ganho de peso.....	48
6.2.4 Peso dos tecidos adiposos.....	48
6.2.5 Peso do útero.....	50
6.3 EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM CURCUMINA EM RATAS OVARIECTOMIZADAS.....	50
6.3.1 Teste de campo aberto.....	51
6.3.2 Teste de reconhecimento de objetos.....	51
6.3.3 Acompanhamento do ganho de peso.....	53
6.3.4 Peso dos tecidos adiposos.....	54
6.3.5 Peso do útero.....	55

6.4 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS BDNF, SINAPTOFISINA E GFAP NO HIPOCAMPO POR WESTERN BLOTTING EM RATAS OVARIETOMIZADAS.....	55
7 DISCUSSÃO.....	57
7.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CIRURGIA OVARIETOMIA EM RELAÇÃO A CIRURGIA CELIOTOMIA.....	57
7.2 AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM ESTRADIOL EM RATAS OVARIETOMIZADAS.....	63
7.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM CURCUMINA EM RATAS OVARIETOMIZADAS.....	67
7.4 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS BDNF, SINAPTOFISINA E GFAP DO HIPOCAMPO DAS RATAS SUBMETIDAS A OVARIETOMIA E CELIOTOMIA.....	71
8 CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
ANEXO.....	92

1 INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a expectativa de vida da mulher brasileira no ano de 2019 era de 80,1 anos de idade (IBGE, 2020). Assim, pode-se observar que aproximadamente pelo menos um terço da vida a mulher viverá na fase pós menopausa, o que representa um maior tempo sem a proteção do estrogênio e o maior risco de desenvolver déficits cognitivos (PATRICIO *et al.*, 2020).

O envelhecimento por si só é um fator de risco para o desenvolvimento de déficits cognitivos devido ao estresse oxidativo e inflamação que aumentam com a idade e estes fatores reduzem a qualidade de vida e podem aumentar os gastos com tratamentos tanto para a família quanto para o sistema de saúde pública (SARKER; FRANKS, 2018).

Durante a adolescência, os ovários iniciam a produção dos hormônios responsáveis pelas características femininas, a partir disso, a mulher passa por vários ciclos em sua vida terminando-os com a chegada do climatério e posteriormente da menopausa (SELBAC *et al.*, 2018). Os hormônios mais relevantes durante toda esta fase são o estrogênio e a progesterona, que ficam responsáveis pelas características femininas. Com a chegada da menopausa ocorre a queda na produção destes hormônios e conseqüentemente também ocorrem alterações no corpo da mulher (CURTA *et al.*, 2020).

A Terapia de Reposição Hormonal (TRH) vem sendo há anos como uma das primeiras alternativas para minimizar os principais sintomas presentes na fase da menopausa, porém a mesma também pode apresentar alguns efeitos negativos no organismo feminino (JOHNSON *et al.* 2019). Com isso surge a necessidade do desenvolvimento de tratamentos alternativos aos farmacológicos e os estudos de nutracêuticos apontam resultados satisfatórios.

A cúrcuma é uma especiaria muito utilizada na culinária de vários países e além de proporcionar cor e sabor aos alimentos, é rica em antioxidantes e compostos anti-inflamatórios, conferindo propriedades protetoras para os sistemas cardiovascular e nervoso. A curcumina, principal composto bioativo da cúrcuma atua no cérebro reduzindo a inflamação e melhorando as funções sinápticas e na plasticidade neuronal, contribuindo assim com a memória e outras funções cognitivas (KOTHA; LUTHRIA, 2019). Portanto, torna-se relevante estudar o efeito da curcumina na modulação das alterações cognitivas induzidas pela ovariectomia experimental.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MEMÓRIA E COGNIÇÃO

A cognição, faz referência a tudo o que está relacionado com o conhecimento. Adquirir informações por meio da aprendizagem ou experiências e processamos através da percepção dos diferentes sentidos, e que permitem integrar todas essas informações para avaliar e interpretar. A cognição inclui diferentes processos cognitivos, como a aprendizagem, atenção, memória, linguagem, raciocínio, tomada de decisões, etc, que fazem parte do desenvolvimento intelectual e experiências. O processamento dessas informações influencia no comportamento e nas emoções e funciona em conjunto para integrar os novos conhecimentos e criar uma interpretação do mundo. Os processos cognitivos podem ocorrer de forma natural ou artificial, consciente ou inconsciente, mas geralmente são rápidos e funcionam constantemente (CROMWELL; PANKSEPP, 2011; SCREENA; ILANKUMARAN, 2018).

A memória é um dos processos cognitivos, possui complexidade em relação a capacidade de adquirir, reter e recordar informações na qual o cérebro armazena (ARGYROUSI *et al.*, 2020; SCHIMIDT *et al.*, 2019). As memórias guiam os comportamentos do ser humano de modo contínuo e são de grande importância para todos os organismos, incluindo todas as habilidades mentais e processos relacionados ao conhecimento, como a atenção, memória, raciocínio, compreensão e produção linguística, e o significado de cada lembrança está intimamente ligado à capacidade desta de se manter armazenada (KOL *et al.* 2020; LUINE, 2014).

Uma memória passa por três fases distintas para que se ocorra a consolidação da mesma. Na primeira fase, de aquisição, as informações sensoriais são processadas e codificadas precocemente no cérebro, a segunda fase, de consolidação, representa a capacidade de transformar uma memória instável para uma memória estável, ocorrem nesta fase duas etapas que dizem respeito ao tempo de consolidação ou “janela de consolidação”, sendo a curto e a longo prazo, onde a memória de curto prazo passa a ser intermediária e posteriormente esta mesma memória se consolida como de longo prazo. Já na fase final, de recuperação, é onde a memória já consolidada pode ser acessada e recuperada de seu armazenamento (SHEPPARD *et al.* 2018; KOL *et al.* 2020).

A memória pode ser classificada por memória declarativa ou explícita, que consiste na lembrança consciente e intencional de fatos, experiências vividas e conceitos (como conhecimentos gerais). A memória não declarativa ou implícita se refere a aprendizados

inconscientes adquiridas, como habilidades motoras, preferências/gostos e outras habilidades como digitar um texto, ligar um aparelho eletrônico, entre outros (SOUZA 2022; CAMMAROTA *et al.*, 2007).

A memória declarativa pode ser classificada pelo tempo de armazenamento da mesma, sendo a memória de trabalho que é pensada como um processamento da informação, sendo o tempo de duração desta apenas alguns segundos e não deixando nenhum traço de alterações bioquímicas no cérebro. Já a memória de curta duração tem duração de algumas horas (1 a 6 horas aproximadamente) e é dependente de atividade enzimática em pontos específicos como o hipocampo e córtices entorrinal e perirrinal. A memória de longa duração armazena a informação por horas, dias e até anos, esta utiliza um maior número de áreas no cérebro (como hipocampo, amígdala, cerebelo, entre outros) para o armazenamento (NEVES, 2020; NORRIS, 2017).

O processo de memória em roedores se difere quanto a subdivisão da memória explícita e implícita, onde ambas se dividem em associativa e não associativa. A memória associativa ocorre devido ao ambiente ser organizado de forma que possibilite a resposta do animal para determinado resultado. Já a memória não associativa ocorre por interação e resposta de estímulos. Assim, o teste de reconhecimento de objetos avalia a memória associativa e o teste de campo aberto avalia a memória não associativa (figura 1) (NEVES, 2020; QUILLFELDT, 2015).

Figura 1 - Principais tarefas de avaliação do aprendizado e memória em roedores.



Fonte: NEVES, 2020.

Nota: De forma didática, a memória em animais pode ser dividida em memória explícita e implícita e ambas podem ocorrer por associação ou não.

Segundo Furini *et al.*, (2020) “nos roedores, a tarefa de reconhecimento de objetos tornou-se um paradigma amplamente utilizado para avaliar a memória de reconhecimento, permitindo a investigação de mecanismos relacionados à neurobiologia da memória mamífera”. A estrutura cerebral que foi identificada como mais atuante no processo de consolidação e reconsolidação da memória no teste de reconhecimento de objetos é o hipocampo, principalmente a área CA1 (FURINI *et al.*, 2020).

Na memória de reconhecimento o papel do hipocampo é de contribuir para a memória declarativa, ele desempenha uma função importante no processamento das relações entre os itens e principalmente em representações vinculadas a informações contextuais. Os processos vinculados ao hipocampo associam-se pelo conceito de recolhimento episódico, já para a memória de reconhecimento de objetos individuais é realizada pelo processamento da familiaridade (BIRD, 2017).

O hipocampo é envolvido na formação e consolidação de novas memórias associativas, onde armazena, recupera e aplica memórias de diferentes padrões e de forma flexível a novas situações. O hipocampo atua como uma rede de associações automáticas, onde permite que através dos padrões que já existem possam completar novas memórias com base nas representações já armazenadas (YASSA; STARK, 2011).

Nos últimos anos a plasticidade neuronal em roedores foi bem documentada, enquanto no cérebro humano permanece em grande parte indireta. A neuroplasticidade implica em mecanismos distintos, entre eles a formação de neurônios recém-nascidos em áreas proliferativas como o hipocampo e a participação nos mecanismos de formação e consolidação da memória (AMATO; SPERANZA; VOLPICELLI, 2020).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) está intimamente relacionado aos fatores reguladores chave da plasticidade sináptica e o aprendizado e a memória dependerem de processos de sinalização e comunicação precisas entre os neurônios, fato este que faz com que a atenção sobre o BDNF venha aumentando nos últimos anos. O BDNF é pertencente a uma família de proteínas das neurotrofinas, e é o que se encontra em maior quantidade no cérebro adulto, principalmente na região do hipocampo (SASI *et al.*, 2017; KOWIAŃSKI *et al.*, 2018).

Segundo Palazs *et al.*, 2020 ‘As alterações na regulação de fatores neurotróficos específicos e seus receptores parecem estar envolvidas na neurodegeneração. As neurotrofinas

previnem a morte celular e apoiam a proliferação e maturação neuronal, aumentando o crescimento e a função dos neurônios afetados na doença de Alzheimer e doença de Parkinson'. A distribuição de BDNF dentro dos neurônios da região da banda basal, hipocampo e córtex frontal sugere que o BDNF pode apresentar um papel proeminente na função cognitiva (LUINE; FRANKFURT, 2012).

2.2. MENOPAUSA E DÉFICITS COGNITIVOS

A menopausa é caracterizada pela ausência de menstruação por um período de um ano, fato este que acontece quando a mulher está entre 45-55 anos de idade. Vale ressaltar que o processo de cessação da menstruação é um processo que leva alguns anos, período em que se iniciam as menstruações irregulares e outros fatores que caracterizam a fase da peri menopausa (KUPCEWICZ *et al.*, 2021).

O estrogênio é produzido nos ovários a partir do colesterol e atua como mediador químico em várias células do corpo, desencadeando respostas fisiológicas e emocionais e mantendo as funções normais do organismo feminino como: ditar características sexuais; desenvolvimento e funcionamento dos órgãos reprodutores, manutenção da gravidez e regulação do ciclo menstrual (SELBAC *et al.*, 2018).

A principal mudança fisiológica que o corpo da mulher sente na fase da menopausa é a queda do hormônio estrogênio e de seus derivados. Esta ausência pode trazer prejuízos na qualidade de vida, pois podem estar relacionados com alterações de humor e de sono, cansaço e desânimo, secura vaginal, perda de interesse sexual, ondas de calor e suores noturnos, osteoporose, distúrbios metabólicos, distúrbios cognitivos, entre outros (CURTA *et al.*, 2020).

A substituição fisiológica apropriada do estrogênio alivia os sintomas da menopausa, podendo melhorar vários aspectos na saúde da mulher (SULLIVAN, SARREL, NELSON, 2016). A Terapia de Reposição Hormonal (TRH) caracteriza-se por substituir os hormônios estrogênio e progesterona para reduzir e/ou melhorar alguns dos principais sintomas da fase de climatério e dos primeiros anos da menopausa. O principal sintoma que a TRH visa a melhora são os sintomas vasomotores, como as ondas de calor e suores noturnos, porém o mesmo também auxilia na prevenção da queda da densidade óssea e outros fatores (SCHEYER *et al.*, 2018).

Os hormônios sexuais femininos estão intimamente ligados ao envelhecimento e a progressão de desordens neurológicas, o estrogênio no cérebro previne a deterioração das habilidades cognitivas em mulheres mais velhas, evidenciando assim, seu papel neuroprotetor (ECHEVERRIA *et al.*, 2021).

Sabe-se que o estrogênio participa no processo de aprendizagem e memória através dos receptores encontrados em diversas partes do cérebro, inclusive nas regiões de importância de consolidação de memórias. Os estrogênios afetam de maneira rápida os potenciais pós-sinápticos das membranas e sistemas de neurotransmissores, isso faz com que a ativação e consolidação da memória seja estabelecida de forma mais rápida e efetiva. (SHEPPARD *et al.* 2018).

Os receptores de estrogênio estão presentes em grandes quantidades em algumas estruturas neurais do cérebro como o hipotálamo, onde é o centro termorregulador primário e regulador dos ciclos circadianos, e também em regiões de importância para o aprendizado e memória como o córtex pré-frontal, hipocampo, amígdala e córtex cingulado posterior, estes receptores se encontram na membrana plasmática, núcleo e mitocôndrias das células. O cérebro tenta compensar a queda do estrogênio, porém em algumas mulheres esta adaptação é reduzida ou inexistente. Com a redução do hormônio, conseqüentemente, estima-se que algumas dessas funções sejam prejudicadas e inclusive algumas mulheres já relataram tal acontecimento, porém as pesquisas ainda não são conclusivas a respeito e ressalta-se a necessidade de mais estudos (MORGAN *et al.*, 2018; SCHEYER *et al.*, 2018).

Um grande estudo de coorte de base populacional teve como objetivo associar os fatores reprodutivos e hormonais e o risco de comprometimento cognitivo em mulheres que passaram pela fase da menopausa natural, o mesmo contou com a participação de 8.222 mulheres com idade entre 45-74 anos, onde responderam um questionário inicial com dados demográficos, histórico de saúde e medidas antropométricas, após isto as participantes receberam três visitas, de seis em seis anos, dos pesquisadores para o acompanhamento e aplicação do teste de função cognitiva (Mini Exame do Estado Mental Modificado de Cingapura). Como conclusões os autores relacionaram que o menor tempo reprodutivo foi um fator de risco para o desenvolvimento de comprometimento cognitivo a longo prazo e que o uso de contraceptivos e/ou de terapia de reposição hormonal foi um fator protetor contra o prejuízo cognitivo (SONG *et al.*, 2020).

Im e colaboradores (2019) objetivou em seu estudo explorar as diferenças raciais/étnicas nos sintomas cognitivos das mulheres de meia-idade e determinar os múltiplos fatores que influenciaram os sintomas cognitivos destas. Incluiu-se neste estudo mulheres de idade entre 40-60 anos das diferentes etnias (316 não hispânicos [NH] brancos, 255 hispânicos, 250 afro-americanos do NH e 233 asiáticos do NH) sendo 1.054 participantes no total, este projeto foi parte de uma pesquisa maior e utilizou somente os dados voltados para a saúde, características da menopausa e sobre o Índice de Sintomas Cognitivos para Mulheres de Meia-Idade, do questionário aplicado nas entrevistadas. Como principais resultados os autores relataram que existiam diferenças significativas entre as etnias e a gravidade de sintomas cognitivos, as participantes da etnia asiática não hispânica tiveram um menor score quando relacionadas com as outras etnias sobre a gravidade de sintomas cognitivos. E as condições sociodemográficas, de saúde e período em que passou pela menopausa também influenciaram positivamente o agravamento dos sintomas cognitivos em todos os grupos.

2.3 MODELO DE OVARIECTOMIA EXPERIMENTAL E O DESENVOLVIMENTO DE DÉFICITS COGNITIVOS

Para a mulheres a senescência reprodutiva é chamada de menopausa, nos roedores esta fase é denominada de estropausa, onde os ciclos irregulares se iniciam a partir do nono mês até um ano de idade, após isto as ratas entram em estado de estro permanente (CAROLINO *et al.*, 2019).

A ovariectomia é uma cirurgia que consiste na retirada dos ovários para a simulação da falta dos hormônios sexuais femininos. O uso desta técnica é vantajoso pois possibilita resultados semelhantes a menopausa em um menor espaço de tempo e o uso de roedores como modelos animais é amplamente utilizado em pesquisas, devido a sua semelhança das estruturas anatômicas com a dos humanos (RAMOS, 2018).

A realização deste modelo de indução de menopausa permitiu um maior conhecimento sobre os mecanismos de atuação dos hormônios no organismo e principalmente os efeitos causados pela falta dos mesmos. A ovariectomia pode ser realizada de três modelos diferentes: uma única incisão cirúrgica; incisões dorsolaterais duplas e uma única incisão transversa ventral na parte média do abdômen (SOUZA *et al.*, 2019).

Este modelo é o mais bem caracterizado e relatado para experimentação dos efeitos do hipoestrogenismo em ratas da linhagem Wistar em idade adulta. A ovariectomia é o modelo que mais se assemelha às características da menopausa em mulheres (MEDINA-CONTRERAS *et al.*, 2020).

Segundo FIORIN (2019), o uso da ovariectomia vem sendo amplamente utilizado para pesquisas translacionais. Através de cirurgia em animais jovens-adultos, saudáveis e em fase de reprodução. Após uma ou duas semanas os níveis do hormônio estrogênio se encontram nos mais baixos níveis, sendo o período ideal para se iniciar as intervenções.

O estudo de Khalegui *et al.*, (2021) visou associar dois modelos diferentes de estresse em ratas ovariectomizadas e o impacto do estrogênio nos comportamentos cognitivos. Neste estudo foram utilizadas ratas com 21-22 semanas de vida que foram submetidas a cirurgia ovariectomia ou a cirurgia controle. Posteriormente foram divididas em grupos experimentais, onde cinco grupos foram expostos ao estresse físico, cinco grupos ao estresse psicológico e dois grupos não foram expostos a nenhum tipo de estresse, (ovx e sham controles). Foram realizados o teste de campo aberto, labirinto em cruz elevado, labirinto aquático de Morris e teste de esQUIVA passiva. Como conclusão os autores encontraram que a exposição aos diferentes tipos de estresse contribuiu para o desenvolvimento dos distúrbios cognitivos e nas ratas ovariectomizadas os sintomas foram acentuados quando comparados ao grupo controle.

Outro estudo visou analisar a influência do estrogênio na reversão do déficit cognitivo em ratos expostos ao etanol. Foram utilizados ratos da linhagem Sprague Dawley machos e fêmeas em idade pós-púbere. Os grupos testes receberam uma injeção intraperitoneal aguda de etanol ou veículo e posteriormente receberam 2µg de Benzoato de estradiol (EB) com ou sem 500µg de progesterona em 100µl de óleo de amendoim, um grupo de machos recebeu o hormônio feminino e um grupo fêmeas foi submetido a ovariectomia para controlar flutuações hormonais. Após isto, os animais foram treinados no paradigma do condicionamento do medo e 24 horas após o treinamento todos os ratos foram testados para o condicionamento do medo contextual. Como principais resultados foram encontrados que os efeitos do etanol na memória contextual do medo são específicos do sexo e influenciados pelo hormônio estrogênio, a administração de estrogênio exógeno em ratos machos melhorou a memória e introduziu a sensibilidade ao déficit de memória induzido pelo etanol (SIRCAR, 2018).

Wada e colaboradores (2018) desenvolveram um modelo animal de obesidade pós menopausa para avaliar comportamentos do tipo ansioso e depressivo. Foram utilizados

camundongos que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e cirurgia controle, além de, contar também com o grupo de reposição hormonal de estrogênio. Os grupos consumiram durante o período de experimento uma dieta rica em gordura. Ao final, foram realizados os testes de campo aberto, caixa claro-escuro, nado forçado e suspensão da cauda. Entre os resultados encontrados, os autores concluíram que o nível hipotalâmico da proteína BDNF tendeu a reduzir em camundongos ovariectomizados e que consumiam a dieta rica em gordura, mas o tratamento com estrogênio não aumentou.

Um estudo teve como objetivo investigar os efeitos da privação de estrogênio na memória e na expressão de proteínas relacionadas à memória, em diferentes momentos após a ovariectomia. O experimento foi realizado com camundongos submetidos a cirurgia para a retirada dos ovários ou a cirurgia de simulação e após 2, 4 e 8 semanas os camundongos de cada grupo foram selecionados aleatoriamente para exame comportamental. Os testes comportamentais realizados foram: reconhecimento de objetos, labirinto aquático de Morris e o teste de evitação passiva. Como principais resultados, os autores encontraram que após oito semanas da realização da ovariectomia já é possível observar alterações cognitivas nos animais e que estas alterações são devidas à regulação negativa da via de sinalização BDNF/TrkB no estágio inicial pós-ovariectomia (TAO *et al.*, 2020).

2.4 O PAPEL DO ESTROGÊNIO NA MEMÓRIA

Segundo Luine e Frankfurt, (2012):

“A cognição, ou seja, aprendizado e memória, sofre mudanças significativas ao longo da vida em machos e fêmeas, sejam eles humanos, primatas não humanos ou roedores. A capacidade de aprender e lembrar começa cedo durante o período de desenvolvimento, é moldada por influências hormonais durante a puberdade, atinge seu ápice durante a idade adulta e finalmente declina com a idade avançada.”

Com relação ao estado reprodutivo e as flutuações hormonais que ocorrem nas fêmeas, diferentemente dos machos, permite-se que estas sejam um modelo fisiológico para melhor elucidar os efeitos em relação às influências hormonais nos processos cognitivos. Um dos grandes desenvolvimentos na neuroendocrinologia comportamental foi a compreensão da participação dos hormônios esteróides sexuais que agem de forma rápida na regulação de função celular e comportamento (LUINE; FRANKFURT, 2012; FRICK; KIM, 2018).

Efeitos sobre algumas funções neurais têm sido encontrados após alterações no estrogênio circulante, principalmente após a ovariectomia, durante o ciclo menstrual e a menopausa, e após a administração de hormônios para indivíduos gonadectizados. O principal estrogênio ovariano, estradiol (17β -estradiol), está implicado na regulação de longo prazo da cognição, humor e alguns transtornos psiquiátricos, sendo que esses efeitos podem se manifestar em dias ou meses. Recentemente, os estrogênios têm sido mostrados como afetam as funções neurais, incluindo aprendizado e memória, fornecendo suporte para a hipótese de que eles agem como neuroesteroides (LUINE, SERRANO, FRANKFURT, 2018).

Os efeitos do estrogênio na melhora da memória e cognição são mediados em algumas regiões do cérebro, porém, as mais estudadas são o córtex pré-frontal medial e hipocampo. O hipocampo é uma área rica em receptores de estrogênio (ER) e, portanto, é uma região altamente sensível às flutuações deste hormônio. Nestas áreas os efeitos são mediados através da ligação aos receptores nucleares clássicos que são encontrados em duas formas: o receptor de estrogênio alfa ($ER\alpha$) e o receptor de estrogênio beta ($ER\beta$) (LUINE, 2014).

Os hormônios esteróides sexuais podem agir a curto prazo (ou de forma rápida) ou a longo prazo. Os efeitos a longo prazo, que também são chamados de efeitos clássicos, estão relacionados às características femininas e, na idade reprodutiva, aos efeitos cíclicos sobre a ovulação. O mecanismo clássico implica em mudanças genômicas, ou seja, transcrição genética, pelo qual o complexo estradiol-ER é translocado para o núcleo onde se liga a elementos de resposta de estrogênio (EREs) em várias sequências de DNA ou co-recruta outros fatores de transcrição (FRICK; KIM, 2018; FINNEY *et al.*, 2020).

Já no que diz respeito aos efeitos a curto prazo, ou não clássicos, onde envolvem efeitos rápidos e não genômicos do estradiol que se liga às ERs de membrana, que darão início às cascatas de sinalização e sistemas de segundo mensageiro. As ações rápidas proporcionam ao estrogênio a capacidade de alterar as ações geradas pelo aprendizado na excitabilidade neuronal que levam à consolidação da memória. Esses efeitos rápidos podem ser mediados pelo estrogênio, sugerindo que o mesmo pode ser produzido dentro do hipocampo e outras regiões cerebrais, onde pode funcionar, de outras formas, como neurotransmissores (FRICK; KIM, 2018; FINNEY *et al.*, 2020).

Anteriormente acreditava-se que o estrogênio era produzido exclusivamente pelos ovários, porém, recentemente foi elucidado que o mesmo também pode ser produzido em algumas regiões do cérebro, como: hipotálamo, amígdala, hipocampo e córtex, que possuem a

enzima biossintética aromatase, que converte testosterona em estrogênio. A aromatase é expressa em neurônios nas regiões cerebrais citadas, com localização subcelular observada na soma celular e neurites, principalmente em terminais pré-sinápticos, levantando a possibilidade de que o estrogênio derivado do neurônio possa funcionar como um neuromodulador no cérebro (LU *et al.*, 2019).

O estrogênio produzido periférico e localmente estão disponíveis para se ligarem às ERs do hipocampo. Foi descrito que o ER α é mais abundante do que o ER β no hipocampo de camundongos ovariectomizados. No tecido esquelético que também é receptível de estrogênio, foi demonstrado que a ovariectomia aumenta a ER α , mas não a expressão ER β e mRNA em camundongos. Dentro do neurônio, a expressão ER é difundida em toda somata, citoplasma, núcleo, dendritos, colunas e sinapse, e representa um papel modulatório local de estradiol na função neuronal (FINNEY *et al.*, 2020).

Segundo Bian *et al.*, (2014) É validado que a plasticidade sináptica hipocampal é necessária para a retenção do status normal e fisiológico das funções cognitivas. Está bem estabelecido que o estrogênio gonadal media a flutuação na densidade de sinapse no hipocampo durante o ciclo reprodutivo. Juntos o estrogênio gonadal e o estrogênio sintetizado hipocampo são indicados para melhorar a plasticidade sináptica neuronal. No entanto, em contraste com a ação lenta do estrogênio gonadal, o estrogênio hipocampal pode contribuir substancialmente para a função do hipocampo, em particular, para agir local e rapidamente modulando a plasticidade sináptica.

O BDNF contribui para a regulação da maturação e sobrevivência neuronal, arborização axonal e dendrítica e manutenção da densidade da coluna vertebral dendrítica, ele é conhecido por desempenhar um papel importante no desenvolvimento, manutenção e plasticidade do cérebro, especialmente nessas regiões, pode contribuir para a função cognitiva. Acredita-se que o estradiol regula os níveis de BDNF no cérebro, porém, o mecanismo pelo qual causa essas alterações na morfologia cerebral e na função cognitiva ainda não são bem assimilados (LUINE; FRANKFURT, 2012).

O estudo de Zsido, *et al* (2019) visou avaliar se o tecido adiposo visceral (IVA) modera a associação entre a idade e a estrutura da rede cerebral e investigar se o estradiol modera a associação entre o IVA e a estrutura da rede cerebral. O estudo contou com 974 adultos cognitivamente saudáveis, sendo que destes, 473 eram mulheres e 501 homens, que participaram de um estudo de coorte maior. Foram realizadas análises de níveis de estradiol de

soro de sangue em jejum e o volume visceral de tecido adiposo a partir de ressonância magnética. Como principais resultados, os autores encontraram que, o IVA esteve associado negativamente ao envelhecimento com a covariância da rede cerebral para as mulheres e homens. Quanto ao estradiol, observou-se que o nível deste esteve associado à redução da associação negativa do IVA com a covariância de rede em mulheres, sem associação significativa em homens. No subgrupo feminino de meia-idade (35-55 anos), os baixos níveis de estradiol foram associados à menor covariância da rede de memória e pior desempenho de memória, relatando assim uma associação entre IVA, estradiol e redes cerebrais estruturais como um mecanismo ao declínio cognitivo das mulheres.

2.5. CURCUMINA E SEUS BENEFÍCIOS PARA A MEMÓRIA

Além do envelhecimento, o estado pós-menopausa pode contribuir independentemente para um aumento na inflamação em mulheres mais velhas. A inflamação contribui para o desencadeamento de várias doenças que afetam idosos, incluindo osteoporose, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e neurodegeneração (SHIEH *et al.*, 2020).

É crescente o número de estudos que visam a redução dos efeitos inflamatórios e oxidativos da neurodegeneração, com o propósito de desacelerar o início da demência. Em razão disso, compostos anti-inflamatórios e antioxidantes potencialmente acessíveis ao cérebro, podem fornecer os meios para implementar essa estratégia terapêutica de retardar o aparecimento de prejuízos da memória atuando como agentes neuroprotetores (CHO *et al.*, 2020; DAI *et al.*, 2018; MAZZANTI; GIACOMO, 2016; SERAFINI *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018).

A neuroproteção é um efeito que pode resultar na recuperação ou regeneração do Sistema Nervoso Central, incluindo células, estruturas e função. Frente a isso, nas últimas décadas os suplementos dietéticos, nutracêuticos e alimentos funcionais ganharam importante popularidade mundial, devido ao aumento do interesse em produtos naturais e seus potenciais terapêuticos, incluindo o neuroprotetor (KHOTA; LUTHRIA, 2019; SCAPAGNINI *et al.*, 2011).

Algumas plantas com propriedades antioxidantes e antiinflamatórias são consideradas nutracêuticas e com isto contribuem em situações que caracterizam inflamação e estresse oxidativo como doenças neurodegenerativas e outras condições neurológicas. Dentre estas

plantas podemos citar: gengibre, cúrcuma, oreganillo, broto de alfafa, entre outras (ECHEVERRIA *et al.*, 2021). Porém, poucos compostos foram comprovados quanto a sua eficácia e segurança para tal aplicação clínica (SCAPAGNINI *et al.*, 2011).

A propriedade neuroprotetora da *Cúrcuma longa* (Cúrcuma) vem sendo amplamente investigada devido a mesma ser considerada um alimento funcional, ou seja, com propriedades que vão além do seu valor nutricional (REIS, 2018).

A cúrcuma é uma planta originada da Índia e que atualmente é cultivada em vários países, é muito utilizada na culinária como tempero e como corante natural. Porém nos últimos anos a cúrcuma vem despertando interesse como um agente terapêutico devido às suas características anti inflamatórias, anti envelhecimento, antidiabético, entre outros. A curcumina é o composto bioativo da cúrcuma mais abundante e responsável por todas estas características (KOTHA; LUTHRIA, 2019).

Em relação aos seus efeitos benéficos para a saúde, a curcumina vem se destacando por modular as vias moleculares que melhoram o metabolismo da glicose e dos lipídeos e reduzir a inflamação e atuar nas enzimas antioxidantes, atua também inibindo a acumulação de A β e tau em modelos animais e aumenta as mitocôndrias e a função sináptica. Sabe-se que a resistência à insulina e o diabetes mellitus propiciam um ambiente favorável a algumas desordens cognitivas e é neste cenário que a curcumina contribui para a reversão e/ou prevenção destes (KIM; CLIFTON, 2018)

Lee e colaborador (2018) em suas pesquisas na literatura encontraram que a curcumina apresentou característica de reverter as mudanças cognitivas e comportamentais induzidas pelo estresse em ratos. E em ratas apresentou proteção quanto a perda óssea e a melhora da memória espacial que é afetada pelo envelhecimento.

Estudos atuais indicam que o efeito neuroprotetor da curcumina é decorrente da sua capacidade de regular a resposta imune à infecção visando múltiplas vias moleculares, incluindo a proteína ativadora 1 e os fatores NF-kB e Nrf2, que são respectivamente conduzidos para inibir a inflamação e o estresse oxidativo. O Nrf2 é reconhecido como o principal fator responsivo ao estresse que melhora os efeitos adversos de diferentes estressores como inflamação, estresse oxidativo, proteínas mal dobradas e metabólitos excessivos (JIANG *et al.*, 2020; KARIMI *et al.*, 2019; TABRIZI *et al.*, 2019; Xie *et al.*, 2017).

No estudo de BELVIRANLI *et al.*, 2013, utilizou-se ratas *Wistar* idosas com aproximadamente 20 semanas de vida. Seu objetivo foi analisar os efeitos da curcumina sobre a memória espacial. As ratas foram separadas em dois grupos, onde recebiam respectivamente

por via gavagem a curcumina na dose de 300 mg/kg e o grupo controle que recebia o veículo por um período de 12 dias. Para analisar os efeitos na memória espacial foi realizado o teste de labirinto aquático de Morris. Os autores concluíram que a suplementação com curcumina melhorou as funções cognitivas e a peroxidação lipídica do tecido cerebral das ratas quando comparadas com o grupo que não recebeu o composto.

Uma revisão narrativa de estudos pré-clínicos e clínicos nos últimos 10 anos sobre a relação da curcumina e déficits cognitivos com animais e com humanos, encontrou que, os estudos demonstram resultados consistentes sobre a eficácia do tratamento com a curcumina e a sua relação com os déficits cognitivos, já estudo clínicos apesar de demonstrarem resultados promissores ainda necessitam de maiores elucidações sobre o tema (SARKER; FRANKS, 2018).

Outro estudo buscou avaliar os efeitos do extrato bruto de cúrcuma sobre a aprendizagem espacial e memória. Utilizou-se ratas *Wistar* ovariectomizadas, onde os grupos que foram submetidos á ovariectomia foram tratados com o extrato bruto na dose de 250 ou 500 mg/kg de peso corporal via gavagem e o grupo de reposição hormonal recebeu 17 β -estradiol (10 μ g/kg de peso corporal, por via subcutânea) por um período de 30 dias, quando foi realizado o primeiro teste de labirinto aquático de Morris. Subsequentemente foram realizados mais dois testes de labirinto aquático de Morris nos dias 65 e 92 e após 20 dias do terceiro teste foi realizado o teste de sonda e posteriormente os animais foram eutanasiados. Como resultados, os autores encontraram que os animais tratados com o extrato de cúrcuma e com a reposição hormonal apresentaram proteção do declínio da função cognitiva quando comparados com os grupos controle (SU *et al.*, 2010).

3 JUSTIFICATIVA

Com o processo de transição demográfica vivido nos últimos anos em todo mundo e a expectativa de vida das mulheres ser considerada maior em relação aos homens, faz com que a mulher viverá aproximadamente um terço de sua vida na fase de pós menopausa e sem o fator protetor que o hormônio estrogênio proporciona. Os déficits cognitivos são relatados por muitas mulheres que já passaram pela menopausa e os prejuízos destes a longo prazo são iminentes.

A curcumina vem se destacando em muitos estudos relacionados a função cognitiva e por apresentar um fator neuroprotetor, sendo assim, um potencial composto bioativo que contribui para a melhora das funções cerebrais e auxilia na prevenção de doenças do sistema neuronal.

Observou-se uma carência na literatura científica de estudos que relacionam o efeito da curcumina na modulação de alterações cognitivas pós ovariectomia experimental, o que torna este estudo inédito e de grande relevância.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como principal objetivo avaliar o efeito da curcumina sobre a memória de reconhecimento de objetos em ratas ovariectomizadas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Experimento 1:

- a) Investigar o efeito da ovariectomia sobre a memória de reconhecimento de objetos;
- b) Investigar o efeito da ovariectomia sobre o ganho de peso;
- c) Investigar o efeito da ovariectomia sobre o acúmulo de tecido adiposo;
- d) Investigar o efeito da ovariectomia para a involução do útero;
- e) Investigar o efeito da ovariectomia sobre a expressão das proteínas BDNF, Sinaptofisina e GFAP.

Experimento 2:

- a) Avaliar a ação do estradiol quanto a reversão do déficit de memória de reconhecimento de objetos causado pela ovariectomia;
- b) Avaliar o tratamento com estradiol em relação ao ganho de peso causado pela ovariectomia;
- c) Avaliar o tratamento com estradiol em relação ao acúmulo de tecido adiposo causado pela ovariectomia;
- d) Avaliar o tratamento com estradiol em relação ao peso do útero nos animais ovariectomizados.

Experimento 3:

- a) Avaliar o tratamento com a curcumina quanto a reversão do déficit de memória de reconhecimento de objetos causados pela ovariectomia;
- b) Avaliar o tratamento com curcumina em relação ao ganho de peso causado pela ovariectomia;
- c) Avaliar o tratamento com curcumina em relação ao acúmulo de tecido adiposo causado pela ovariectomia;
- d) Avaliar o tratamento com curcumina em relação ao peso do útero nos animais ovariectomizados.

5 MATERIAL E METÓDOS

5.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas ratas adultas (*Rattus norvegicus*) da raça Wistar, com 9 semanas de vida aproximadamente (n=12/grupo). Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais - UNIFAL-MG. As ratas foram alojadas no Biotério Setorial do Laboratório de Neuroimunomodulação, situado na Unidade Educacional II da UNIFAL-MG, campi de Alfenas. Após a chegada no biotério, os animais passaram por um período de ambientação de sete dias, alocadas em caixas de polipropileno (quatro animais por caixa), adequadas à sua manutenção em sala climatizada ($21 \pm 2^\circ \text{C}$) em fotoperíodo de 12 horas e receberam ração comercial (Nuvilab®) e água ad libitum. Todos os procedimentos experimentais foram submetidos a apreciação pela Comissão de Ética no Uso de Animais c da UNIFAL-MG.

5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Após os procedimentos cirúrgicos os animais foram divididos de acordo com os objetivos do estudo, sendo um n=12 animais para cada grupo, assim, os grupos experimentais foram:

Experimento 1:

- a) Sham-veículo (SHAM+V): n=12;
- b) Ovx-veículo (OVX+V): n=12;

Experimento 2:

- a) Ovx-estradiol (OVX+E): n=12;
- b) Ovx- veículo (OVX+OM): n=12.

Experimento 3:

- a) Sham-veículo (SHAM+V): n=12;
- b) Sham-curcumina (SHAM+C): n=12;
- c) Ovx-veículo (OVX+V): n=12;

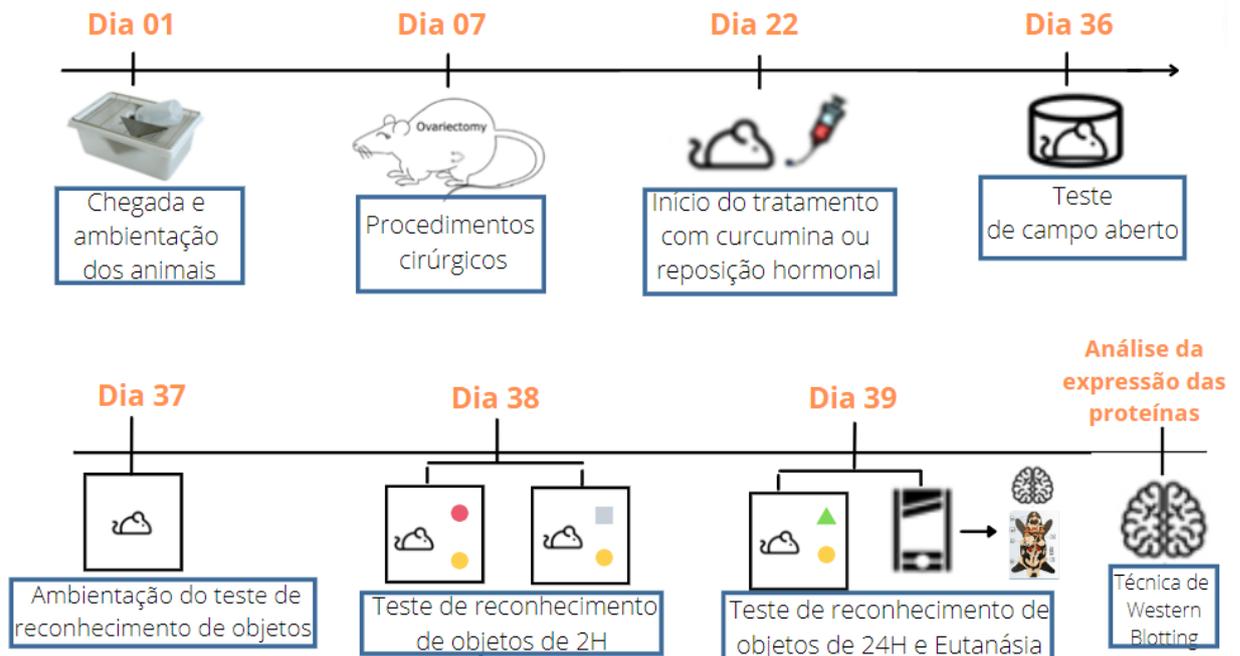
d) Ovx-curcumina (OVX+C): n=12;

Sendo que, todos grupos experimentais foram submetidos às mesmas condições de aclimação, tempo de experimento e testes comportamentais, sendo o teste de campo aberto e de reconhecimento de objetos.

5.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais advindos do biotério central da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, passaram por um período de sete dias de ambientação ao laboratório de Neuroimunomodulação. Após a ambientação, foram realizados os procedimentos cirúrgicos para a retirada dos ovários e a cirurgia controle. 15 dias após os procedimentos cirúrgicos se deu início ao tratamento com a curcumina, ou veículo e a reposição hormonal nos grupos determinados. Os tratamentos tiveram duração de 17 dias, onde no 14º dia se deu início aos testes de Campo Aberto e de Reconhecimento de Objetos. Vale ressaltar que os animais continuaram a receber o tratamento até o dia da eutanásia. No último dia do teste de Reconhecimento de Objetos, após o animal ser retirado do aparato, foi realizado a eutanásia do mesmo para a coleta do hipocampo, que foi armazenado a -80° para posterior análise de expressão proteica do BDNF, e dissecação e pesagem dos sítios adiposos e útero.

Figura 2 - Delineamento experimental.



Fonte: Autores (2022)

5.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após o período de ambientação, as ratas foram divididas em 2 grupos com animais para a cirurgia sham e animais para a cirurgia de retirada dos ovários.

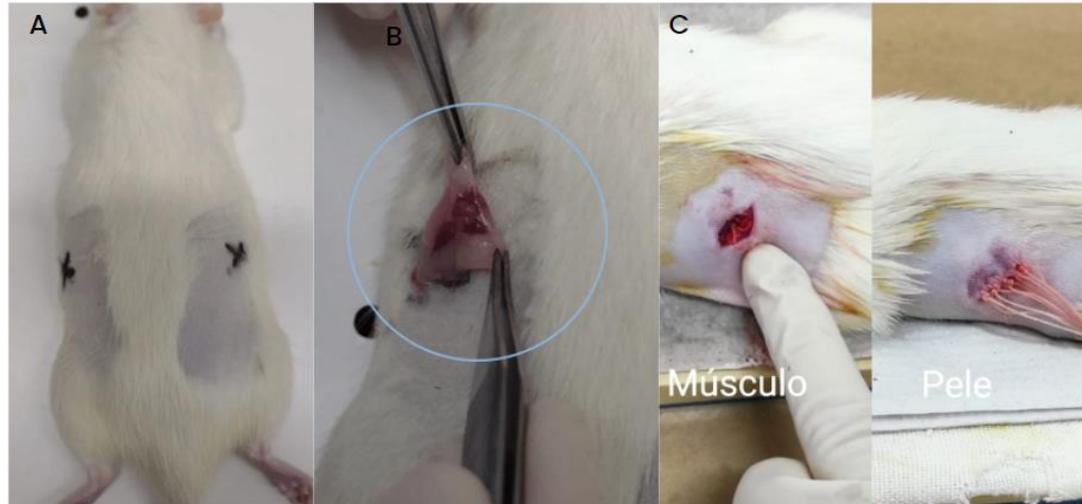
Os animais foram anestesiados com Xilazina® e Ketamina®, em uma dose de 5-10 mg/Kg e 75-90 mg/Kg por via IP, respectivamente, mais Tramadol 12,5 mg/kg diluído em salina via SC (via subcutânea) e na sequência imediatamente após a cirurgia receberam o antibiótico Pentabiótico (24.000 UI/Kg) via intramuscular e pós-cirurgia 1x/dia (por 2 dias) (Guia anestesia e analgesia em animais de laboratório – UNIFESP, 2020).

Sob placa aquecida foi realizada incisão abdominal, para a remoção dos ovários (n=48). E na outra metade dos animais (n=24) se procedeu a celiotomia (SHAM), sem remoção ovariana.

Em seguida, o músculo e a pele foram suturados com fio de algodão. Após a cirurgia, todas as ratas receberam 3 ml de solução salina via SC para recuperação da volemia e foram expostas a um aquecedor para evitar hipotermia.

Para minimizar a variabilidade entre diferentes experimentos, o procedimento cirúrgico foi realizado pelo mesmo pesquisador.

Figura 3 – Demonstração do procedimento cirúrgico de ovariectomia e celiotomia.



Fonte: Autores (2022)

Nota: A figura 3 demonstra os procedimentos da técnica de ovariectomia e celiotomia. O animal foi inicialmente analgesiado, sedado e fixado em uma cama térmica, utilizada para controlar a sua temperatura corporal durante o procedimento cirúrgico. Em A, temos o local da realização da incisão do dorso do animal para a retirada dos ovários. Em B temos o ovário exposto da cavidade abdominal e o local onde foi feito um laço com o fio de sutura nas trompas uterinas para evitar sangramento, em seguida, com uma tesoura, o ovário foi cortado logo acima do nó para a retirada do mesmo. Logo após o útero foi realojado na cavidade abdominal e o músculo e a pele foram suturados (C). O procedimento foi realizado no lado direito e esquerdo de todos os animais. Este procedimento se deu em todos os animais deste experimento, sendo os animais do grupo controle submetidos a cirurgia de celiotomia, que consiste em todos os passos realizados na ovariectomia porém, sem a remoção dos ovários.

5.5. TRATAMENTO COM CURCUMINA OU ESTRADIOL

Após 15 dias do procedimento cirúrgico, se deu o início ao tratamento dos animais com a curcumina. A curcumina apresenta-se na forma de pó (Sigma, Brasil) e foi suspensa em carboximetilcelulose 0,5% (SORRENTI *et al.*, 2018). Após a diluição foi administrado no animal: curcumina 50mg/Kg, nos grupos OVX+C e SHAM+C ou veículo OVX+V e SHAM+V (1ml/Kg), através de gavagem, por um período de 17 dias consecutivos, às 07:30h (REIS, 2018).

Os animais do grupo de OVX+E receberam por via subcutânea 17β -estradiol (10 μ g / kg de peso corporal, Sigma, Brasil) que foi suspenso em óleo de milho e o grupo OVX+OM recebeu pela mesma via óleo de milho como controle de reposição hormonal (SZAWKA *et al.*, 2013).

5.6. TESTE DE CAMPO ABERTO

O teste do campo aberto é um teste útil para análise da atividade locomotora do animal (VALLE, 1970). O aparato de campo aberto consiste em uma arena quadrada de acrílico, de fundo preto com 60 cm de largura e paredes com 20 cm de altura.

O teste foi realizado com as ratas de todos os grupos experimentais. As ratas foram colocadas no centro da arena e a sua atividade locomotora foi filmada por 10 minutos. Os parâmetros avaliados foram a distância percorrida e o tempo de imobilidade dos animais. Após o teste de cada animal, o aparato foi limpo com álcool 5%. O software Ethovision XT versão 9.0 foi utilizado para análise automática dos parâmetros.

Figura 4 – Aparato referente ao teste de campo aberto.



Fonte: Autores (2022).

Nota: A figura 4 representa o aparato utilizado no teste de Campo Aberto.

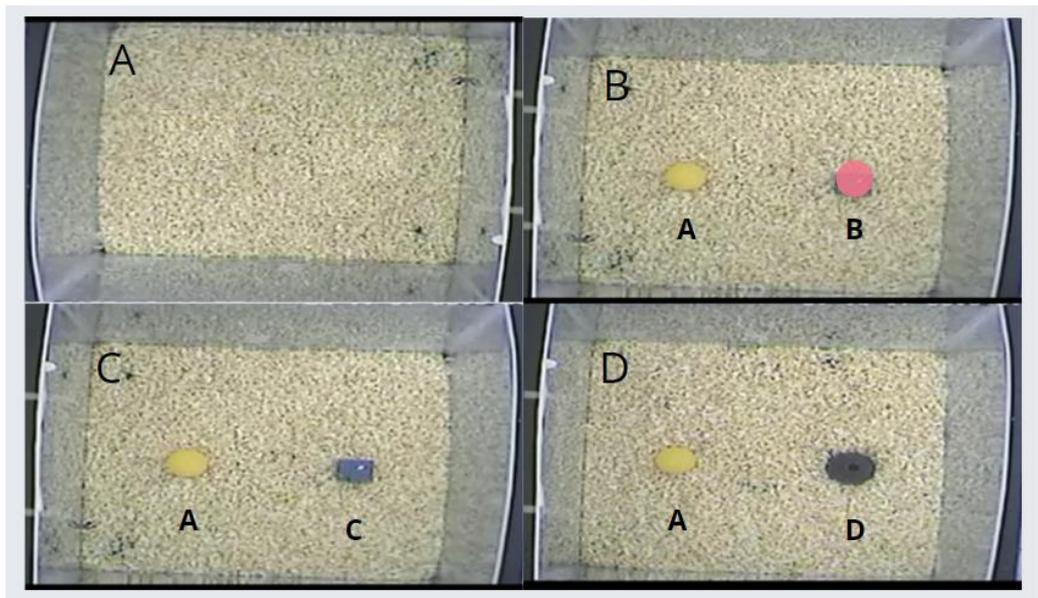
5.7. TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS

No teste de reconhecimento de objetos, ao serem expostos a dois objetos diferentes, um previamente conhecido e outro desconhecido, os animais foram avaliados quanto ao seu comportamento exploratório (DENNINGER; SMITH; KIRBY, 2018).

Dois dias antes do teste, os animais foram expostos ao aparato por 10 minutos para a ambientação a fim de garantir que estes passem tempo suficiente explorando os objetos e não o ambiente (ANDERSEN *et al.*, 2004). O aparato constitui-se de uma arena quadrada (60 cm x 60 cm).

No dia do teste, os animais foram colocados em frente a 2 objetos idênticos (A e B) por 10 minutos (treinamento) (fig. 5.B). Para a análise da memória de curta duração, 2 horas depois, um dos objetos de treinamento foi substituído por um novo objeto (C) e os animais foram expostos novamente por um período de 10 minutos e foram filmados para posterior análise (fig. 5.C). 24 horas após a exposição dos animais aos primeiros objetos eles foram novamente colocados no aparato para a análise de memória de longa duração, onde o objeto (C) foi trocado por um outro objeto (D) e os animais foram filmados por 10 minutos (fig. 5.D).

Figura 5 – Aparato utilizado para a execução do teste de reconhecimento de objetos.



Fonte: Autores (2022)

Nota: A figura 5 apresenta o aparato utilizado no teste de reconhecimento de objetos. Em A, o aparato montado para a ambientação dos animais para o teste. Em B, temos o aparato com os objetos A e B, ambos em formato de bola, utilizados antes da avaliação da memória de curta duração. Em C, para a avaliação de memória de curta duração, temos o aparato com os objetos A e C, onde o objeto familiar A em formato de bola e o objeto novo C em formato de cubo. Em D, temos o aparato adaptado para o teste de memória de longa duração, onde o objeto familiar A em formato de bola e D o objeto novo em formato de pirâmide.

Todos os objetos apresentaram texturas e tamanhos semelhantes, mas formas distintas. As ratas foram colocadas individualmente na arena e entre o teste de cada animal, os objetos e a arena foram limpos com álcool 5%. Os parâmetros avaliados foram: exploração (quando o

animal cheira ou toca o objeto com o nariz) e o tempo gasto pelo animal explorando os dois objetos (objeto familiar ou novo) e foi realizado o cálculo do índice de reconhecimento através da seguinte equação.

$$IR = \frac{TEC}{TEA + TEC} \quad \text{Para a memória de curta duração}$$

$$IR = \frac{TED}{TEA + TED} \quad \text{Para a memória de longa duração}$$

Onde:

IR= Índice de reconhecimento;

TEA= Tempo de exploração ao objeto familiar;

TEC = Tempo de exploração ao objeto novo (2 horas);

TED= Tempo de exploração ao objeto novo (24 horas);

5.8. MEDIDAS BIOMÉTRICAS DOS ANIMAIS

O peso corporal foi aferido no dia da cirurgia, 08 dias após a cirurgia e no 15º dia após a cirurgia e dia de início do tratamento, durante o período de tratamento o peso foi monitorado a cada três dias, para o cálculo da dose de curcumina que foi ofertada, utilizando balança eletrônica digital (Marte, Brasil). Ao todo, foram realizadas 08 aferições de peso.

5.9 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Ao final do teste, os animais foram eutanasiados com Xilazina® e Ketamina®, em uma dose de 5-10mg/Kg e 75-90mg/Kg, respectivamente, por via IP. Os animais foram decapitados por guilhotina para proceder as coletas do hipocampo e a dissecação do tecido adiposo e do útero para pesagem e análises subsequentes. O peso do tecido adiposo e do útero

foram corrigidos para 100g/peso corporal do animal.

5.10 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO PROTEICA

Após a eutanásia dos animais o hipocampo foi dissecado imediatamente e armazenado a -80°C para a realização da técnica de Western Blotting para avaliação da expressão proteica de BDNF, Sinaptofisina e GFAP. As amostras foram homogeneizadas em tampão de lise com um coquetel de inibidores de protease (Sigma-Aldrich, St Louis, MO), logo após, foram centrifugadas (9200 rpm, 15 minutos, 4°C) e a concentração de proteínas no sobrenadante foi quantificada pelo teste de Bradford.

As amostras contendo o tampão de lise mais Laemmli foram fervidas e submetidas a análise de Western blotting. As proteínas foram separadas por SDS-PAGE a 12% (electroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio) e em seguida transferidas para membranas de nitrocelulose com um sistema electroforético semi-seco (Bio-Rad, Hercules, CA).

A membrana foi lavada 3 vezes em PBS contendo 0,05% de Tween 20, bloqueada com 5% de leite desnatado em PBS durante 2 h à temperatura ambiente e depois incubadas overnight, a 4°C com anticorpos anti-BDNF (1:1000, Santa Cruz Biotechnology, Inc., nº sc-65514), anti-Sinaptofisina (1:1000, Santa Cruz Biotechnology, Inc., nº sc-17750) e anti-GFAP (1:1000, Santa Cruz Biotechnology, Inc., nº sc-33673). No dia seguinte, após 3 lavagens em PBS contendo 0,05% de Tween 20, as membranas foram incubadas durante 1 h à temperatura ambiente com os respectivos anticorpos secundários específicos anti-mouse para GFAP (1:2000, Abcam, nº colocar) e anti-rabbit para sinaptofisina (1:2000, Abcam, nº colocar).

Após o período de incubação, a membrana foi lavada 3 vezes em PBS 0,1M e aplicou-se um kit de detecção comercial durante aproximadamente 1 a 2 minutos (kit de detecção ECL, Bio-Rad, Hercules, CA). As imagens de análise foram capturadas por analisador de imagem por quimioluminescência (Chemidoc, Bio-Rad, Hercules, CA). Posteriormente, as membranas passaram pelo processo de stripping seguido do bloqueio em 5% de leite desnatado em PBS contendo Tween 20 a 0,05% durante 2 horas.

Após o bloqueio, as membranas foram lavadas 3 vezes em PBS 0,1M, seguido por incubação overnight a 4°C com anticorpo primário anti-actina (1:4000, Abcam, ab-4700). No dia seguinte, as membranas foram lavadas 3 vezes em PBS 0,1 M e incubadas por 1 hora com anticorpo secundário (1:2000, Abcam, ab-6789). Após a incubação, as membranas foram

lavadas 3 vezes em PBS 0,1M e em seguida aplicou-se um kit de detecção comercial durante aproximadamente 1 a 2 minutos (kit de detecção ECL, Bio-Rad, Hercules, CA).

As imagens de análise foram capturadas por analisador de imagem por quimioluminescência (Chemidoc, Bio-Rad, Hercules, CA) e as intensidades de banda foram quantificadas utilizando um software específico da Bio-Rad (Image Lab Software, versão 6.1). A intensidade de cada banda foi expressa em relação à da β -actina e os dados expressos foram normalizados para o controle.

5.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados utilizando o software GraphPad versão 8.0 e expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov Smirnov. Para comparação de dois grupos foi aplicado o teste t Student (dados paramétricos) ou Mann-Whitney (dados não paramétricos). Para comparação de dois fatores foi utilizada a análise de variância (TWO-WAY ANOVA) seguido pelo pós-teste de Bonferroni (dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn (dados não paramétricos). Foi considerado um nível de significância de 5% para todas as análises.

5.12 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL e aprovado segundo o número 0059/2021 (ANEXO A). Todos os protocolos que foram adotados estão conforme o preconizado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

6 RESULTADOS

A seguir serão apresentados os resultados obtidos neste estudo.

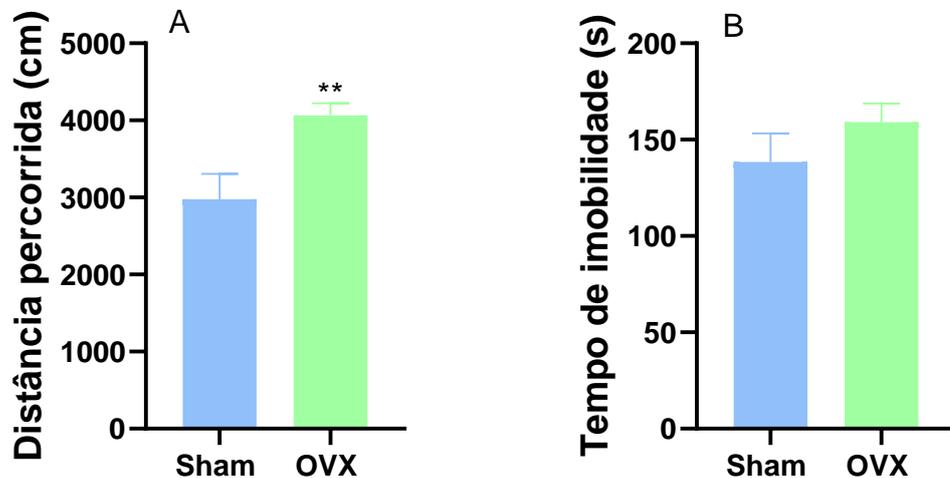
6.1 EXPERIMENTO 1: AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CIRURGIA OVARIECTOMIA EM RELAÇÃO A CIRURGIA CELIOTOMIA

Descrevemos a seguir o desempenho comportamental, o acompanhamento de ganho de peso, o peso dos tecidos adiposos e do útero dos animais após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia.

6.1.1 Teste de campo aberto

A figura 6 mostra o desempenho dos animais submetidos ao teste comportamental de campo aberto. A distância percorrida foi maior no grupo OVX em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$; fig. 6.A). Já no que se refere ao parâmetro de tempo de imobilidade não houve diferença entre os grupos.

Figura 6 - Desempenho dos animais submetidos ao teste comportamental de campo aberto após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia.



Fonte: Autores (2022).

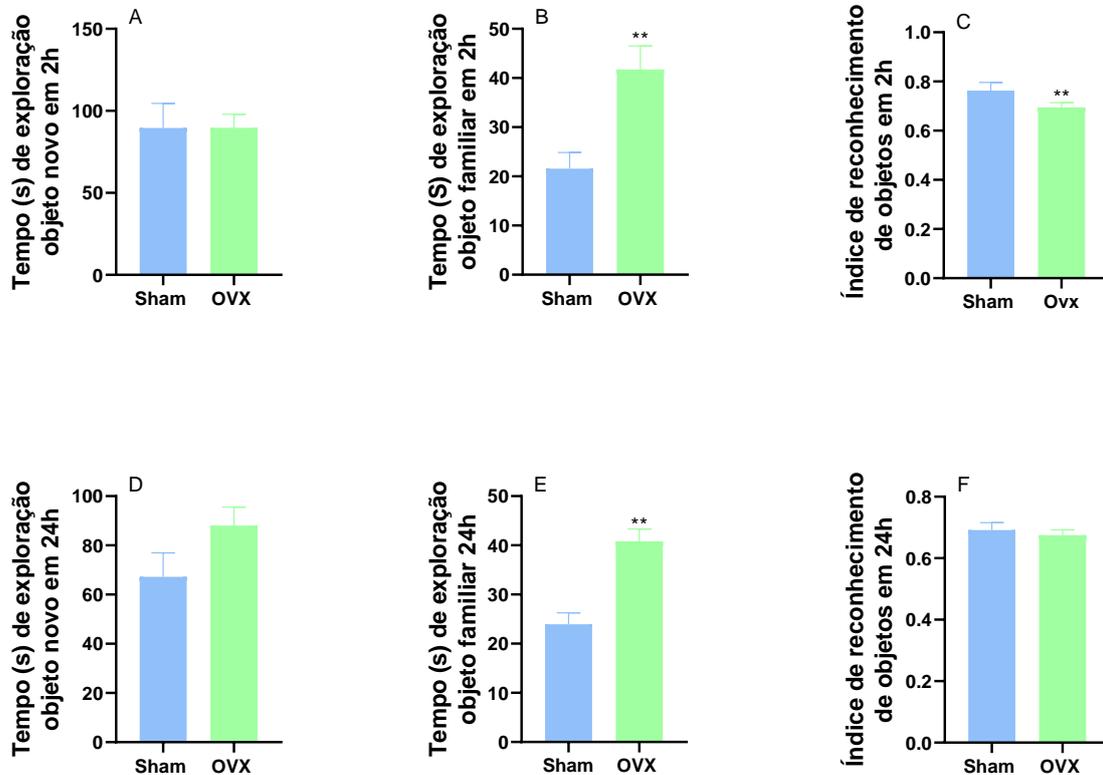
Nota: Na figura 6 temos os animais Sham e OVX após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia respectivamente e submetidos ao teste de campo aberto. Em A temos a distância percorrida (cm) e em B, o tempo de imobilidade (s). As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais (n = 12 animais por grupo). Teste T Student. **P < 0,01, em comparação com o grupo controle.

6.1.2 Teste de reconhecimento de objetos

Na figura 7, podemos observar o desempenho dos animais submetidos ao teste de Reconhecimento de objetos. Em relação ao teste de 2 horas, para avaliação da memória de curta duração, nota-se que o grupo OVX obteve um tempo de exploração ao objeto familiar maior que o grupo Sham ($p < 0,05$; fig. 7.B) e em um índice de reconhecimento de objetos menor no grupo OVX quando comparado ao Sham ($p < 0,05$, fig. 7.C).

Já no que se refere ao teste de reconhecimento de objetos de 24 horas os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia apresentaram um tempo de exploração ao objeto familiar maior quando comparado ao grupo Sham ($p < 0,05$; fig. 7.E).

Figura 7 – Desempenho dos animais submetidos ao teste de reconhecimento de objetos de 2 e 24 horas após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia.



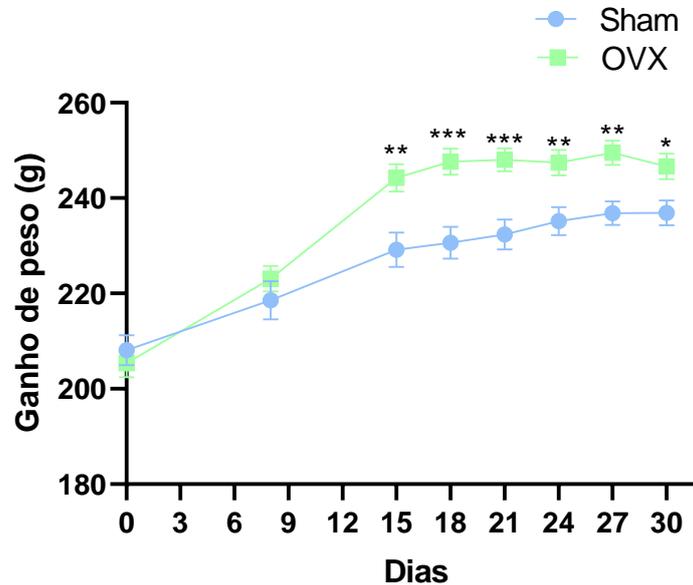
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 7 temos os animais Sham e OVX após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia respectivamente e submetidos ao teste de reconhecimento de objetos de 2 e 24 horas. Em A e D temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto novo, em B e E temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto familiar e em C e F temos o índice de reconhecimento de objetos. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental (n = 12 animais por grupo). Teste T Student. **P < 0,01, em comparação com o grupo controle.

6.1.3 Acompanhamento do ganho de peso

A seguir, a figura 8 corresponde ao acompanhamento do ganho de peso dos animais durante o período do experimento. Observa-se que a partir do 15º dia após a realização dos procedimentos cirúrgicos o ganho de peso no grupo OVX é maior em relação ao grupo Sham, e este ganho se mantém até o final do experimento (p < 0,05; fig.8).

Figura 8 – Acompanhamento do ganho de peso dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia durante o período do experimento.



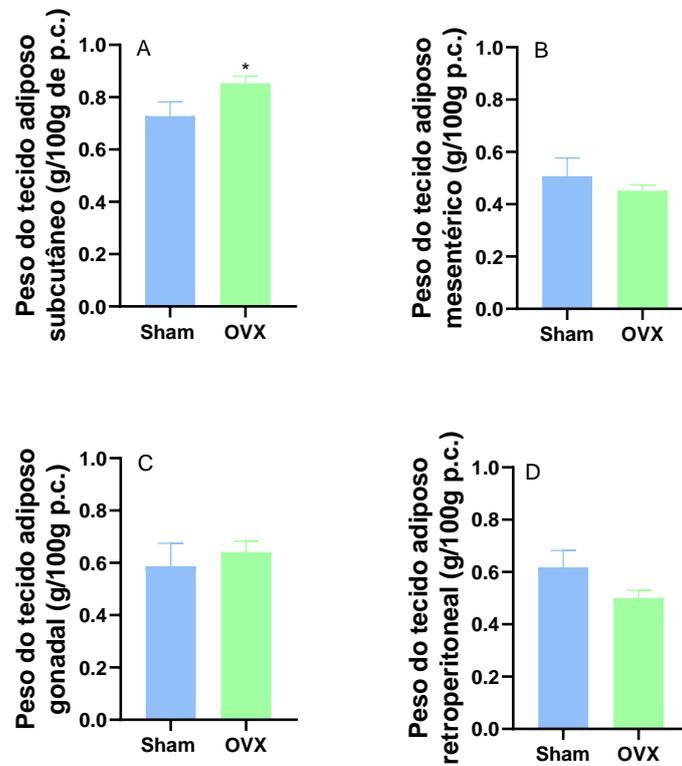
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 8 temos o acompanhamento do peso dos animais Sham e OVX após a realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia respectivamente, durante o período experimental. Os pontos do gráfico representam os dias que foram aferidos os pesos e representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparados com o grupo controle: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

6.1.4 Peso dos tecidos adiposos

A figura 9 apresenta o peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais. O peso do tecido adiposo subcutâneo do grupo que foi submetido a ovariectomia foi maior quando comparado ao grupo de recebeu o tratamento com veículo ($p < 0,05$; fig. 9.A). Não foram observadas diferenças nos pesos dos outros parâmetros entre os grupos.

Figura 9 - Peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após 30 dias da realização da cirurgia.



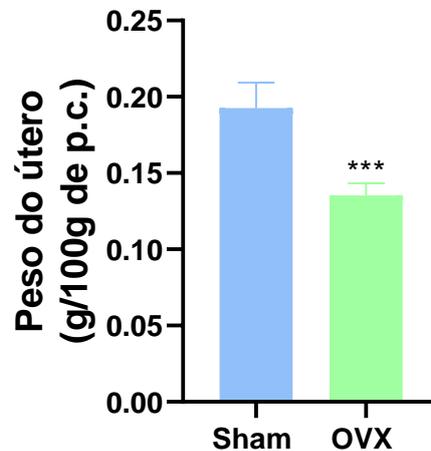
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 9 temos o peso dos tecidos adiposos após 30 dias da realização da cirurgia ovariectomia e celiotomia. Em A temos o peso do tecido adiposo subcutâneo, em B temos o peso do tecido adiposo mesentérico, em C temos o peso do tecido adiposo gonadal e em D temos o peso do tecido adiposo retroperitoneal. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. * $P < 0,05$; em comparação com o grupo controle.

6.1.5 Peso do útero

A seguir, a figura 10 apresenta o peso do útero dos animais. Observa-se que o peso do útero dos animais do grupo OVX foi menor quando comparado ao grupo Sham ($p < 0,05$; fig 10.A).

Figura 10 - Peso do útero que foi dissecado no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após 30 dias da realização da cirurgia.



Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 10 temos o peso do útero dos animais após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental (n = 12 animais por grupo). Teste T Student. *** P < 0,001, em comparação com o grupo controle.

6.2 EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM ESTRADIOL EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

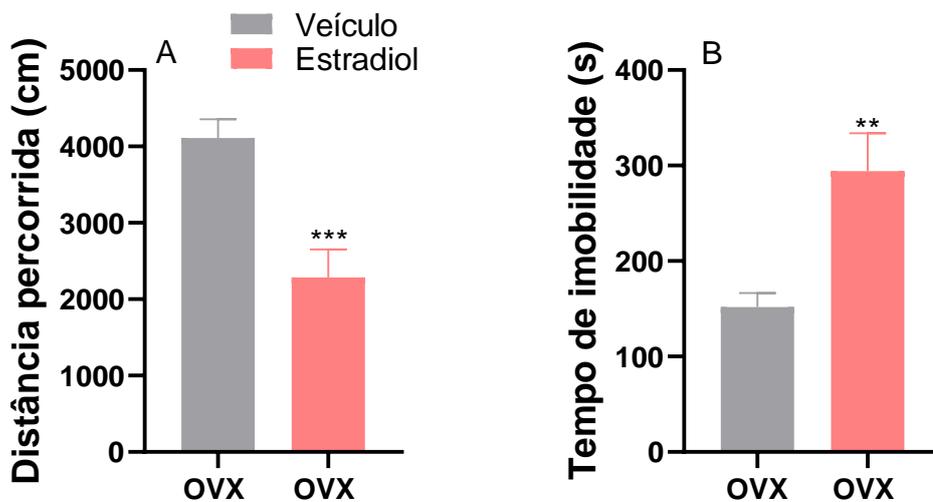
Descrevemos a seguir o desempenho comportamental, o acompanhamento de ganho de peso, o peso dos tecidos adiposos e do útero dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento com estradiol ou veículo, por 17 dias.

6.2.1 Teste de campo aberto

A seguir, a figura 11 apresenta o desenvolvimento comportamental no teste de campo aberto dos animais. Quanto ao parâmetro de distância percorrida, observou-se que os animais que receberam o tratamento com estradiol apresentaram uma menor distância percorrida quando comparados aos animais que receberam o veículo (p < 0,005; fig. 11.A).

Já em relação ao parâmetro de tempo de imobilidade os animais que receberam o tratamento com estradiol apresentaram um tempo maior imóveis quando comparados com o seu controle ($p < 0,005$; fig. 11.B).

Figura 11 - Desenvolvimento comportamental no teste de campo aberto em animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 14 dias.



Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 11 temos os animais ovariectomizados que foram tratados com reposição hormonal e veículo e submetidos ao teste de campo aberto. Em A temos a distância percorrida (cm) e em B, o tempo de imobilidade (s) As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$, em comparação com o grupo controle.

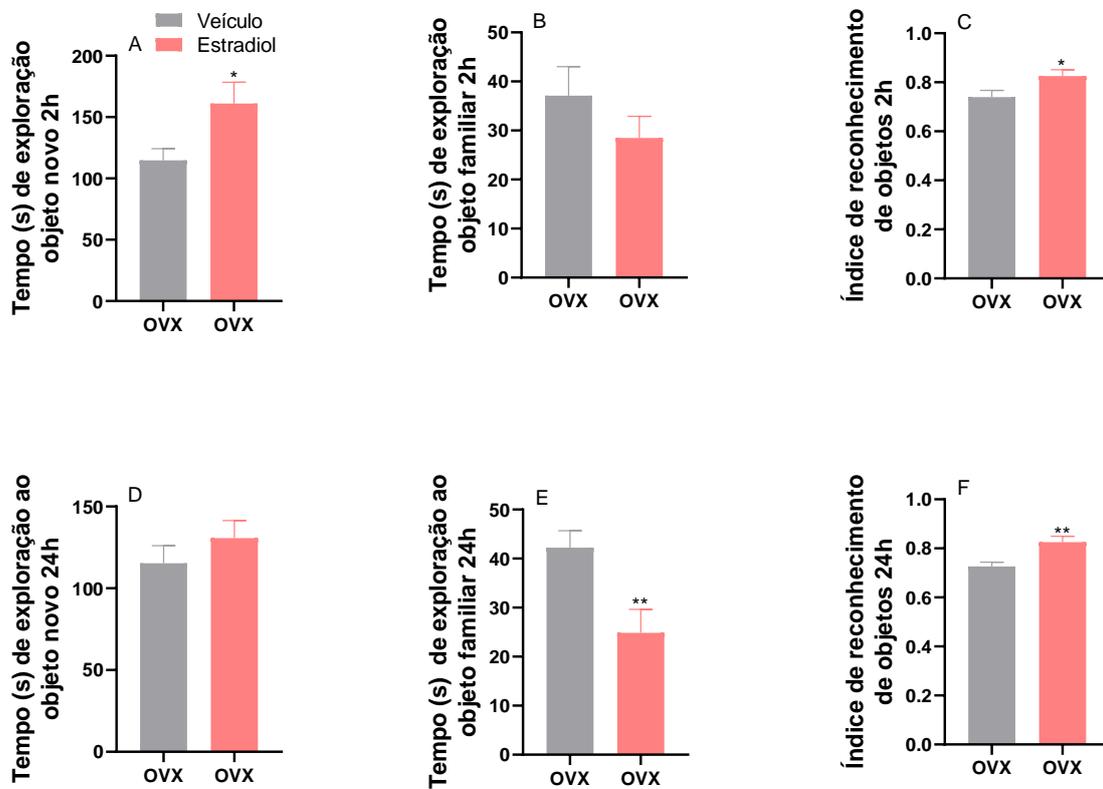
6.2.2 Teste de reconhecimento de objetos

A figura 12 apresenta o desenvolvimento comportamental dos animais no teste de reconhecimento de objetos. Quanto ao teste de reconhecimento de objetos de 2 horas, observou-se que o grupo que recebeu o tratamento com estradiol obteve um tempo de exploração ao objeto novo maior ($p < 0,005$; fig. 12.A), refletindo em um índice de reconhecimento de objetos maior quando comparado com o grupo controle ($p < 0,005$; fig. 12.C).

Os animais submetidos ao tratamento de reposição hormonal com estradiol apresentaram um menor tempo de exploração ao objeto familiar ($p < 0,005$; fig. 12.E) e um

índice de reconhecimento de objetos maior quando comparado com o grupo que recebeu o tratamento com veículo ($p < 0,005$; fig. 12.F) no teste de reconhecimento de objetos de 24 horas.

Figura 12 - Desenvolvimento comportamental no teste de reconhecimento de objetos em animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.



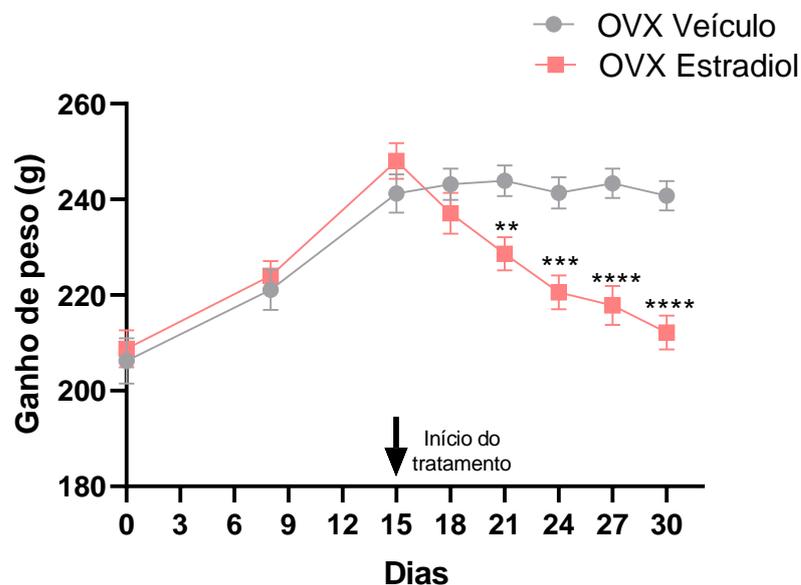
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 12 temos os animais ovariectomizados que foram tratados com reposição hormonal e veículo e submetidos ao teste de reconhecimento de objetos de 2 e 24 horas. Em A e D temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto novo, em B e E temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto familiar e em C e F temos o índice de reconhecimento de objetos. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, em comparação com o grupo controle.

6.2.3 Acompanhamento do ganho de peso

A seguir, a figura 13 corresponde ao acompanhamento do ganho de peso dos animais. Ao longo do experimento, observou-se que após 15 dias da realização da cirurgia ovariectomia o ganho de peso dos animais dos dois grupos estava semelhante, após o início do tratamento com estradiol, a partir do 21º dia, nota-se uma redução do peso corporal dos animais que receberam a reposição hormonal acentuando-se até o final do experimento ($p < 0,05$; fig. 13).

Figura 13 - Acompanhamento do ganho de peso dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.



Fonte: Autores (2022).

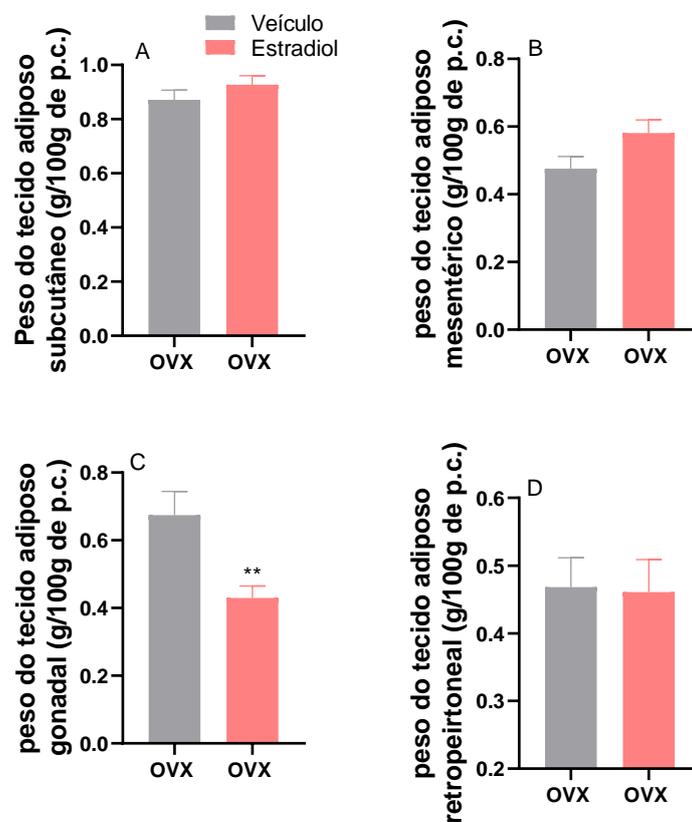
Nota: Na figura 13 temos o acompanhamento do peso dos animais os animais ovariectomizados que foram tratados com reposição hormonal e veículo durante o período experimental. Os pontos do gráfico representam os dias que foram aferidos os pesos e representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparados com o grupo controle: ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$.

6.2.4 Peso dos tecidos adiposos

A figura 14 apresenta o peso dos tecidos adiposos dos animais. O peso do tecido adiposo gonadal do grupo que recebeu o tratamento com estradiol foi menor quando comparado ao

grupo de recebeu o tratamento com veículo ($p < 0,005$; fig. 14.C). Não foram observadas diferenças nos pesos dos outros parâmetros entre os grupos.

Figura 14 - Peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.



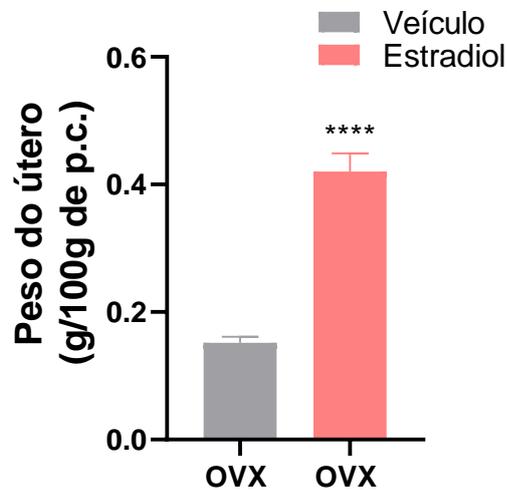
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 14 temos o peso dos tecidos adiposos dos animais ovariectomizados que foram tratados com reposição hormonal e veículo. Em A temos o peso do tecido adiposo subcutâneo, em B temos o peso do tecido adiposo mesentérico, em C temos o peso do tecido adiposo gonadal e em D temos o peso do tecido adiposo retroperitoneal. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. ** $P < 0,01$, em comparação com o grupo controle.

6.2.5 Peso do útero

A seguir, a figura 15 apresenta o peso do útero dos animais. O grupo que recebeu o tratamento de reposição hormonal com estradiol apresentou o peso do útero maior quando comparado ao grupo que recebeu o tratamento com veículo ($p < 0,0001$; fig. 15).

Figura 15 - Peso do útero que foi dissecado no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e ao tratamento de reposição hormonal e veículo, por 17 dias.



Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 15 temos o peso do útero dos animais ovariectomizados que foram tratados com reposição hormonal e veículo. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental ($n = 12$ animais por grupo). Teste T Student. **** $P < 0,0001$, em comparação com o grupo controle.

6.3 EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM CURCUMINA EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

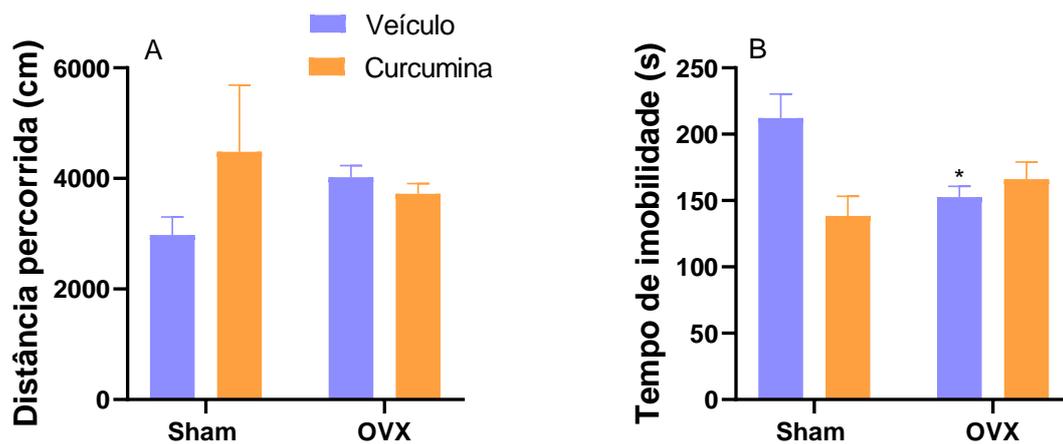
Descrevemos a seguir o desempenho comportamental, o acompanhamento de ganho de peso, o peso dos tecidos adiposos e do útero dos animais após 30 dias da realização da cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina (50mg/Kg) por 17 dias.

6.3.1 Teste de campo aberto

A seguir, a figura 16 apresenta o desenvolvimento comportamental no teste de campo aberto dos animais. No que tange sobre o parâmetro de tempo de imobilidade, o grupo que OVX + veículo obteve um menor tempo quando comparado ao grupo de cirurgia controle e que também recebeu veículo durante o tempo de tratamento (Sham + veículo) ($p < 0,05$; fig. 16.B).

No parâmetro de distância percorrida não houve diferença entre os grupos testados.

Figura 16 - Desenvolvimento comportamental no teste de campo aberto dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina por 14 dias.



Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 16 temos os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina ou veículo e submetidos ao teste de campo aberto. Em A temos a distância percorrida (cm) e em B, o tempo de imobilidade (s). As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental ($n = 12$ animais por grupo). Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste Bonferroni. * $P < 0,05$, em comparação com o grupo controle.

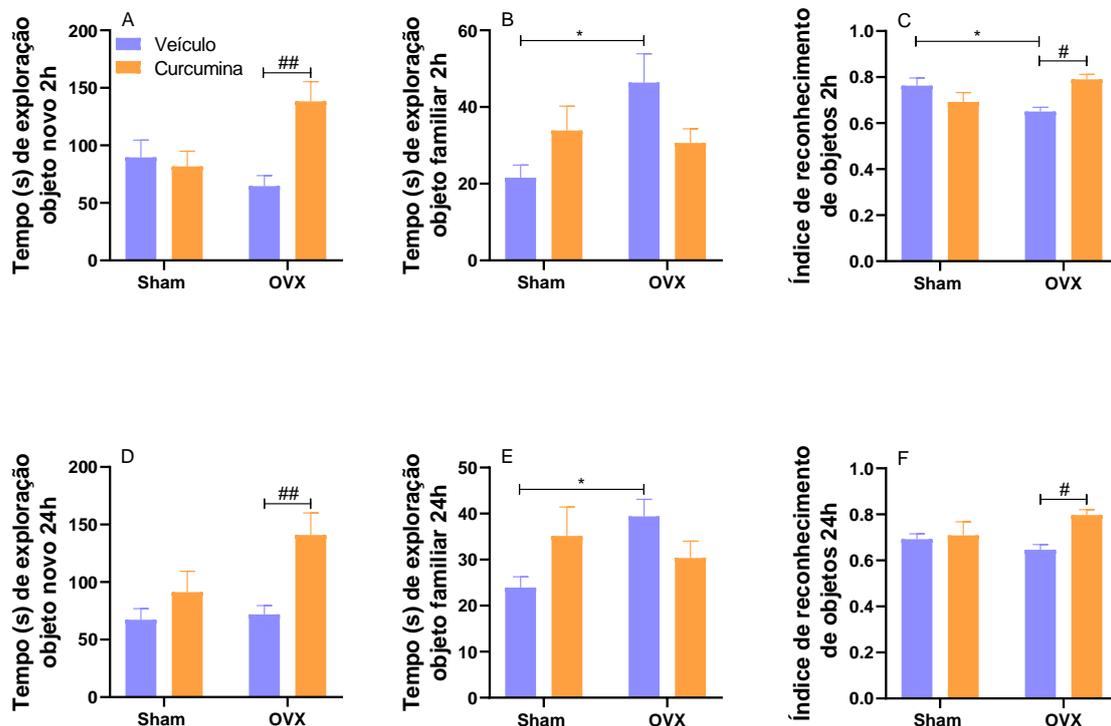
6.3.2 Teste de reconhecimento de objetos

Na figura 17 observa-se o desempenho comportamental no teste de reconhecimento de objetos dos animais. Em ambos os testes (2 e 24 horas), o grupo submetido a ovariectomia e ao tratamento com curcumina (OVX+C) apresentou maior tempo de exploração ao objeto novo

quando comparado ao grupo OVX +V ($p < 0,05$; fig. 17.A) e no parâmetro de tempo de exploração ao objeto familiar o grupo OVX + veículo obteve um maior tempo em comparação ao grupo controle (SHAM+V) ($p < 0,01$; fig. 17.B).

No parâmetro de índice de reconhecimento de objetos do teste de 2 horas, o grupo OVX + curcumina foi maior quando comparado com o grupo OVX + veículo ($p < 0,05$; fig.17.C) e um menor índice de reconhecimento quando comparado o grupo OVX + veículo com o grupo Sham + veículo ($p < 0,05$; fig. 17.C). Já no teste de reconhecimento de objetos de 24 horas o índice de reconhecimento de objetos foi maior no grupo OVX + curcumina em comparação ao grupo OVX+ veículo ($p < 0,05$; fig. 17.F).

Figura 17 – Desempenho comportamental no teste de reconhecimento de objetos dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia e aos tratamentos com curcumina por 17 dias.



Fonte: Autores (2022).

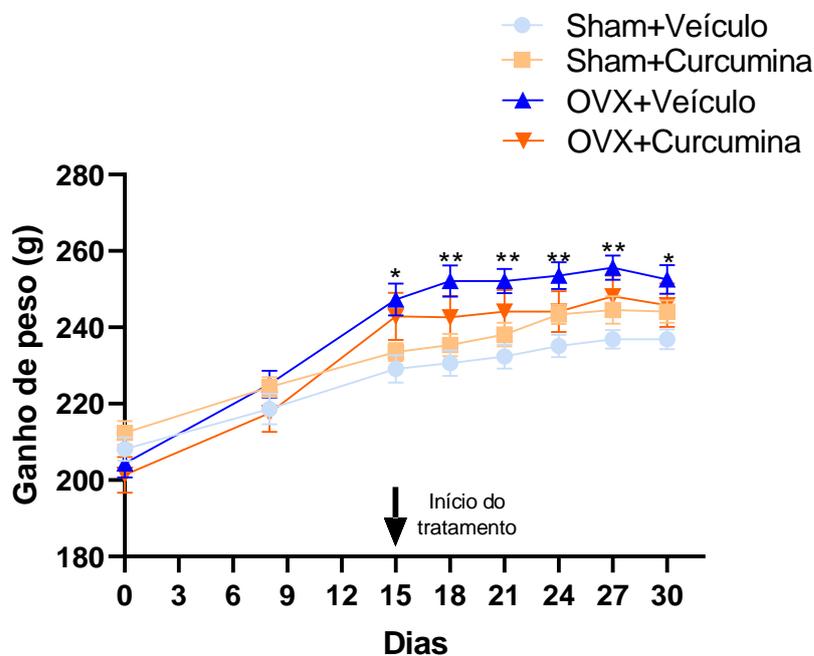
Nota: Na figura 17 temos os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina ou veículo e submetidos ao teste de reconhecimento de objetos de 2 e 24 horas. Em A e D temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto novo, em B e E temos o parâmetro de tempo de exploração ao objeto familiar e em C e F temos o índice de reconhecimento de objetos. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental ($n = 12$ animais por grupo). Teste ANOVA Two-Way seguido

do pós-teste Bonferroni. * $P < 0,05$, em comparação com o grupo controle. # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$ em comparação ao grupo OVX+veículo.

6.3.3 Controle de ganho de peso

A seguir, a figura 18 mostra o acompanhamento do ganho de peso dos animais. Foram observados que nos primeiros 15 dias de experimento os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia apresentaram um ganho de peso maior em relação aos animais controle. Após iniciar o tratamento com a curcumina e com o veículo o ganho de peso do grupo OVX + veículo foi maior em comparação ao grupo Sham + veículo ao longo do período experimental ($p < 0,05$; fig. 18).

Figura 18 – Acompanhamento do ganho de peso dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia e ao tratamento com curcumina por 17 dias.



Fonte: Autores (2022).

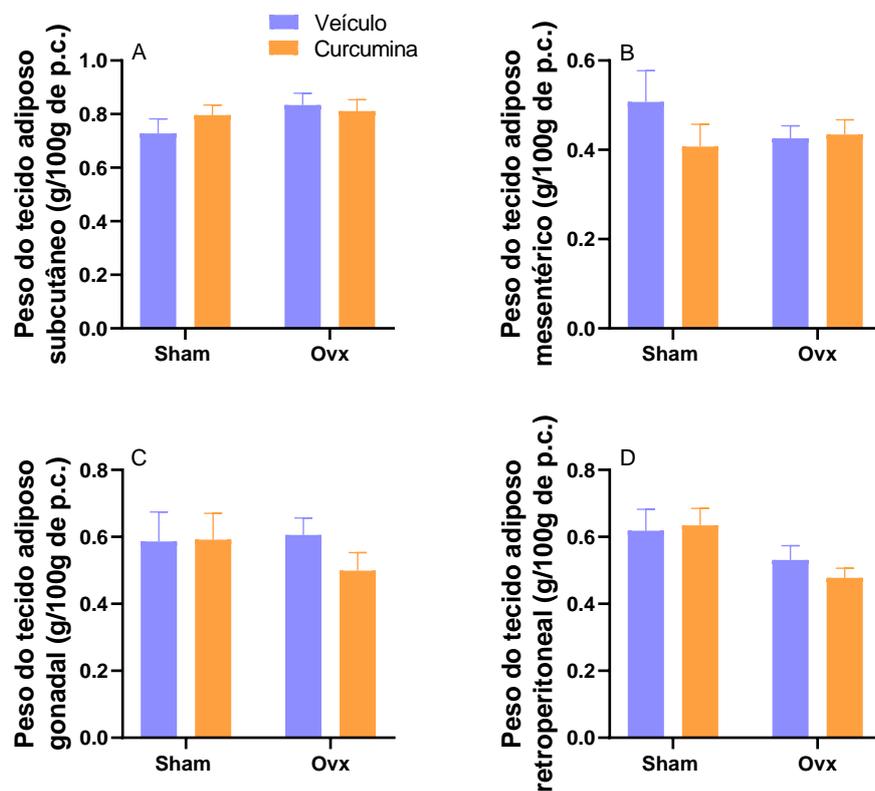
Nota: Na figura 18 temos o acompanhamento do peso dos os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina ou veículo, durante o período experimental. Os pontos do gráfico representam os dias que foram aferidos os pesos e representam valores médios (\pm S.E.M.) para os grupos experimentais ($n = 12$ animais por grupo). Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste

Bonferroni. Os asteriscos denotam os níveis de significância quando comparados com o grupo controle: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

6.3.4 Peso dos tecidos adiposos

A figura 19 apresenta o peso dos tecidos adiposos dos animais. Não foram observadas diferenças entre os grupos OVX e Sham nestes parâmetros.

Figura 19 - Peso dos tecidos adiposos que foram dissecados no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina por 14 dias.



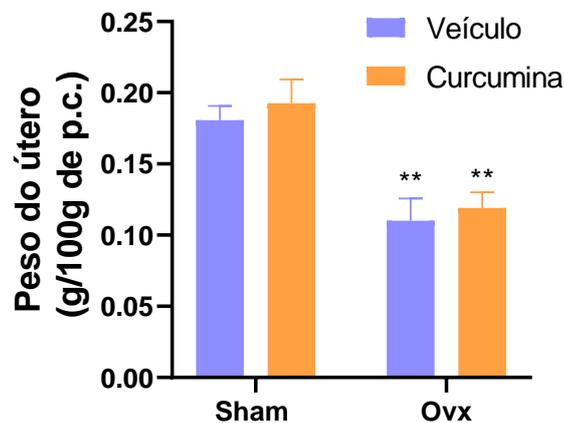
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 19 temos o peso dos tecidos adiposos dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina ou veículo. Em A temos o peso do tecido adiposo subcutâneo, em B temos o peso do tecido adiposo mesentérico, em C temos o peso do tecido adiposo gonadal e em D temos o peso do tecido adiposo retroperitoneal. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental ($n = 12$ animais por grupo). Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste Bonferroni.

6.3.5 Peso do útero

Podemos observar na figura 20 o peso do útero dos animais. O grupo que foi submetido a cirurgia de ovariectomia e recebeu o veículo apresentou um peso menor do útero quando comparado ao grupo submetido a cirurgia celiotomia que recebeu o veículo. Quanto ao tratamento com curcumina, o grupo ovariectomizado apresentou um peso menor quando comparado ao grupo controle.

Figura 20- Peso do útero que foi dissecado no momento da eutanásia dos animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina por 17 dias.



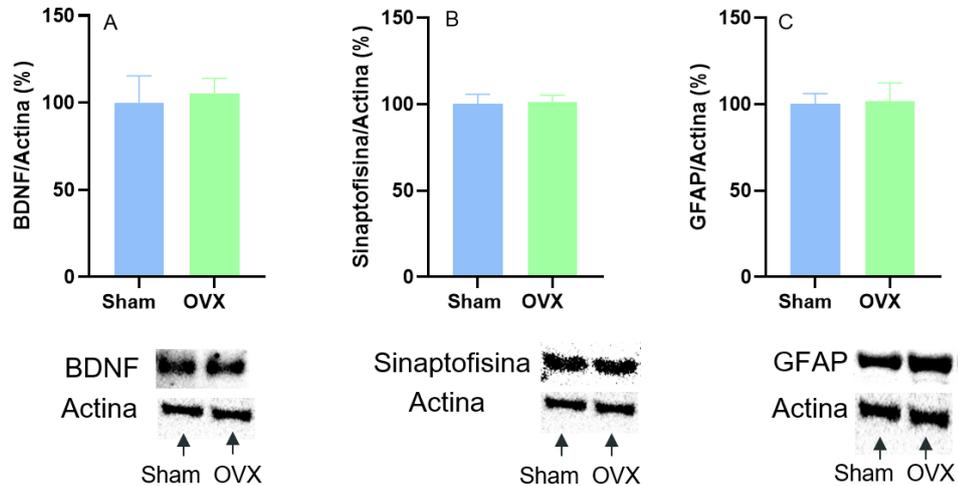
Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 20 temos o peso do útero dos animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e celiotomia após o tratamento com curcumina ou veículo. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental (n = 12 animais por grupo). Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste Bonferroni. **P < 0,01, em comparação com o grupo controle.

6.4 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS BDNF, SINAPTOFISINA E GFAP NO HIPOCAMPO POR WESTERN BLOTTING EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

Podemos observar na figura 21 a avaliação da expressão das proteínas BDNF, Sinaptofisina e GFAP pela técnica de western blotting no hipocampo das ratas submetidas a cirurgia de ovariectomia e cirurgia controle. Não foram observadas diferenças entre os grupos OVX e Sham nestes parâmetros.

Figura 21- Efeito da cirurgia de ovariectomia sobre a expressão das proteínas BDNF, Sinaptofisina e GFAP após 30 dias da realização da cirurgia.



Fonte: Autores (2022).

Nota: Na figura 21 temos a avaliação da expressão das proteínas BDNF, sinaptofisina e GFAP no hipocampo por western blotting em ratas ovariectomizadas. Em A temos a expressão de BDNF/Actina%. Em B temos a expressão de Sinaptofisina/Actina %. E em C temos a expressão de GFAP/Actina %. As barras representam valores médios (\pm S.E.M.) para o grupo experimental (n = 12 animais por grupo). Teste T Student.

7 DISCUSSÃO

A seguir serão discutidos os resultados encontrados em nosso estudo.

7.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CIRURGIA OVARIETOMIA EM RELAÇÃO A CIRURGIA CELIOTOMIA

Com o aumento da expectativa de vida, as mulheres passam um terço da vida sob a fase de pós menopausa. A menopausa é caracterizada por uma alteração do estado hormonal e pela redução da qualidade de vida devido ao aparecimento de sintomas desconfortáveis. Compreender a fisiopatologia da menopausa e desenvolver novas estratégias para melhorar o tratamento dos sintomas associados é um assunto importante e muito discutido na prática clínica (ZHANG *et al.*, 2016).

Os hormônios ovarianos estão relacionados com a cognição e especialmente as funções de aprendizagem e memória, tanto em humanos quanto em roedores. A redução do estrogênio após a menopausa natural ou a cirurgia de ovariectomia tem apresentado um papel importante no desenvolvimento do comprometimento da memória (MOIETY *et al.*, 2015; DJIOGUE *et al.*, 2018; KHALEGUI *et al.*, 2021).

Devido aos estudos com humanos serem pouco viáveis, o modelo experimental animal vem sendo usado em diversos testes devido às suas características genéticas, biológicas e comportamentais para assemelhar a eventos que ocorrem no ser humano. É difícil ter um modelo experimental ideal, porém, o modelo de rato tem sido usado para melhor elucidar os conhecimentos sobre função hormonal, envelhecimento ovariano e mudanças relacionadas à transição da menopausa em mulheres. (MOIETY *et al.*, 2015; CAROLINO *et al.*, 2019; DJIOGUE *et al.*, 2018).

Para avaliar a memória e cognição em roedores existem diversos testes que permitem identificar alterações quanto ao estado comportamental. Em nosso estudo optamos pelo teste de reconhecimento de objetos, visto que é descrito como metodologia simples e eficaz para estudar o desempenho cognitivo em animais. Também foram realizadas avaliações comportamentais no teste de campo aberto, para verificar possíveis alterações motoras que podem comprometer o desempenho cognitivo dos animais (MANFREDINI *et al.*, 2019).

O teste de campo aberto é preditivo para avaliar a atividade locomotora dos animais, a locomoção é avaliada através da distância percorrida e tempo de imobilidade. No nosso estudo ele foi utilizado com o intuito de observar o impacto da cirurgia de ovariectomia e o estado de hipoestrogenismo sobre a locomoção das ratas. Nossos achados revelaram que as ratas submetidas a cirurgia de retirada dos ovários apresentaram maior distância percorrida em relação ao grupo controle, estes resultados sugerem que a cirurgia não afeta a locomoção dos animais e também não interfere no comportamento exploratório no teste de reconhecimento de objetos.

Os resultados do estudo de Malekabadi *et al.*, (2015) mostraram que após 4 semanas da realização da ovariectomia os comportamentos exploratórios no teste de campo aberto foram diminuídos em ratos OVX em comparação com o grupo Sham. Resultados semelhantes foram encontrados por Khalegui *et al.*, (2021) onde, utilizaram Ratos wistar fêmeas adultas com idade entre 21 e 22 semanas, e após 15 dias da realização dos procedimentos cirúrgicos, encontraram redução na distância total movida pelo grupo OVX em relação ao grupo sham.

Já o estudo de Hajali *et al.*, (2012), avaliou a capacidade locomotora dos animais após 2 meses da realização da cirurgia para retirada dos ovários, e não foram encontradas diferenças na distância percorrida dos animais OVX em relação aos animais do grupo Sham. Estes resultados divergentes, podem ser, em parte, explicados pelas diferenças metodológicas de cada estudo como, por exemplo, o tempo após os procedimentos cirúrgicos e idade dos animais ao final do experimento.

Para avaliar a memória testamos a capacidade do animal de memorizar diferentes objetos em curto e longo prazo, através do teste de reconhecimento de objetos. O teste de reconhecimento de objetos é considerado um teste rápido e eficiente para experimentos com roedores, principalmente quando se almeja elucidar sobre aprendizado e as fases da memória. A maior vantagem deste teste é que o mesmo se baseia no instinto natural dos roedores em explorar a novidade, sendo assim, o teste não requer muitos dias de treinamento e não gera maior estresse, como é o caso de outros testes com esse mesmo intuito (LUEPTOW; 2017).

Observamos em nosso estudo que em ambos os testes de reconhecimento de objetos, de 2 e 24 horas, os animais ovariectomizados apresentaram maior tempo de exploração ao objeto familiar em relação ao grupo de cirurgia controle. Estes resultados sugerem um declínio nas memórias de curta e longa duração em animais ovariectomizados.

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Zheng *et al.*, (2021), onde, os ratos do grupo OVX apresentaram uma capacidade significativamente reduzida de explorar novos objetos e uma diminuição da preferência por novos objetos em comparação com o grupo controle. Coletivamente, esses achados indicaram que o OVX pode reduzir a capacidade dos animais de reconhecer e lembrar dos objetos familiares.

Chulikhit *et al.*, (2021) observou no teste de reconhecimento de objetos, que o grupo de cirurgia controle passou um tempo significativamente mais longo explorando o objeto novo do que o familiar, enquanto os ratos OVX tratados pelo veículo não conseguiram discriminar esses dois objetos, indicando o prejuízo induzido pelo OVX da memória de trabalho não espacial.

O hipocampo exerce um papel crucial na formação de novas memórias e em sua subsequente reativação, esta região possui uma capacidade limitada de adquirir informações de forma rápida e automática, sem mantê-las por muito tempo. Contudo, a informação originalmente disponível torna-se permanente para outras estruturas cerebrais como o córtex, independentemente da atividade hipocampal (CINELLI JR *et al.*, 2020; SEONG *et al.*, 2016; VALERO *et al.*, 2014).

Estudos revelam que o hipocampo é intimamente regulado por estrogênios especialmente 17β -estradiol de forma específica do sexo, o estrogênio vem da circulação (sintetizado nos órgãos sexuais) e/ou da síntese local, incluindo a síntese de novo estrogênio do colesterol e/ou diretamente da conversão de testosterona, sendo que, ambos precisam da enzima catalisadora, aromatase. Está bem estabelecido nas últimas décadas que o estrogênio gonadal media a flutuação na densidade de sinapse hipocampal durante o ciclo estrous no rato adulto. Sabe-se que para a síntese de estradiol no hipocampo é mediado por um sistema neuronal contendo P450_{scc} para síntese pregnenolone, implicando que o hormônio é sintetizado por P450_{37s} e enzima aromatase localizada em neurônios do hipocampo. No entanto, em contraste com a lenta ação do estrogênio gonadal, o estrogênio hipocampal pode contribuir substancialmente para a função do mesmo, principalmente, para agir no local e de forma rápida modulando a plasticidade sináptica hipocampal. O estrogênio sintetizado no hipocampo, além do gonadal, é essencial para a plasticidade sináptica, desenvolvimento cerebral, crescimento do axônio e neuroproteção (BIAN *et al.*, 2014; LAN *et al.*, 2021; Engler-Chiurazzi *et al.*, 2016).

Os mecanismos da regulação do estrogênio sobre plasticidade sináptica hipocampal incluem via genômica crônica clássica e via não genômica rápida. Os receptores de estrogênio

de membrana nuclear ou plasmática, estão envolvidos nessas duas vias de sinalização (BIAN *et al.*, 2014).

Nos últimos anos cresceram as evidências que sugerem que os hormônios gonadais atuam como neurosteróides que são produzidos no cérebro e, assim, modificam rapidamente a cognição e outras funções neurais. Conseqüentemente, a redução dos níveis de estrogênio pela menopausa ou ovariectomia pode não só aumentar a incidência de patologias inflamatórias, mas também diminuir a neurogênese e a plasticidade neuronal (CHULIKHIT *et al.*, 2021).

A queda de estrogênio em mulheres na pós-menopausa está associada ao aumento dos níveis de estresse oxidativo e apoptose, e aumenta o risco de certas doenças, incluindo processos degenerativos no sistema nervoso central. Foi relatado que o estresse oxidativo aumenta no cérebro de ratos fêmeas após a ovariectomia e que o E2 protege o hipocampo, córtex cerebral e hipotálamo do estresse oxidativo mitocondrial (Yazgan; Nazıroğlu, 2017).

Os hormônios sexuais influenciam em vários aspectos do organismo. O ganho de peso induzido pela ovariectomia tem sido atribuído a alterações metabólicas como resultado da queda do estrogênio, o que leva ao aumento da síntese de gordura e deposição nos adipócitos. Quando as células adiposas atingem sua capacidade de armazenamento de gordura, estas se mobilizam para serem depositadas no tecido adiposo visceral. Isso é frequentemente associado a fatores de risco cardiovasculares. (ZHANG *et al.*, 2016; LIZCANO; GUZMÁN, 2012).

Em relação ao ganho de peso, em nosso estudo podemos observar antes dos procedimentos cirúrgicos os animais de ambos os grupos apresentavam pesos semelhantes e que após a cirurgia de ovariectomia, e conseqüentemente, a queda dos níveis do hormônio estrogênio, levaram ao aumento do ganho de peso dos animais ao longo do período de experimento, mostrando assim, a influência da ausência do estrogênio no controle do peso corporal.

Os dados de Zhang *et al.*, (2016) mostram um aumento significativo no peso corporal de ratas ovariectomizadas em comparação com a cirurgia controle, e também mostram que embora o consumo alimentar tenha sido comparável ao longo do estudo, o aumento da gordura corporal deveu-se ao aumento da lipogênese ou à diminuição da lipólise ou ambos. Afirmando estes dados, Chiang *et al.*, (2016) também demonstraram um aumento do ganho de peso nos animais submetidos a cirurgia de retirada dos ovários em comparação com o grupo controle durante seu experimento.

No estudo de Chao *et al.*, (2017), que também utilizaram este modelo de indução de menopausa, foi possível observar que no início os pesos não se diferiam, após 2 semanas de experimento já era possível notar uma tendência do maior ganho de peso no grupo ovariectomizado e que recebia o tratamento controle, após 12 semanas o aumento do peso corporal em ratos OVX foi mais expressivo do que em ratos de controle.

Em estudo recente, os autores encontraram resultados semelhantes quanto ao acompanhamento de peso de ratas submetidas à retirada dos ovários. O estudo foi mais longo que o nosso trabalho, porém através da linha de tempo de acompanhamento foi possível visualizar diferença significativa a partir do 33º dia e a continuidade desta tendência até o final do experimento (BURCH *et al.*, 2021).

Particularmente, a obesidade relacionada à menopausa é considerada um importante problema de saúde, que afeta negativamente a qualidade de vida das mulheres. Uma ligação entre inflamação associada à obesidade foi recentemente proposta, onde o excesso de peso corporal e o aumento da adiposidade resultam em hipertrofia, lise e necrose do tecido adiposo levando ao recrutamento de macrófagos e à secreção de fatores pró-inflamatórios, o aumento de algumas citocinas como TNF-alfa e proteína C-reativa (CRP) parecia ser parcialmente dependente do índice de massa corporal (IMC). Além disso, fatores de risco importantes para doenças cardiovasculares associadas à obesidade, incluindo dislipidemia e desequilíbrio leptina/adiponectina, têm sido relatados em mulheres obesas pós-menopausa e animais ovariectomizados. No excesso de peso, a resistência à leptina tem sido associada ao comprometimento da saúde mental. Essas observações destacaram a importância da inflamação para a obesidade associada à menopausa (BANIN *et al.*, 2021; CHAO *et al.*, 2017).

No que tange sobre acúmulo de tecido adiposo, podemos observar em nosso estudo que nos sítios adiposos analisados, houve diferença apenas no tecido adiposo subcutâneo. O estudo de Banin e colaboradores (2021) encontraram que, após 2 meses da realização dos procedimentos cirúrgicos (ovariectomia e celiotomia) o peso no tecido adiposo retroperitoneal e subcutâneo foi maior no grupo dos animais ovariectomizados em relação aos animais controle, nos demais tecidos não houve diferença.

O estudo de Shen *et al.*, (2019), analisou os tecidos adiposos após 9 semanas da realização da ovariectomia e da cirurgia controle. Os resultados apresentaram aumento na massa total de blocos de gordura visceral do grupo OVX quando comparados com o grupo Sham. A massa total de gordura visceral foi composta por massa de almofada de gordura perirenal, retroperitoneal e mesentérica.

Já o estudo de Yeh *et al.* (2021), onde após 8 semanas de experimento, foram analisados os pesos dos tecidos adiposos retroperitoneal, gonadal e perirenal dos animais ovariectomizados e aos submetidos a cirurgia controle, onde não foram encontradas diferenças entre os pesos nestes grupos.

O útero é um dos principais tecidos alvo de estrogênios endógenos e exógenos. Em roedores é bem elucidado pela literatura que quando os animais são submetidos a cirurgia de retirada dos ovários tende-se a involução do útero. Isto ocorre devido a falta do hormônio gonadal que regula todo o ciclo reprodutivo e é um parâmetro que confirma a realização da cirurgia de forma correta (ZHOU *et al.*, 2016; YEH *et al.*, 2021). Nossos resultados permitem observar que o grupo submetido a ovariectomia sobre este efeito da queda do hormônio estrogênio apresentou um peso do útero significativamente menor quando comparado com os animais submetidos à celiotomia.

Zhang *et al.*, (2016) encontraram resultados semelhantes em seu estudo, onde demonstraram que ratos ovariectomizados apresentaram uma redução no peso uterino e espessura endometrial comparado com ratos controle. A redução da espessura endometrial foi causada pela falta de estrogênio secretado pelos ovários. Corroborando também com estes resultados, os estudos de Renczés *et al.*, (2020) e Banin *et al.* (2021), mostraram a redução significativa do peso do útero das ratas ovariectomizadas quando comparadas com os animais submetidos a cirurgia controle.

Em suma, os dados apresentados nesta primeira parte do nosso estudo, obtidos a partir de ratas ovariectomizadas, mostraram uma maior distância percorrida no teste de campo aberto, aumento do tempo de exploração ao objeto familiar, redução do tempo de exploração ao objeto novo, em 2 e 24h, no teste de reconhecimento de objetos. Em relação ao peso corporal, notou-se o aumento nos animais ovariectomizados em relação ao grupo controle, e quanto ao acúmulo de tecido adiposo não houve diferença entre os pesos. O fato de o peso do útero ter apresentado redução nos sugere o sucesso da cirurgia, mostrando que os níveis dos hormônios estavam baixos.

7.2 AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM ESTRADIOL EM RATAS OVARIECTOMIZADAS

Encontramos na literatura que após 15 dias da realização da cirurgia de ovariectomia os níveis de estradiol circulantes já se encontram baixos, e já é possível observar prejuízos na memória dos animais, assim, definimos o décimo quinto dia para iniciar o tratamento de reposição hormonal com estradiol e o período de 14 dias de tratamento para o início dos testes comportamentais (FIORINI, 2019; KHALEGUI *et al.*, 2021; ABD-RABO *et al.*, 2018).

Em nosso estudo objetivamos analisar os efeitos da administração diária de estradiol na reversão dos déficits de memória nas ratas ovariectomizadas. A terapia de reposição hormonal (TRH) é utilizada por algumas mulheres na pós-menopausa principalmente para redução dos sintomas característicos desta fase (CHULIKHIT *et al.*, 2021; MORRONE *et al.*, 2016).

Sobre o teste de campo aberto observamos em nosso estudo que os animais que receberam estradiol diariamente apresentaram menor distância percorrida e, conseqüentemente, um maior tempo de imobilidade. Resultados estes que não interferem nos dados obtidos no teste de reconhecimento de objetos, pois não mostram uma redução na exploração do animal.

Semelhante ao nosso estudo quanto ao tempo após a cirurgia de ovariectomia, Khalegui *et al.*, (2021) avaliaram a exposição a agentes estressores físicos e psicológicos em animais ovariectomizados, e encontrou que, a exposição ao estradiol aumentou a atividade locomotora em ambos os grupos OVX expostos a estressores quando comparados à atividade nos grupos OVX expostos ao estresse e tratados com veículo.

No teste de reconhecimento de objetos notamos que na memória de curta duração (teste de 2 horas) as ratas que receberam o tratamento com estradiol exploraram um maior tempo o objeto novo em relação ao grupo que recebeu o veículo. Já no teste para avaliar a memória de longa duração (24 horas), o grupo que recebeu a reposição hormonal obteve um menor tempo de exploração ao objeto familiar. Mostrando assim que, o tratamento com estradiol foi capaz de reverter o déficit de memória gerado pela ovariectomia.

Corroborando com estes resultados, um estudo descobriu que os ratos OVX tratados com estradiol passaram mais tempo explorando o objeto novo do que os ratos do grupo sham e o grupo tratado com veículo. Os autores sugeriram que o efeito estrogênio na memória não é

simplesmente uma consequência de restaurar temporariamente os níveis deste hormônio, mas que o estrogênio está agindo como um melhorador cognitivo, uma vez que permite que uma memória, que normalmente não persiste, persista por mais tempo (PEREIRA *et al.*, 2014).

Fonseca *et al.*, (2013) tiveram como objetivo investigar quais são as mudanças plásticas desencadeadas pelo tratamento de reposição hormonal, uma vez instalado o déficit de memória induzido pelo OVX. Apesar de neste estudo o tempo de tratamento com estradiol ser maior (12 semanas) foi encontrado o déficit de memória nos animais através do teste de reconhecimento de objetos, e o mesmo foi resgatado após 5 semanas de tratamento com estradiol.

O estradiol tem sido demonstrado como um fator que aumenta a plasticidade sináptica e conseqüentemente afetando o aprendizado e a memória. A potencialização a longo prazo aumenta após o tratamento com estradiol, bem como a densidade de colunas dendríticas. Curiosamente, os efeitos do estradiol sobre a plasticidade sináptica ocorrem rapidamente, o que sugere a ativação de receptores associados à membrana. De fato, várias evidências apoiam a presença de ER α e ER β na membrana, além de sua localização clássica no núcleo. A rotulagem ER α foi detectada em axônios e espinhas dendríticas bem como associada a pequenas vesículas de varizes axonais gabaérgicas na região CA1 do hipocampo (PEREIRA *et al.*, 2014).

Os estrogênios desempenham papéis importantes em várias regiões cerebrais envolvidas no aprendizado e na memória, como hipocampo e córtex frontal. O hormônio ovariano, fator neuroprotetor natural, tem efeitos neuroreguladores e neuroprotetores. Sugere-se que o estrogênio pode afetar a síntese de neurotransmissor, regulação de BDNF, crescimento de neurônios, formação de sinapse, densidade da coluna neuronal e condução neural, regula o crescimento de astrócitos e células microgliais, promove a formação de fibras nervosas e suprime apoptose neuronal. Ao mesmo tempo, os receptores de estrogênio são distribuídos em numerosas regiões cerebrais, fazendo com que o hormônio atravesse a barreira cerebral para agir em múltiplos sistemas de neurotransmissores associados ao seu receptor, como resultado, regula a estrutura e função do sistema nervoso central (SNC), modula reações emocionais e função cognitiva, e exibe o efeito neuroprotetor. Conseqüentemente, a terapia de substituição de estrogênio tem um efeito terapêutico definido, mas está associado a inúmeras contra indicações de aplicação hormonal de longo prazo e potencial carcinogenicidade (GE *et al.*, 2020; MOHAMMADI; ZARE, 2020).

O estradiol atua em várias vias metabólicas com o perfil de regular positivamente fatores anti obesogênicos e melhorar o perfil metabólico saudável. O maior ganho de peso é um efeito

da queda do hormônio estrogênio no organismo feminino e reflete no acúmulo de gordura nos tecidos adiposos. (MEDINA *et al.*, 2020).

Um conjunto de evidências demonstram que a sinalização estrogênica pode ter um papel importante no desenvolvimento da obesidade em mulheres na menopausa, com isto as mulheres têm três vezes mais chances de desenvolver anormalidades de obesidade e síndrome metabólica do que as mulheres na pré-menopausa. Uma redução significativa do estrogênio e progesterona resulta do esgotamento folicular, produzindo muitos padrões androgênicos de distribuição de gordura, ou seja, um aumento na adiposidade central ou abdominal. A ovariectomia pode induzir ganho de peso e deposição de gordura em roedores, enquanto o tratamento com estradiol ou antioxidante pode restaurar essas alterações. Além disso, a terapia de reposição hormonal à base de estrogênio/progesterona em mulheres na menopausa tem sido demonstrada para reduzir o tecido adiposo visceral, a glicemia de jejum e os níveis de insulina. (LIZCANO *et al.*, 2014; CHAO *et al.*, 2017).

Em relação ao ganho de peso corporal, é possível observar em nosso estudo o ganho de peso semelhante em ambos os grupos nos primeiros 15 dias pós cirúrgico, e que após o início do tratamento com estradiol os animais deste grupo apresentaram redução do peso em comparação com os animais tratados com o veículo. Sobre o peso dos tecidos adiposos avaliados, encontramos, a redução do peso do tecido adiposo gonadal nas ratas submetidas ao tratamento com estradiol, em relação aos outros sítios adiposos, não encontramos diferença nos pesos.

Russel *et al.*, (2017) observaram em seu trabalho que o tratamento diário com estradiol levou a uma redução do ganho de peso das ratas ovariectomizadas, sendo mais acentuada no final do experimento. Resultados estes que se assemelham aos encontrados no nosso estudo.

Segundo Hamm *et al.*, (2019) “A menopausa é frequentemente marcada por um aumento do peso corporal, sem mudança na dieta ou hábitos de exercício”. Embora não tenha alcançado significância estatística em seu estudo Hamm e sua equipe (2019), mostraram que em relação ao grupo SHAM, houve uma tendência para o aumento do peso corporal no grupo OVX, e houve um aumento do peso do tecido adiposo visceral neste grupo. No entanto, a suplementação com estradiol, apresentou uma redução do ganho de peso durante o período experimental e também demonstrou proteção contra o acúmulo de tecido adiposo visceral nesses animais.

Em outro estudo os grupos OVX apresentaram aumentos significativos na massa total de blocos de gordura visceral (sendo a massa total de gordura visceral composta por tecido adiposo perirenal, retroperitoneal e mesentérico) quando comparados com o grupo Sham e este aumento da massa de blocos de gordura foi reduzido em OVX + estradiol em comparação com os grupos OVX+ veículo (SHEN *et al.*, 2019).

Quanto ao peso do útero, podemos observar nos nossos resultados um expressivo aumento deste parâmetro nas ratas que receberam o hormônio estradiol diariamente. Resultado este que se assemelha com os achados de Renczés *et al.*, (2020), que demonstraram em seu estudo que as ratas ovariectomizadas e submetidas ao tratamento com estradiol apresentaram maior peso uterino quando comparadas com os animais submetidos à celiotomia e com o grupo OVX que não recebeu a reposição hormonal.

Segundo Kundu *et al.*, (2018), o aumento do peso uterino detectado é sugestivo de atividade estrogênica, especialmente atividade do receptor ER α , onde, o mesmo em seu estudo, também encontrou um expressivo aumento no peso do útero das ratas ovariectomizadas e tratadas com estradiol.

Morrone *et al.*, (2016,b) observaram em seu trabalho que os animais Sham apresentaram diferentes morfologias uterina de acordo com a fase do ciclo estral. Dos animais que fizeram parte de seu estudo, dois ratos do grupo sham, apresentaram proestrus característico (alto teor de fluido e tecido grosso), enquanto outros exibiram morfologias de outras fases do ciclo, estrus ou diestrus. A fase Proestro é considerada um período de preparação, caracterizado pelo crescimento de novos folículos ovarianos e apresenta altos níveis de estradiol e células vaginais grandes e nucleadas. Sendo assim, devido a reposição diária de estradiol nas ratas ovariectomizadas, o estímulo hormonal é constante e com isto justifica-se o tamanho uterino aumentado encontrado nas ratas deste grupo (GAN *et al.*, 2019).

Em outro estudo, os animais que foram submetidos a cirurgia de ovariectomia foram tratados com estradiol por um período de 14 dias, como resultados também encontraram um maior peso do útero no grupo que recebia a reposição hormonal quando comparado com os controles (RUSSELL *et al.*, 2017).

Em resumo, os dados apresentados nesta parte do nosso estudo, obtidos a partir de ratas ovariectomizadas e submetidas ao tratamento com o hormônio estradiol, mostraram uma redução da locomoção/exploração e um maior do tempo de imobilidade no teste de campo aberto. No teste para avaliar a memória de reconhecimento de objetos notou-se um aumento do

tempo de exploração ao objeto novo no teste de 2 horas e redução do tempo de exploração ao objeto familiar em 24 horas. Em relação ao peso corporal, notou-se que o estradiol reduziu o peso dos animais OVX+estradiol ao longo do experimento, e quanto ao acúmulo de tecido adiposo houve diferença apenas no peso do tecido adiposo gonadal que foi menor no grupo tratado com estradiol. O peso do útero apresentou aumento devido a ação do estradiol nos receptores presentes no mesmo.

7.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM CURCUMINA EM RATAS OVARIETOMIZADAS

Como já citado, definimos através de estudos, o décimo quinto dia após os procedimentos cirúrgicos para iniciar o tratamento com a curcumina sobre as alterações cognitivas e neurodegenerativas induzidas pela ovariectomia (FIORINI, 2019). Selecionamos a partir de um estudo prévio de nosso laboratório a dose de 50mg/Kg para ser administrada por gavagem nos animais por um período de 17 dias (REIS, 2018).

Existe um grande número de trabalhos científicos sobre o papel neuroprotetor da curcumina e que demonstram esta ação sobre os déficits cognitivos em diversos modelos experimentais. Entretanto, trabalhos que abordam conjuntamente o tratamento com curcumina, déficits cognitivos e ovariectomia são escassos. (AKINYEMI *et al.*, 2018; BAGHBADERANI *et al.*, 2021; SCAPAGNINI *et al.*, 2011; KHAN *et al.*, 2019).

Sobre o teste de campo aberto foi possível observar que os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e tratados com veículo obtiveram um menor tempo de imobilidade quando comparados com os valores apresentados pelo seu grupo controle (Sham + veículo), este resultado não refletiu na distância percorrida dos animais deste grupo e respectivamente não apresenta influência negativa no tempo de exploração no teste de reconhecimento de objetos.

Em estudo recente de Saied *et al.*, (2020) no teste de campo aberto, a ovariectomia reduziu a frequência total de ambulação em comparação com o grupo Sham. No entanto, o tratamento com a curcumina melhorou a ambulação em ratos ovariectomizados.

Em nosso trabalho, no teste de reconhecimento de objetos, os animais submetidos a cirurgia de ovariectomia e tratados com curcumina apresentaram em ambos os testes de 2 e 24 horas um maior tempo de exploração ao objeto novo em relação aos animais que foram tratados com veículo (OVX+ veículo). Estes resultados permitiram-nos compreender que a curcumina foi capaz de melhorar os parâmetros apresentados no teste. Notou-se uma lacuna na literatura

relacionando os efeitos da ovariectomia na memória de reconhecimento de objetos e o tratamento com curcumina.

O estudo de Belviranlı *et al.*, (2013) teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação de curcumina no comprometimento cognitivo avaliado pelo labirinto de água morris (MWM) em ratas. A curcumina ou veículo foi administrada uma vez por dia por um período de 12 dias. Durante o treinamento do teste, a suplementação de curcumina reduziu a latência para chegar à plataforma e a distância total percorrida e durante o teste da sonda, os animais tratados com curcumina aumentaram o número de cruzamentos de plataforma em relação aos animais controle.

O trabalho de Dolatabatie *et al.*, (2019) utilizou ratos machos para avaliar o tratamento com curcumina sobre a memória de ratos com isquemia cerebral global. O estudo revelou que a curcumina poderia melhorar o déficit neurológico e o prejuízo de memória no teste de reconhecimento de objetos e protegeu a distribuição normal de neurônios na região hipocampal de CA1 após a indução da isquemia de forma dependente do tempo.

Já Bassani *et al.* (2017) levantou a hipótese em seu estudo que o tratamento da curcumina seria capaz de preservar a cognição aumentando a neurogênese e reduzindo a neuroinflamação no modelo de demência do tipo alzheimer induzida por uma injeção intracerebroventricular de estreptozotocina (ICV-STZ) em ratos Wistar. Os animais foram expostos ao ICV-STZ e a tratamentos de veículo e curcumina (25, 50 e 100 mg/kg) que foram administrados por 30 dias. O tratamento de curcumina nas doses de 50 e 100 mg/kg impediu os déficits na memória de reconhecimento de objetos dos animais tratados em relação aos animais que receberam o veículo.

Existem algumas hipóteses que explicam a melhora da função cognitiva com o uso da curcumina. As ações antioxidante, anti inflamatória e anti apoptótica são uma delas, devido a modulação de processos bioquímicos envolvidos no déficit cognitivo como: a morte de neurônios induzida pelo estresse oxidativo, inflamação e disfunção mitocondrial (HE *et al.*, 2015; TSAI *et al.*, 2021).

Sabe-se que a quantidade de óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas ajudam na defesa contra patógenos invasores, portanto, é crítica para a resposta inflamatória e para o sistema imune inato. Porém, concentrações altas destes componentes podem levar a efeitos tóxicos e deletérios. As atividades dessas moléculas oxidantes são altamente dependentes da concentração e por isso, a regulação da produção é fundamental para manter as funções fisiológicas adequadas e para controlar os seus efeitos deletérios (ABRAHAMS *et al.*, 2019; CINELLI *et al.*, 2020; LEO; CAMPOS, 2019).

Estudos *in vitro* mostraram que a curcumina protege o cérebro da peroxidação lipídica e previne o dano oxidativo do DNA pela regulação de radicais hidroxila (HO), NO e ROS. Esse composto também foi descrito como um potente ativador da enzima glutationa S-transferase e um indutor efetivo do aumento do conteúdo de GSH em células cerebrais (BANERJEE, 2016; ISHRAT *et al.*, 2009; MAZZANTI; GIACOMO, 2016; NISHINAKA *et al.*, 2007).

A curcumina contém altos níveis de compostos antioxidantes, incluindo ligações de duplo carbono, anéis fenil e grupo β -diceto. Estudos em ratos mostraram que a propriedade lipossolúvel da curcumina possibilita a proteção da membrana celular, uma vez que ela é capaz de neutralizar HO, ON, ROS e peróxido de hidrogênio e induzir o aumento da atividade de enzimas antioxidantes como SOD, CAT, quiona redutase induzida e glutationa S-transferase (KARIMI *et al.*, 2019; NIMSE; PAL, 2015; PARK *et al.*, 2020).

Outro importante fator patológico na neurodegeneração é representado pela inflamação cerebral. Mediadores inflamatórios como citocinas e quimiocinas liberadas por células ativadas (microglia, astrócitos, macrófagos e linfócitos) contribuem para o aumento do estresse oxidativo e conseqüentemente ao dano neuronal. Estudos relatam que a curcumina regula as respostas inflamatórias suprimindo a atividade dos fatores de transcrição como NFkB e a AP-1. Além disso, a curcumina bloqueia a indução do óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e inibe a lipoxigenase e a ciclooxigenase-2 (COX-2) (BENGMARK *et al.*, 2006; HE *et al.*, 2015; MAZZANTI; GIACOMO, 2016; SANDUR *et al.*, 2007).

Boozari *et al* (2019) elucidaram o papel anti-inflamatório deste composto, evidenciando o seu efeito modulador sobre o receptor TLR4. Sabe-se que a ativação deste receptor culmina em uma série de eventos de sinalização intracelular, os quais induzem a ativação de NF-kB com conseqüente produção de citocinas pró-inflamatórias, ROS e NO.

Em modelos de roedores submetidos à ovariectomia, o ganho de peso e o excesso de tecido adiposo visceral são mudanças fenotípicas bem descritas causadas por este modelo. Como já citado, a obesidade e o aumento da ingestão alimentar são fenômenos comuns em mulheres na menopausa, levando ao ganho de peso, redução gradual da massa corporal magra e acúmulo progressivo de gordura em diferentes regiões do corpo. A gordura abdominal induz o estresse oxidativo, que por sua vez, tem se mostrado causado por inflamação sistêmica crônica de baixo nível. (MORRONE *et al.*, 2016b)

No que se refere ao acompanhamento de ganho de peso, nosso estudo demonstrou que os animais submetidos à ovariectomia apresentaram maior ganho de peso a partir da segunda semana de experimento comparado com os animais do grupo controle, não foram observadas

diferenças no ganho de peso nos grupos tratados com curcumina. Quanto ao peso dos tecidos adiposos não foram encontradas diferenças entre os grupos analisados em nosso estudo.

No estudo de Zhang *et al.*, (2017), em comparação com os ratos SHAM, a ovariectomia levou a um maior ganho de peso corporal. No entanto, a curcumina teve um efeito preventivo no ganho de peso corporal, com isso, concluíram que a curcumina não tinha ação semelhante ao estrogênio, mas poderia ser um potencial agente de perda de peso para mulheres na menopausa.

O estudo Sunmim *et al.*, (2016) utilizou a curcumina adicionada a dieta dos animais (a ingestão de curcumina, foi de aproximadamente 55-57 mg/dia) e encontrou que os ratos OVX apresentaram pesos corporais mais altos do que os ratos Sham na quarta e sétima semana. O consumo de curcumina não alterou o aumento do peso corporal em ratos OVX+curcumina. Os pesos da almofada de gordura gonadal e retroperitoneal foram, ao contrário do peso corporal, reduzidos no grupo que recebeu a curcumina. Os ratos OVX apresentaram menor peso uterino em comparação com os animais controle, e o tratamento com a curcumina não alterou este parâmetro.

Em outro estudo o ganho de peso corporal foi avaliado por um período de tratamento de 30 dias com curcumina. Independentemente da suplementação com curcumina, o ganho de peso foi significativamente maior em todos os grupos OVX quando comparado com o controle. O tecido adiposo mesentérico também foi removido e ponderado. Os animais OVX tratados com veículos apresentaram maior relação tecido adiposo mesentérico/peso corporal quando comparados com ratos controle e a suplementação com curcumina reduziu o peso deste sítio adiposo. Também coletaram, pesaram e analisaram a morfologia uterina no final dos tratamentos. O útero de ratos ovariectomizados foi encontrado altamente atrofiado, confirmando a ausência de hormônios ovarianos ao longo deste período. Todos os ratos OVX, inclusive os animais tratados com curcumina, apresentaram uma redução significativa no peso do tecido uterino quando comparados a grupos falsos (MORRONE *et al.*, 2016,b).

No parâmetro sobre o peso do útero, podemos observar em nosso estudo, que o tratamento com a curcumina não o influenciou, confirmando a involução do mesmo sobre o efeito da redução do hormônio estrogênio nos animais ovariectomizados, quando comparados com seu respectivo controle.

Resultados semelhantes a estes foram encontrados por Zhang *et al.*, (2017) onde, analisaram a influência do tratamento com curcumina em animais ovariectomizados e encontraram uma redução do peso do útero dos animais que receberam ou não o tratamento

com a curcumina, os autores sugeriram que a curcumina não atuou como um fitoestrógeno e sim como um composto bioativo agindo por outras vias.

Podemos notar a escassez de estudos que visam mostrar os efeitos da ovariectomia e o tratamento com curcumina no déficit de memória de ratas, com isto a dificuldade de melhor elucidar os nossos resultados. O modelo de ovariectomia em ratas nos permite aprofundar nos efeitos causados pela queda do estrogênio no organismo e, assim, poder extrapolar estes resultados de modo translacional. Sabemos o papel da curcumina na modulação das respostas anti inflamatória, antioxidante e anti apoptótica e sugerimos uma investigação mais aprofundada sobre o potencial e a segurança deste composto bioativo para tratar mulheres na fase de menopausa com o objetivo de amenizar os processos relacionados ao envelhecimento frequentemente acelerados pelo estado da menopausa.

7.4 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS BDNF, SINAPTOFISINA E GFAP DO HIPOCAMPO DAS RATAS SUBMETIDAS A OVARIECTOMIA E CELIOTOMIA

Sobre a análise da expressão de BDNF no hipocampo não foi encontrada diferença entre o grupo ovariectomizado e o grupo controle. O BDNF é uma neurotrofina muito estudada, principalmente quando se almeja elucidar sobre desordens cognitivas. De acordo com a literatura, a queda de estrogênio provocada pela ovariectomia induz a redução da expressão de BDNF nestes animais, sugerindo assim, a alta participação do estrogênio na modulação desta proteína (TAO *et al.*, 2020; HABIBI *et al.*, 2017).

O estudo de HAJALI *et al.*, (2021) teve como objetivo investigar os prejuízos cognitivos da privação de sono em ratas ovariectomizadas e a expressão de BDNF nestes grupos experimentais. Os animais foram submetidos ao teste de labirinto aquático de Morris após 48 e 72 horas de privação de sono respectivamente, ao final do experimento os animais foram eutanasiados e o hipocampo utilizado para quantificação de BDNF. Segundo os autores, no teste comportamental, os animais Sham e ovx apresentaram déficit de memória quando foram privados de sono, já no teste de imunoblot não encontraram nenhum efeito significativo na expressão de BDNF no hipocampo, sugerindo que, independentemente do estado reprodutivo, a expressão BDNF não foi afetada pela privação do sono.

Quanto os resultados obtidos na análise da expressão de Sinaptofisina no hipocampo não encontramos diferença entre o grupo OVX e o grupo Sham. A Sinaptofisina é uma proteína encontrada no terminal nervoso dos neurônios que é preenchido com pequenas vesículas sinápticas, organelas especializadas envolvidas no armazenamento e liberação de

neurotransmissores. A sua expressão está associada a densidade sináptica, com isto é possível observar que uma redução nos níveis desta proteína está associada a processos como danos neuronais no sistema nervoso central (THIEL, 1993; SOUZA, 2021).

AGGARWAL *et al.*, 2020 teve como objetivo avaliar o papel da quercetina como um potencial agente neuroprotetor na prevenção do declínio cognitivo através da remodelação da cromatina em animais OVX. Foram utilizados camundongos que foram submetidos a ovariectomia e posteriormente aos testes de labirinto aquático de Morris, reconhecimento de objetos e labirinto elevado, após os testes, o córtex pré frontal e hipocampo foram armazenados para análise de Imunoblotting. Quanto a expressão das proteínas analisadas observou-se uma redução da expressão de sinaptofisina, PSD-95 e BDNF nos animais ovx quando comparados com o grupo Sham. Concluíram que a administração da quercetina previne o declínio cognitivo restaurando o equilíbrio HAT/HDAC através da ativação do ERK no córtex e no hipocampo dos camundongos OVX, atuando assim como um potencial neuroprotetor, prevenindo déficits cognitivos em mulheres pós-menopausa.

Acerca da análise da expressão de GFAP no hipocampo não foi observada diferença entre os grupos OVX e Sham. Os efeitos neuroprotetores de estrogênio veem sendo relatados em vários sistemas de células neuronais através de mecanismos genômicos e não genômicos. Estudos em modelos animais mostraram uma influência positiva dos estrogênios na neurodegeneração relacionada aos seus efeitos anti-inflamatórios e anti-apoptóticos. Os efeitos sobre a reatividade glial podem ser particularmente relevantes, uma vez que a ativação celular glial pode contribuir substancialmente para a progressão dos danos neuronais (SIANI *et al.*, 2017).

Os astrócitos estão envolvidos na reparação e proteção do sistema nervoso, formando tecido cicatricial glial sobre partes danificadas deste sistema. Essa função é a razão pela qual a astrogliose acompanha infecções e lesões cerebrais para tentar manter a integridade e proteger os neurônios sobreviventes. Desta forma, o aumento da imunorreatividade do GFAP, que é uma proteína de filamento intermediário expressa em astrócitos, é vista como um índice de dano cerebral (CAETANO, 2018).

O trabalho de SIANI *et al.*, (2017) utilizou camundongos ovariectomizados e tratados com 17β -estradiol ou placebo para investigar os efeitos do estrogênio no grau de ativação da glia e polarização de microglia durante o processo neurodegenerativo. A ativação de astrócito foi maior em camundongos OVX em relação aos outros grupos experimentais, com maior expressão GFAP, corpos celulares rounder com espessamento e reduções de projeções. Os

resultados suportam os efeitos protetores dos estrogênios contra a degeneração nigrostriatal, sugerindo que tais efeitos podem ser mediados por uma interação com a microglia.

Deste modo, levando-se em consideração os resultados encontrados no teste de reconhecimento de objetos, esperávamos que os animais do grupo OVX apresentassem uma redução da expressão de BDNF, Sinaptofisina e aumento do GFAP no hipocampo.

Evidências recentes demonstram que algumas regiões do cérebro, incluindo o hipocampo, são capazes de produzir estrogênio e ou armazená-lo por um determinado período após a realização da ovariectomia, fato este que sugere que estes neuroesteróides contribuem para a plasticidade neuronal. (HOJO; KAWATO 2018; FESTER; RUNE 2021; HAJALI *et al.*, 2021). O hipocampo feminino é capaz de sintetizar estradiol a partir colesterol e através da enzima aromatase, e como moduladores lentos/genômicos, podemos destacar o ácido cis-retinóico e o hormônio liberador de gonadotropina (GnRH). A liberação pulsátil do GnRH do hipotálamo controla a secreção do hormônio estimulante folículo (FSH) e hormônio luteinizador (LH) na hipófise, que, por sua vez, regulam a síntese hormonal esteroide nas gônadas. Isso permitiu testar se o GnRH controla a síntese estradiol também diretamente no hipocampo, local onde os receptores de GnRH são abundantemente expressos (HOJO; KAWATO 2018; FESTER; RUNE 2021).

FESTER e RUNE (2021) concluíram em sua revisão que “O estradiol gonadal muito provavelmente exerce um efeito através da regulação da liberação do GnRH do hipotálamo, que por sua vez regula a síntese estradiol hipocampal, mas estradiol de origem gonadal e presente no soro é improvável que tenha qualquer efeito direto no hipocampo”.

Uma questão a ser levantada sobre o nosso estudo é a de que não foi avaliada em qual fase do ciclo estral estavam as ratas do grupo Sham no momento da eutanásia, fato este que pode gerar uma notável variação da secreção de estrogênio em cada uma destas fases. Portanto, não se pode descartar que a suscetibilidade das ratas sobre a plasticidade cognitiva possa ser variada em diferentes fases do ciclo estrou (HOJO; KAWATO 2018; HAJALI *et al.*, 2021).

Outro fator importante a ser considerado é o tempo de experimento, onde, 32 dias após a realização da ovariectomia seria insuficiente para uma redução destas proteínas no hipocampo, sugerindo assim que, um maior tempo de experimento poderia ser necessário para essas alterações conforme encontrado em outros trabalhos (TAO *et al.*, 2020; EL-FATAH *et al.*, 2021). No entanto, o principal objetivo do presente estudo foi avaliar se os hormônios sexuais femininos têm potenciais efeitos protetores contra os déficits de memória.

Diante da análise dos nossos resultados, mais estudos são necessários para melhor elucidar os fatores responsáveis pelos déficits de memória encontrados nos animais ovariectomizados e como a curcumina pode ter contribuído para a melhora do mesmo.

8 CONCLUSÃO

Podemos concluir ao longo deste projeto que a cirurgia de ovariectomia em ratas adultas é um método capaz de simular a queda do hormônio estrogênio semelhante ao que acontece no organismo da mulher na fase da menopausa, a redução na produção deste hormônio nos permitiu observar o declínio nas memórias de curta e longa duração, o aumento do ganho de peso e a involução uterina em animais ovariectomizados. O tratamento com a reposição de estradiol permitiu consolidar a hipótese de que o hormônio é capaz de reverter estes déficits de memória nas ratas submetidas a cirurgia de retirada dos ovários e que também se mostrou efetivo na prevenção do ganho de peso.

Os dados deste estudo também demonstram que o tratamento oral com curcumina, atenuou os déficits de memória observados nas tarefas de reconhecimento de objetos nos animais ovariectomizados, porém, este composto não interferiu nos parâmetros de ganho de peso e involução uterina, sendo assim, não atuou como um fitoestrógeno e sim como um composto bioativo agindo por outras vias e mostrando-se como um composto neuroprotetor.

REFERÊNCIAS

- ABD-RABO, M. M. *et al.* Involvement of the serotonergic system and neuroplasticity in the antidepressant effect of curcumin in ovariectomized rats: Comparison with oestradiol and fluoxetine. **Phytother Res**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 387-396, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez37.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1002/ptr.6232>. Acesso em: 13 out. 2022.
- ABRAHAMS, S. *et al.* Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. **Neuroscience**, [s. l.], v. 406, p. 1–21, 2019.
- AGGARWAL, A. *et al.* Quercetin alleviates cognitive decline in ovariectomized mice by potentially modulating histone acetylation homeostasis. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 84, October 2020.
- AKINYEMI, A. J. *et al.* Curcumin administration suppress acetylcholinesterase gene expression in cadmium treated rats. **Neurotoxicology**, [s. l.], v. 62, p. 75-79, 2017.
- ANDERSEN, M. L. *et al.* **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, p. 167, 2004.
- ARGYROUSI, E. K. *et al.* Pro-cognitive effect of upregulating cyclic guanosine monophosphate signalling during memory acquisition or early consolidation is mediated by increased AMPA receptor trafficking. **J Psychopharmacol**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 103–114, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6947811/>. Acesso em: 15 abr. 2022.
- BAGHBADERANI, S. *et al.* Curcumin prevents cognitive deficits in the bile duct ligated rats. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 237, n. 12, p. 3529-3537, 2020.
- BANERJEE, B. *et al.* Benzo(a)pyrene Induced p53 Mediated Male Germ Cell Apoptosis: Synergistic Protective Effects of Curcumin and Resveratrol. **Front Pharmacol**, [s. l.], v. 7, p. 245, 2016.
- BANIN, R. M. *et al.* Ginkgo biloba extract (GbE) attenuates obesity and anxious/depressive-like behaviours induced by ovariectomy. **Sci Rep.**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 44, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7794418/>. Acesso em: 02 abr. 2022.

BENGMARK, S. *et al.* Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NF- κ B, cyclooxygenase-2, lipooxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: A shield against acute and chronic diseases. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, [s. l.], v. 20, p. 45–51, 2006.

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**, [s. l.], v. 335, n. 29, p. 41-54, 2017.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432817311373>. Acesso em: 19 abr. 2022.

BATISTA, Tatiane Helena. **Influência da desnutrição proteica materna sobre as respostas comportamentais e após estresse imunológico na prole.** 2019. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Alfenas, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Alfenas, MG, 2019.

BATINIĆ, B. *et al.* Lipopolysaccharide exposure during late embryogenesis results in diminished locomotor activity and amphetamine response in females and spatial cognition impairment in males in adult, but not adolescent rat offspring. **Behav Brain Res.**, [s. l.], v. 15, n. 299, p. 72-80, 2016.

BELLEZZA, I. *et al.* Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, [s. l.], v. 1865, n. 5, p. 721-733, 2018.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016748891830034X?via%3Dihub>. Acesso em: 14 out. 2022.

BELVIRANLI, M. *et al.* Curcumin improves spatial memory and decreases oxidative damage in aged female rats. **Biogerontology**, [s. l.], v. 14, p. 187–196, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10522-013-9422-y>. Acesso em: 30 mar. 2022.

BIAN, C. *et al.* Intriguing Roles of Hippocampus-Synthesized 17 β -Estradiol in the Modulation of Hippocampal Synaptic Plasticity. **Journal of Molecular Neuroscience**, [s. l.], v. 54, p. 271–281, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12031-014-0285-8>. Acesso em: 13 out. 2022.

BIRD, C. M. The role of the hippocampus in recognition memory. **Cortex**, [s. l.], v. 93, p. 155-165, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010945217301715?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2022.

BOOZARI, M; BUTLER, A. E; SAHEBKAR, A. Impact of curcumin on toll-like receptors. **J Cell Physiol.**, [s. l.], v. 1. p. 1-13, 2019.

BURCH, K. E. *et al.* Relationship Between Circulating Metabolic Hormones and Their Central Receptors During Ovariectomy-Induced Weight Gain in Rats. **Front Physiol.**, [s. l.], v. 12, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8766843/>. Acesso em: 10 abr. 2022.

CAETANO, Cristiane Oliveira. **Uso da GFAP como biomarcador em cães com e sem sinais neurológicos centrais.** 2018. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

CAROLINO, R. O. G. *et al.* Endocrine profile of the VCD-induced perimenopausal model rat. **PLoS One**, Sydney, v. 14, n. 12, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6936812/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

CHAO, P. Y. *et al.* Amelioration of estrogen-deficiency-induced obesity by *Ocimum gratissimum*. **Int J Med Sci.**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 896–901, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5562198/>. Acesso em: 20 abr. 2022.

CHO, J. A. *et al.* Exercise and Curcumin in Combination Improves Cognitive Function and Attenuates ER Stress in Diabetic Rats. **Nutrients**, Basileia, v. 12. p, 1309, 2020.

CHIANG, T. I. *et al.* Amelioration of estrogen deficiency-induced obesity by collagen hydrolysate. **Int J Med Sci.**, [s. l.], v. 13, n. 11, p. 853–857, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5118756/>. Acesso em: 20 abr. 2022.

CHULIKHIT, Y. *et al.* Effects of *Pueraria candollei* var *mirifica* (Airy Shaw and Suvat.) *Niyomdham* on Ovariectomy-Induced Cognitive Impairment and Oxidative Stress in the Mouse Brain. **Molecules.**, Basileia, v. 26, n. 11, p. 3442, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8201258/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

CINALLI J. R. *et al.* Object recognition memory: Distinct yet complementary roles of the mouse CA1 and perirhinal cortex. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [s. l.], v. 13, 2020.

CROMWELL, H. C.; PANKSEPP, J. Rethinking. The cognitive revolution from a neural perspective: How overuse/misuse of the term ‘cognition’ and the neglect of affective controls

in behavioral neuroscience could be delaying progress in understanding the BrainMind. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 35, n. 9, p. 2026-2035, October 2011.

Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763411000273?casa_token=46G5Itj0LnoAAAAA:_3Vx5YS0J9q2M0kOp9mEt0MLWgFNSxsoEX6WaL6vFhW5QK6E0HYWGQsQeNLo4Qm_CzS9IAvGZ_aV#!. Acesso em: 25 abr. 2022.

CURTA, J. C.; WEISSHEIMER, A. M. Percepções e sentimentos sobre as alterações corporais de mulheres climatéricas. **Rev. Gaúcha Enferm**, Porto Alegre, v. 41, 2020.

Disponível em:

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S198314472020000200425&script=sci_arttext&tlng=p. Acesso em: 07 abr. 2022.

DAI, W. *et al.* Curcumin provides neuroprotection in models of traumatic brain injury via the Nrf2-ARE signaling pathway. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 140, p. 65-71, 2018.

DENNINGER, J. K.; SMITH, B. M.; KIRBY, E. D. Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on a budget. **J. Vis. Exp.**, [s. l.], v. 141, 2018.

DJIOGUE, S. *et al.* Memory and exploratory behavior impairment in ovariectomized Wistar rats. **Behav Brain Funct.**, [s. l.], v. 14, 2018. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6047120/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

DOLATABADI, L. K. *et al.* Curcumin Effects on Memory Impairment and Restoration of Irregular Neuronal Distribution in the Hippocampal CA1 Region After Global Cerebral Ischemia in Male Rats. **Basic Clin Neurosci.**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 527-539, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149957/>. Acesso em: 20 abr. 2022.

ECHEVERRIA, V. M. *et al.* Estrogenic Plants: to Prevent Neurodegeneration and Memory Loss and Other Symptoms in Women After Menopause. **Front. Pharmacol**, [s. l.], v. 12, p. 993, 20 May 2021. Disponível em:

https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.644103/full?fbclid=IwAR2ZNXsLK2VvY4PIMNCNTanTfYb2Ny2N77ufR6k4vCKcjdMPhj_QZU4c3cY. Acesso em: 10 abr. 2022.

EL-FATAH, I. M. A. *et al.* Dimethyl fumarate abridged tauo-/amyloidopathy in a D-Galactose/ovariectomy-induced Alzheimer's-like disease: Modulation of AMPK/SIRT-1, AKT/CREB/BDNF, AKT/GSK-3 β , adiponectin/Adipo1R, and NF- κ B/IL-1 β /ROS trajectories. **Neurochem Int.**, [s. l.], v. 148, 2021. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34052296/>. Acesso em: 15 out. 2022.

ENGLER-CHIURAZZI, E. B.; SINGH, M.; SIMPKINS. Reprint of: From the 90's to now: A brief historical perspective on more than two decades of estrogen neuroprotection. **Brain Res.**, [s. l.], v. 1645, p. 79–82, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969093/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

FESTER, L.; RUNE, G. M. Sex neurosteroids: Hormones made by the brain for the brain. **Neuroscience Letter**, [s. l.], v. 753, 2021.

FINNEY, C. A. *et al.* The role of hippocampal estradiol in synaptic plasticity and memory: A systematic review. **Frontiers in Neuroendocrinology**, [s. l.], v. 56, 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez37.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0091302219300834>. Acesso em: 12 abr. 2022.

FONSECA, C. S. *et al.* Object recognition memory and temporal lobe activation after delayed estrogen replacement therapy. **Neurobiology of Learning and Memory**, [s. l.], v. 101, p. 19-25, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074742713000026?via%3Dihub>. Acesso em: 16 abr. 2022.

FRICK, K. M.; KIM, J. Mechanisms underlying the rapid effects of estradiol and progesterone on hippocampal memory consolidation in female rodents. **Horm Behav.**, [s. l.], v. 104, p. 100-110, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6226372/>. Acesso em: 10 abr. 2022.

FURINI, C. R. G. *et al.* Molecular Mechanisms in Hippocampus Involved on Object Recognition Memory Consolidation and Reconsolidation. **Neuroscience**, [s. l.], v. 435, p. 112-123, 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez37.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030645222030213X>. Acesso em: 30 mar. 2022.

GAN, G. *et al.* Correlação das características citológicas vaginais de *Rattus norvegicus* com os níveis séricos de 17- β estradiol. **Luminária**, União da Vitória, v. 21, n. 02, p. 17-27, 2019. Disponível em: <http://periodicos.unespar.edu.br/index.php/luminaria/article/view/2952/2369>. Acesso em: 15 abr. 2022.

GE, F. *et al.* Ovariectomy Induces Microglial Cell Activation and Inflammatory Response in Rat Prefrontal Cortices to Accelerate the Chronic Unpredictable Stress-Mediated Anxiety and Depression. **Biomed Res Int.**, [s. l.], v. 2020, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7251427/>. Acesso em: 16 out. 2022.

GONZÁLEZ-REYES, S. *et al.* Curcumin pretreatment induces Nrf2 and an antioxidant response and prevents hemin-induced toxicity in primary cultures of cerebellar granule neurons of rats. **Oxid. Med. Cell Longev.** [s. l.], v. 2013, 2013.

HABIBI, P. *et al.* Effects of genistein and swimming exercise on spatial memory and expression of microRNA 132, BDNF, and IGF-1 genes in the hippocampus of ovariectomized rats. **Iran J Basic Med Sci.**, [s. l.], v. 20, n. 8, p. 856–862, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5651470/>. Acesso em: 14 out. 2022.

HAJALI, V. *et al.* Female rats are more susceptible to the deleterious effects of paradoxical sleep deprivation on cognitive performance. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 228, n. 2, p. 311-318, 2012. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez37.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0166432811008503>. Acesso em: 14 abr. 2022.

HAJALI, V. *et al.* Ovariectomy does not exacerbate the negative effects of sleep deprivation on synaptic plasticity in rats. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 144, p. 73-81, 2015.

HAMM, A. K. *et al.* The Effect of Hops (*Humulus lupulus* L.) Extract Supplementation on Weight Gain, Adiposity and Intestinal Function in Ovariectomized Mice. **Nutrients.**, Basileia, v. 11, n. 12, p. 3004, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6950254/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

HE, Y. *et al.* Curcumin, Inflammation, and Chronic Diseases: How Are They Linked? **Molecules**, Basileia, v. 20, p. 9183-9213, 2015.

HOJO, Y.; KAWATO, S. Neurosteroids in Adult Hippocampus of Male and Female Rodents: Biosynthesis and Actions of Sex Steroids. **Front Endocrinol**, Lausanne, v. 9, p. 183, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5925962/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Expectativa de vida dos brasileiros aumenta 3 meses e chega a 76,6 anos em 2019**. 2020. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29505-expectativa-de-vida-dos-brasileiros-aumenta-3-meses-e-chega-a-76-6-anos-em-2019>. Acesso em: 14 out. 2021.

IM, E. O. *et al.* Racial/Ethnic Differences in Cognitive Symptoms during the Menopausal Transition. **West J Nurs Res.**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 217–237, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6119544/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

ISHARAT, T. *et al.* Amelioration of cognitive deficits and neurodegeneration by curcumin in rat model of sporadic dementia of Alzheimer's type (SDAT). **Eur. Neuropsychopharmacol**, [s. I.], v. 19, p. 636–647, 2009.

ISHII, T.; WARABI, E. Mechanism of Rapid Nuclear Factor-E2-Related Factor 2 (Nrf2) Activation via Membrane-Associated Estrogen Receptors: Roles of NADPH Oxidase 1, Neutral Sphingomyelinase 2 and Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR). **Antioxidants**, Basel, v. 8, n. 3, p. 69, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6466580/>. Acesso em: 14 out. 2022.

JIANG, C. *et al.* Nrf2/ARE is a key pathway for curcumin-mediated protection of TMJ chondrocytes from oxidative stress and inflammation. **Cell Stress and Chaperones**, [s. I.], v. 25, n. 3, p.395-406, 2020.

JOHNSON, A.; ROBERTS, L.; ELKINS, G. Complementary and Alternative Medicine for Menopause. **J Evid Based Integr Med**, [s. I.], v. 24, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6419242/>. Acesso em: 15 out. 2021.

KARIMI, A. *et al.* Therapeutic effects of curcumin on sepsis and mechanisms of action: A systematic review of preclinical studies. **Phytotherapy Research**, [s. I.], p. 1–23, 2019.

KHALEGHI, M. *et al.* Estrogen attenuates physical and psychological stress-induced cognitive impairments in ovariectomized rats. **Brain Behav.**, [s. I.], v. 11, n. 5, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8119870/>. Acesso em: 20 abr. 2022.

KHAN, M. S. *et al.* Dietary Supplementation of the Antioxidant Curcumin Halts Systemic LPS-Induced Neuroinflammation-Associated Neurodegeneration and Memory/Synaptic Impairment via the JNK/NF- κ B/Akt Signaling Pathway in Adult Rats. **Oxid Med Cell Longev.**, [s. I.], p. 1-23, 2019.

KHOTA, R. R; LUTHRIA, D. L. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. **Molecules**, Basileia, v. 24, p. 2930, 2019.

KIM, Y; CLIFTON, P. Curcumin, Cardiometabolic Health and Dementia. **Int J Environ Res Public Health**, [s. I.], v.15, n.10, p.2093, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6210685/>. Acesso em: 13 out. 2021.

KOL, A. *et al.* Astrocytes Contribute to Remote Memory Formation by Modulating Hippocampal-Cortical Communication During Learning. **Nat Neurosci.**, [s. I.], v. 23, n. 10, p. 1229–1239, 2020. Disponível em: Astrocytes Contribute to Remote Memory Formation by

Modulating Hippocampal-Cortical Communication During Learning - PMC (nih.gov). Acesso em: 13 out. 2022.

KOTHA, R. R.; LUTHRIA, D. L. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. **Molecules**, Basileia, v. 24, n. 16, p. 2930, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6720683/>. Acesso em: 13 out. 2021.

KOWIAŃSKI, P. *et al.* BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. **Cell Mol Neurobiol**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 579–593, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5835061/>. Acesso em: 10 out. 2021.

KUNDU, P. *et al.* Licorice root components mimic estrogens in an object location task but not an object recognition task. **Horm Behav**, [s. l.], v. 103, p. 97–106, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6086590/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

KUPCEWICZ, E. *et al.* Relationship Between Frequency and Intensity of Menopausal Symptoms and Quality of Life Among Polish Nurses. **Risk management and healthcare policy**, [s. l.], v. 14, p. 97-107, 11 Jan. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7810674/>. Acessado em: 18 mar. 2021.

LAN, Z. *et al.* Hippocampal Aromatase Knockdown Aggravates Ovariectomy-Induced Spatial Memory Impairment, A β Accumulation and Neural Plasticity Deficiency in Adult Female Mice. **Neurochemical Research**, [s. l.], v. 46, p. 1188–1202, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-021-03258-5>. Acesso em: 19 abr. 2022.

LEE, B.; LEE, H. Systemic Administration of Curcumin Affect Anxiety-Related Behaviors in a Rat Model of Posttraumatic Stress Disorder via Activation of Serotonergic Systems. **Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2018, 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2018/9041309/#copyright>. Acesso em: 10 out. 2022.

LEO, E. E. M; CAMPOS, M. R. S. Systemic oxidative stress: a key point in neurodegeneration – A review. **J Nutr Health Aging**, [s. l.], v. 1. p. 1-6, 2019.

LIMA, J. V. O. *et al.* Risk-benefit of hormone replacement therapy in menopausal women. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 9, n. 5, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/2283>. Acesso em: 15 out. 2021.

LIZCANO, F.; GUZMÁN, G. Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause. **Biomed Res Int.**, [s. l], v. 2014, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3964739/>. Acesso em: 14 abr. 2022.

LU, Y. *et al.* Neuron-Derived Estrogen Regulates Synaptic Plasticity and Memory. **J Neurosci.**, [s. l], v. 39, n. 15, p. 2792–2809, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6462452/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

LUEPTOW, L. M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. **J Vis Exp**, [s. l], v. 30, n. 126, 2017.

LUINE, V. N. Estradiol and cognitive function: Past, present and future. **Horm Behav.**, [s. l], v. 66, n. 4, p. 602–618, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4318702/>. Acesso em: 02 abr. 2022.

LUINE, V.; SERRANO, P.; FRANKFURT, M. Rapid effects on memory consolidation and spine morphology by estradiol in female and male rodents. **Horm Behav.**, [s. l], v. 114, p. 111–118, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6274598/>. Acesso em: 02 abr. 2022.

LUINE, V. FRANKFURT, M. Interactions between estradiol, BDNF and dendritic spines in promoting memory. **Neuroscience**, [s. l], v. 239, p. 34–45, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3597766/>. Acesso em: 02 abr. 2022.

MALEKABADI, H. A. *et al.* Tamoxifen antagonizes the effects of ovarian hormones to induce anxiety and depression-like behavior in rats. **Arq. Neuro-Psiquiatr**, São Paulo, v. 73, n. 2, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/anp/a/FzpdVgLvLgWZX3xB86VcFRm/?lang=en#>. Acesso em: 18 abr. 2022.

MANFREDINI, A. *et al.* Mitochondrial dysfunction is associated with long-term cognitive impairment in an animal sepsis model. **Clinical Science**, Londres, v. 133, p. 1993–2004, 2019.

MAZZANTI, G; GIACOMO, S. D. Curcumin and Resveratrol in the Management of Cognitive Disorders: What Is the Clinical Evidence? **Molecules**, Basileia, v. 21, p. 1243, 2016.

MEDINA-CONTRERAS, J. M. L. *et al.* Ovariectomized rodents as a menopausal metabolic syndrome model. A minireview. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s. l], v. 475, p. 261–276, 2020.

MOIETY, F. M. S. *et al.* Comparative study on induction and effects of surgical menopause in a female rat model: a prospective case control study. **Int J Clin Exp Med**, [s. I], v. 8, n. 6, p. 9403–9411, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4538166/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

MOHAMMADI, M.; ZARE, Z. Effects of treadmill exercise on cognitive functions and anxiety-related behaviors in ovariectomized diabetic rats. **Physiology & Behavior**, [s. I], v. 224, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938420303358?via%3Dihub>. Acesso em: 16 abr. 2022.

MORGAN, K.N.; DERBY, C. A.; GLEASON, C. E. Cognitive Changes with Reproductive Aging, Perimenopause, and Menopause. **Obstet Gynecol Clin North Am**, [s. I], v. 45, n. 4, p. 751-763, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6853028/>. Acessado em: 10 mar. 2021.

MORRONE, M. S. *et al.* Oral administration of curcumin relieves behavioral alterations and oxidative stress in the frontal cortex, hippocampus, and striatum of ovariectomized Wistar rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. I], v. 32, p. 181-188, June 2016 a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0955286316300304?via%3Dihub>. Acesso em: 19 abr. 2022.

MORRONE, M. S. *et al.* Curcumin Supplementation Decreases Intestinal Adiposity Accumulation, Serum Cholesterol Alterations, and Oxidative Stress in Ovariectomized Rats. **Oxid Med Cell Longev.**, [s. I], v.2016, 2016b. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4658407/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

NEVES, Ben-Hur Souto. **Papel do sistema dopaminérgico nos déficits de memória induzidos pela privação maternal.** 2020. 80. f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) - Universidade Federal do Pampa. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica. Departamento de Bioquímica. Uruguaiana. 2020.

NIMSE, S. B, PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**. [s. I], v. 5, n. 35, p. 27986–28006, 2015.

NISHINAKA, T. *et al.* Curcumin activates human glutathione S-transferase P1 expression through antioxidant response element. **Toxicol. Lett.**, [s. I], v. 170, p. 238–247, 2007.

NORRIS, D. Short-term memory and long-term memory are still different. **Psychological Bulletin**, Washington. 143, n. 9, p. 992-1009, 2017. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/fulltext/2017-22544-001.html>. Acesso em: 02 abr. 2022.

PALAZS, E. *et al.* BDNF as a Promising Therapeutic Agent in Parkinson's Disease. **Int J Mol Sci**, Basel, v. 21, n. 3, p. 1170, Feb. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7037114/>. Acesso em: 03 abr. 2022.

PARK, C. H. *et al.* Neuroprotective Effects of Tetrahydrocurcumin against Glutamate-Induced Oxidative Stress in Hippocampal HT22 Cells. **Molecules**. Basileia, v. 25, n. 155, 2020.

PATRICIO, R. S. O. *et al.* Ações de enfermagem na promoção da saúde e qualidade de vida de mulheres no climatério. **Revista Eletrônica Acervo Enfermagem**, Goiânia, v. 4, p. 1-6, 2020. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/enfermagem/article/view/4782/2792>. Acesso em: 13 mar. 2021.

PEREIRA, L. M. *et al.* Estradiol enhances object recognition memory in Swiss female mice by activating hippocampal estrogen receptor α . **Neurobiology of Learning and Memory**, [s. l.], v. 114, p. 1-9, 2014. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez37.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1074742714000628>. Acesso em: 17 abr. 2022.

RAMOS, Amanda Caroline. **Alterações hepatocitológicas ocasionadas pela ovariectomia em ratas wistar**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Enfermagem) - Universidade Federal de Pernambuco. Centro Acadêmico de Vitória. Vitória de Santo Antão. 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/27762/1/RAMOS%2c%20Amanda%20Caroline.pdf>.

REIS, Leticia. **Efeito da curcumina sobre as alterações comportamentais e termorregulatórias durante o desafio imunológico com lipopolissacarídeo**. 2018. 87. f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alfenas. Departamento de Fisiologia. Alfenas. 2018.

RENCZÉS, E. *et al.* The Role of Estrogen in Anxiety-Like Behavior and Memory of Middle-Aged Female Rats. **Front Endocrinol**, Lausanne, v. 11, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7575693/>. Acesso em: 17 abr. 2022.

RIETJENS, I. M. C. M.; LOUISSE, J.; BEEKMANN, K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. **Br J Pharmacol**, [s. l], v. 174, n. 11, p. 1263-1280, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27723080/>. Acesso em: 20 abr. 2022.

RUSSELL, A. L. *et al.* Dietary Isoflavone-Dependent and Estradiol Replacement Effects on Body Weight in the Ovariectomized (OVX) Rat. **Horm Metab Res.**, [s. l], v. 49, n. 6, p. 457–465, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5820000/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

SAIED, N. M. *et al.* Neuromodulatory effect of curcumin on catecholamine systems and inflammatory cytokines in ovariectomized female rats. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, [s. l], v. 48, n. 3, p. 337-346, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez37.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1111/1440-1681.13427>. Acesso em: 19 abr. 2022.

SANDUR, S. K. *et al.* Role of pro-oxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effects of curcumin (diferuloylmethane). **Free Radic. Biol. Med.** [s. l], v. 43, p. 568–580, 2007.

SARKER, M. R.; FRANKS, S. F. Efficacy of curcumin for age-associated cognitive decline: a narrative review of preclinical and clinical studies. **GeroScience**, [s. l], v. 40, n. 2, p. 73-95, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964053/>. Acesso em: 10 out. 2022.

SASI, M. *et al.* Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. **Pflugers Arch**, [s. l], v. 469, n. 5, p. 593–610, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5438432/>. Acesso em: 13 out. 2022.

SCAPAGNINI, G. Modulation of Nrf2/ARE Pathway by Food Polyphenols: A Nutritional Neuroprotective Strategy for Cognitive and Neurodegenerative Disorders. **Mol Neurobiol.**, [s. l], v. 44, n. 2, p. 192–201, 2011.

SCHEYER, O. *et al.* Female Sex and Alzheimer's Risk: The Menopause Connection. **J Prev Alzheimers Dis**, [s. l], v. 5, n. 4, p. 225–230, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6198681/>. Acesso em: 09 out. 2021

SCHIMIDT, H. L. *et al.* Strength training and running elicit different neuroprotective outcomes in a β -amyloid peptide-mediated Alzheimer's disease model. **Physiology & Behavior**, [s. l], v. 206, p. 206-212, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938419300563?via%3Dihub>. Acesso em: 30 mar. 2022.

SELBAC, M. T. *et al.* Mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas pelo ciclo biológico feminino – climatério à menopausa. **Aletheia**, Canoas, v. 51, n. 1-2, p. 177-190, jan./dez. 2018. Disponível em: <http://www.periodicos.ulbra.br/index.php/aletheia/article/view/4921/3268>. Acessado em: 18 mar. 2021.

SEONG, K. J. *et al.* Epigallocatechin-3-gallate rescues LPS-impaired adult 572 hippocampal neurogenesis through suppressing the TLR4-NF- 573 κ B signaling pathway in mice. **Korean J Physiol Pharmacol**, [s. l], v. 20, p. 41–51, 2016.

SERAFINI, M. M. *et al.* Curcumin in Alzheimer’s disease: Can we think to new strategies and perspectives for this molecule? **Pharmacological Research**, [s. l], v. 124, p. 146-155, 2017.

SIANI, F. *et al.* Influence of Estrogen Modulation on Glia Activation in a Murine Model of Parkinson's Disease. **Front Neurosci.**, [s. l], v. 11, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5449471/>. Acesso em: 13 out. 2022.

SIRCAR, R. Estrogen Modulates Ethanol-Induced Memory Deficit in Postpubertal Adolescent Rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, [s. l], v. 43, n. 1 p. 61-68, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/acer.13921>. Acesso em: 20 out. 2021.

SHEN, H. H. *et al.* Raloxifene inhibits adipose tissue inflammation and adipogenesis through Wnt regulation in ovariectomized rats and 3 T3-L1 cells. **J Biomed Sci.**, [s. l], v. 26, p. 62, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6717377/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

SHEPPARD, P. A. S. *et al.* Rapid actions of oestrogens and their receptors on memory acquisition and consolidation in females. **J Neuroendocrinol**, Turin, v. 30, n. 2, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6543823/>. Acesso em: 03 abr. 2022.

SHIEH, A. *et al.* Gut permeability, inflammation, and bone density across the menopause transition. **JCI Insight**, [s. l], v. 5, n. 2, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7098720/>. Acesso em: 05 abr. 2022.

SONG, X. *et al.* Reproductive and hormonal factors and risk of cognitive impairment among Singapore Chinese women. **Am J Obstet Gynecol**, [s. l], v. 223, n. 3, p. 410.e23, 2020.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7483640/>. Acesso em: 20 out. 2021.

SOUZA, Maycon Alvarenga. **Estudo da neuroinflamação na sepse experimental e os efeitos da curcumina**. 2021. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

SOUZA, V. R. *et al.* Descrição do protocolo de ovariectomia em camundongos. Paul C. Guest (ed.), Modelos pré-clínicos: técnicas e protocolos, **Methods in Molecular Biology**, [s. l], v. 1916, Springer Science + Business Media, LLC, parte da Springer Nature 2019.

SOUZA, T. M. Unraveling Molecular and System Processes for Fear Memory. **Neuroscience**, [s. l], 2022. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez37.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0306452222001312>. Acesso em: 30 mar. 2022.

SORRENTI, V. *et al.* Curcumin Prevents Acute Neuroinflammation and Long-Term Memory Impairment Induced by Systemic Lipopolysaccharide in Mice. **Frontiers in Pharmacology**, Pádua, Itália, v. 9. p. 183, 2018.

SREENA, S.; ILANKUMARAN, M. Developing Productive Skills Through Receptive Skills – A Cognitive Approach. **International Journal of Engineering & Technology**, [s. l], v. 7, n. 4.36, p. 669-673, 2018.

SU, J. *et al.* Curcuma comosa improves learning and memory function on ovariectomized rats in a long-term Morris water maze test. **J Ethnopharmacol**, [s. l], v. 130, n. 1, p. 70–75, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2900461/>. Acesso em: 18 abr. 2022.

SULLIVAN, S. D.; SARREL, P. M.; NELSON, L. M. Hormone replacement therapy in young women with primary ovarian insufficiency and early menopause. **Fertil Steril**, [s. l], v. 106, n. 7, p. 1588-1599, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5137796/>. Acesso em: 18 out. 2021.

SUNMIN, P. *et al.* Curcumin and tetrahydrocurcumin both prevent osteoarthritis symptoms and decrease the expressions of pro-inflammatory cytokines in estrogen-deficient rats. **Genes Nutr.**, [s. l], v. 11, n. 2, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4959551/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

SZAWKA, R. E. *et al.* Release of Norepinephrine in the Preoptic Area Activates Anteroventral Periventricular Nucleus Neurons and Stimulates the Surge of Luteinizing Hormone. **Endocrinology**, [s. l], v. 154, n. 1, p. 363–374. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3529374/>. Acesso em: 10 Jan. 2023.

TABRIZI, R. *et al.* The effects of curcumin-containing supplements on biomarkers of inflammation and oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Phytotherapy Research**, [s. l], v. 33, p. 253–262, 2019.

TAO, X. *et al.* Effects of estrogen deprivation on memory and expression of related proteins in ovariectomized mice. **Ann Transl Med.**, Hong Kong, v. 8, n. 6, p. 356, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7186664/>. Acesso em: 18 out. 2021.

THIEL, G. Synapsin I, Synapsin II e Sinaptophysin: Marker Proteins of Synaptic Vesicles. **Patologia Cerebral**. [s. l], v. 3, p. 87-95, 1993.

TSAI, I. C. *et al.* The Effect of Curcumin Differs on Individual Cognitive Domains across Different Patient Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Pharmaceuticals**, Basel, v. 14, n. 12, p. 1235, 2021.

VALERO, J. *et al.* Long-term effects of an acute and systemic administration of LPS on Adult neurogenesis and spatial memory. **Front. Neurosci.**, [s. l], v. 8, p. 83, 2014.

VALLE, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. **The American Journal of Psychology**, [s. l], v. 83, p. 103-111, 1970.

WADA, T. *et al.* Impact of central and peripheral estrogen treatment on anxiety and depression phenotypes in a mouse model of postmenopausal obesity. **PLoS One**, San Francisco, v. 13, n. 12, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6307752/>. Acesso em: 15 out. 2021.

XIE, Y. L. *et al.* Curcumin attenuates lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury by activating Nrf2 nuclear translocation and inhibiting NF- κ B activation. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l], v. 91, p. 70-77, 2017.

XU, J. *et al.* Combination of curcumin and vagus nerve stimulation attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury-induced behavioral deficits. **Biomed Pharmacother**, [s. l], v. 103, p. 614-620, 2018.

YASSA, M. A., STARK, C. E. L. Pattern separation in the hippocampus. **Trends Neurosci**, [s. l], v. 34, n. 10, p. 515–525, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3183227/>. Acesso em: 03 abr. 2022.

YAZĞAN, Y., NAZIROĞLU, M. Ovariectomia-Induced Mitochondrial Oxidative Stress, Apoptosis e Calcium Ion Influx através de TRPA1, TRPM2 e TRPV1 são impedidos por 17β-Estradiol, Tamoxifen e Raloxifene no Hipocampo e Dorsal Ganglion de Ratos. **Mol Neurobiol**, [s. l], v. 54, p. 7620-7638, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-016-0232-5>. Acesso em: 16 abr. 2022.

YEH, J. H. *et al.* Effects of Dietary Fatty Acid Composition on Lipid Metabolism and Body Fat Accumulation in Ovariectomized Rats. **Nutrients**, Basileia, v. 13, n. 6, p. 2022, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8231186/>. Acesso em: 16 abr. 2022.

ZHANG, J. M. *et al.* Danshen enhanced the estrogenic effects of Qing E formula in ovariectomized rats. **BMC Complement Altern Med.**, [s. l], v. 16, p. 181, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4918020/>. Acesso em: 16 abr. 2022.

ZHANG, Z. *et al.* Effect of Curcumin on the Diversity of Gut Microbiota in Ovariectomized Rats. **Nutrients**, Basileia, v. 9, n. 10, p. 1146, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5691762/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

ZHENG, X. *et al.* Protective effects of Lycium barbarum polysaccharide on ovariectomy-induced cognition reduction in aging mice. **Int J Mol Med.**, [s. l], v. 48, n. 1, p. 121, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8121556/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

ZHOU, S. *et al.* Menopause-induced uterine epithelium atrophy results from arachidonic acid/prostaglandin E2 axis inhibition-mediated autophagic cell death. **Sci Rep.**, [s. l], v. 6, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4979008/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

ZSIDO, R. G. *et al.* Association of Estradiol and Visceral Fat With Structural Brain Networks and Memory Performance in Adults. **JAMA Netw Open.**, [s. l], v. 2, n. 6, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6593958/>. Acesso em: 10 out. 2021.

ANEXO A – Aprovação do projeto pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA)

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
 Lei nº 11.154, de 29 de julho de 2005

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNIFAL-MG

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **Efeito da curcumina sobre os déficits cognitivos de ratas ovariectomizadas e sobre a expressão de NRF2 e BDNF**, registrada com o nº **0059/2021**, sob a responsabilidade de **Alexandre Giusti Paiva**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **03/01/2022 a 29/06/2023**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Rato / Wistar	96	0	96	Biotério central

Alfenas, 04 de Abril de 2022

Prof(a). Dr(a). Pollyanna Francielli de Oliveira
 Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG