



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

Adriano Emanuel Machado

Título: Intervenções metabólicas sobre o comportamento e cognição: efeitos de dietas hiperlipídicas e fármacos da classe estatina em processos comportamentais e na memória de roedores.

Florianópolis

2022

Adriano Emanuel Machado

Título: Intervenções metabólicas sobre o comportamento e cognição: efeitos de dietas hiperlipídicas e fármacos da classe estatina em processos comportamentais e na memória de roedores.

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira.

Coorientador: Dr. Gianni Mancini

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Machado, Adriano Emanuel

Intervenções metabólicas sobre o comportamento e cognição: efeitos de dietas hiperlipídicas e fármacos da classe estatina em processos comportamentais e na memória de roedores. / Adriano Emanuel Machado ; orientador, Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, coorientador, Gianni Mancini, 2022. 138 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. metabolismo. 3. comportamento. 4. dietas hiperlipídicas. 5. estatinas. I. Gasnhar Moreira, Eduardo Luiz. II. Mancini, Gianni. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. IV. Título.

Adriano Emanuel Machado

Título: Intervenções metabólicas sobre o comportamento e cognição: efeitos de dietas hiperlipídicas e fármacos da classe estatina em processos comportamentais e na memória de roedores.

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Andreza Fabro de Bem

Departamento de Ciências Fisiológicas/ Instituto de Ciências Biológicas/Universidade de Brasília

Profa. Dra. Morgana Duarte da Silva

Departamento de Ciências Fisiológicas/ Centro de Ciências Biológicas/Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Maurício Peña Cunha

Professor Visitante - Universidade Federal de Juiz de Fora).

Dr. Caio Cotta Natale

DOT Digital Group – Educação Corporativa Digital.

Dr. Wellington de Medeiros Barros

Universidade de Brasília, pós-doutorando.

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em neurociências.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira

Orientador(a)

Florianópolis, 2022.

AGRADECIMENTOS

Sou grato a Mariana Machado, minha companheira, por todo amor, carinho, suporte e paciência que demonstra por mim e que foram essenciais nos altos e baixos de minha trajetória até aqui.

Agradeço a minha mãe Djanira, meu pai João, minha sogra Márcia, meu sogro Valci, meu irmão, minhas irmãs e demais familiares, por todo o incentivo que sempre me deram para continuar estudando e adquirindo conhecimentos. Este incentivo mudou minha vida e culmina neste trabalho.

A meus amigos Gerúndio, Gatana, Gatão, Kilua/Pitchulino, Mildred, Pretinha, Marx, Gaia, Gaara, Tequila e Thor por toda alegria e companheirismo que me proporcionam.

Agradeço ao professor Eduardo, meu orientador e amigo, o qual me deu a liberdade e os meios para finalizar este trabalho e, principalmente, pelos conselhos acadêmicos e profissionais, que em muitos momentos foram muito importantes para boas decisões que tomei.

Agradeço a Gianni Mancini, coorientador e estimado amigo. Se durante esta trajetória alguém esteve ao meu lado durante todo o percurso, foi este excelente companheiro. Que nossa irmandade e parceria continue firme e forte.

Agradeço a todos os meus colegas neurocientistas discentes e docentes que muito compartilharam comigo alegrias e tristezas da pós-graduação e cuja parceria espero manter até o final de minha vida. Em especial aos meus colegas do Psicowlab, Peterson e Wellington e à minha estimada amiga Scheila Kraus, por sempre estarem dispostos a ajudar, construir e trocar ideias maravilhosas.

Por fim, agradeço ao povo brasileiro pelo suporte financeiro proporcionado através de impostos e cedidos a mim pela agência de fomento CAPES, a qual tenho grande estima e gratidão pelo apoio que me proporcionou e pelos esforços de gestão para uma ciência brasileira forte, de qualidade e que nos orgulha!

RESUMO

As relações entre metabolismo, comportamento e cognição são complexas e multifatoriais, assim compreender tais interações requer investigação científica extensa e minuciosa. Neste trabalho foram avaliados, a partir de dois estudos distintos e não diretamente conectados, como diferentes interferentes metabólicos, dietéticos e farmacológicos, podem influenciar em processos comportamentais e cognitivos de roedores. No estudo apresentado no primeiro capítulo foram avaliados os efeitos metabólicos, comportamentais e cognitivos em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica (DHL) por diferentes períodos (15, 25 e 35 dias). Demonstrou-se que os camundongos alimentados por 15 dias com DHL, apresentaram prejuízo da habituação exploratória, acompanhada de aumento significativo da massa adiposa visceral, além de impactos no metabolismo glicêmico, com aumento da concentração plasmática de glicose, além de maior intolerância à glicose. Com 25 dias de DHL, os efeitos metabólicos se intensificam e os animais passam a apresentar prejuízo na formação da memória de reconhecimento, além de aumento significativo da variação de massa corporal e da concentração de triglicerídeos e colesterol plasmático. Por fim, 35 dias de DHL acarreta intensificação dos efeitos já presentes nos grupos anteriores acrescida de efeito ansiogênico no campo aberto. Constatou-se que os efeitos metabólicos se correlacionam positivamente com as alterações e prejuízos comportamentais. Também se observou disfunções mitocondriais significativas no córtex pré-frontal dos animais alimentados por 35 dias com a DHL, indicando pouca eficiência na produção energética e maior produção de espécies reativas, consequências neurais que provavelmente estão relacionadas aos efeitos comportamentais. No segundo capítulo o estudo focou em avaliar, através de uma abordagem experimental e de revisão sistemática, os possíveis efeitos das estatinas em processos de aprendizagem e memória de roedores. Foi observado, experimentalmente, que a intervenção aguda com simvastatina imediatamente antes do treino impediu a formação da memória de medo em camundongos no paradigma de esquiva inibitória. A revisão sistemática da literatura revelou evidências de efeitos positivos e negativos na memória de roedores submetidos ao tratamento com estatinas. Os efeitos positivos foram observados em estudos em que avaliaram o tratamento em insultos ao sistema nervoso ou modelos de diferentes patologias e associados à diminuição do colesterol plasmático e aos efeitos pleiotrópicos anti-inflamatórios e antioxidantes. Em outra linha, maior parte dos estudos que avaliaram o efeito *per se* das estatinas sobre a memória apontam para prejuízos induzidos por estes fármacos sobre os processos de aprendizagem e mnemônicos, tais efeitos variam em mecanismos, sendo relacionados principalmente pela diminuição do colesterol e demais derivados da via do mevalonato nos neurônios. De forma interessante não parecem existir claras relações de dose dependência ou dose especificidade, o que indica que a modulação destes fármacos sobre processos de aprendizagem e memória é complexa. Estudos mais profundos devem investigar

como diferentes doses de estatinas influenciam em fases de processamento de diferentes sistemas de memória.

Palavras-chave: metabolismo; comportamento; cognição; dietas hiperlipídicas; estatinas.

ABSTRACT

The relation between behavior and cognition are complex, rigorous scientific investigation is necessary to understand this interaction. In this work, from two different and not directly connected studies, we evaluated how different metabolic, dietary and pharmacological interferences can influence behavioral and cognitive processes in rodents. Despite many studies showing the long-term impacts of high-fat diets (HFD) on the organism, the temporal dynamic of behavior and metabolic effects in short periods of an HFD is poorly known, this was the objective of first chapter of this work. In this we show that short periods of HFD (15, 25, and 35 days) differently impacted behavior and metabolism in Swiss mice. The results suggest that after 15 days of the diet, animals show alteration of exploratory habituation, accompanied by a significant increase in visceral adipose mass, fasting glucose, and glucose intolerance. After 25 days of the diet, the metabolic effects intensified, and animals showed impairment in the recognition memory acquisition, in addition to a significant increase in the variation of body mass, accompanied by a significant increase in plasma cholesterol and triglyceride levels. Finally, 35 days of diet resulted in an intensification of the effects observed in the previous groups, and an anxiogenic-like effect was observed in the open field test. Moreover, it was found that metabolic effects positively correlate with behavioral impairments. We also showed that 35 days of HFD induced mitochondrial dysfunction in the prefrontal cortex. Our data reveal some aspects of the flow of metabolic disorders and their relation to the HFD's behavioral changes and cognitive impairments. In the second chapter, the study focused on evaluating, through an experimental approach and a systematic review, the possible effects of statins on learning and memory processes in rodents. It was experimentally observed that acute intervention with simvastatin immediately before training prevented fear memory formation in mice in the inhibitory avoidance paradigm. A systematic review of the literature revealed evidence of positive and negative effects on memory in rodents undergoing treatment with statins. The positive effects were observed in studies that evaluated the treatment in insults to the nervous system or models of different pathologies. Such consequences were normally associated with plasma cholesterol lowering effects and pleiotropic anti-inflammatory and antioxidant effects. In another line, most of the studies that evaluated the per se effect of statins on memory point to losses induced by these drugs on learning and mnemonic processes, such effects vary in mechanisms, being mainly related to the reduction of cholesterol and other derivatives of the mevalonate pathway in neurons. Interestingly, there do not seem to be any clear dose-dependence or dose-specific relationships, which indicates that the modulation of these drugs on learning and memory processes is complex. Further studies should investigate how different doses of statins influence the processing phases of different memory systems.

Keywords: metabolism; behavior; cognition; high fat diets; statins.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
1.1.	OBJETIVOS	13
1.1.1.	Objetivo Capítulo I.....	13
1.1.2.	Objetivo Capítulo II	13
2.	CAPÍTULO I - DINÂMICA TEMPORAL DOS IMPACTOS METABÓLICOS E NEUROCOMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS ALIMENTADOS POR CURTOS PERÍODOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.....	14
2.1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.1.1.	Dieta hiperlipídica (DHL) e suas consequências gerais para a saúde humana. 14	
2.1.2.	Estudo dos Efeitos da DHL em Modelos Animais.....	17
2.1.3.	Efeitos da DHL na proliferação do tecido adiposo.....	18
2.1.4.	Consequências da DHL sobre o metabolismo glicêmico.....	19
2.1.5.	Consumo de DHL e mitocôndria	20
2.1.6.	Impacto da DHL sobre o sistema nervoso central	21
2.1.7.	Efeitos de Curtos Períodos de DHL.....	22
2.2.	HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA.....	25
2.3.	OBJETIVO.....	26
2.3.1.	Geral.....	26
2.3.2.	Específicos.....	26
2.4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.4.1.	Animais	27
2.4.2.	Dietas.....	27
2.4.3.	Desenho Experimental.....	28
2.4.4.	Teste do Campo Aberto.....	29
2.4.5.	Teste de Reconhecimento de Objetos.....	29
2.4.6.	Mensuração da Massa Corporal e Adiposa.....	30
2.4.7.	Teste de Tolerância a Glicose.....	30
2.4.8.	Ensaio Bioquímico de Sangue	30
2.4.9.	Respirometria de alta resolução	31
2.4.10.	Escore padrão (Z-escore) comportamental e metabólico	32
2.4.11.	Estatística.....	32
2.5.	RESULTADOS.....	34

2.5.1.	Análise da Massa Corporal e do Tecido Adiposo.....	34
2.5.2.	Locomoção, Habituação e Emocionalidade no Campo Aberto	35
2.5.3.	Efeitos da DHL na Formação da Memória de Reconhecimento de Curto Prazo	37
2.5.4.	Efeitos no Metabolismo	38
2.5.5.	Análise do perfil lipídico no sangue.....	39
2.5.6.	Análise de Escore Padrão e Correlações Comportamentais x Metabólicas	41
2.5.7.	Análise do consumo de oxigênio no Córtex Pré-Frontal: investigando efeitos no balanço oxidativo e função mitocondrial.....	42
2.6.	DISCUSSÃO	44
2.7.	CONCLUSÕES.....	52
3.	CAPÍTULO II - EFEITO DE FÁRMACOS DA CLASSE ESTATINA NA APRENDIZAGEM E MEMÓRIA EM ROEDORES: UM ESTUDO EXPERIMENTAL E DE REVISÃO SISTEMÁTICA.....	53
3.1.	INTRODUÇÃO.....	53
3.1.1.	Estatinas	53
3.1.2.	Mecanismos de Ação das Estatinas	54
3.1.3.	Memória	57
3.1.4.	Plasticidade e Memória.....	59
3.1.5.	Estatinas e Memória	62
3.2.	HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA.....	65
3.3.	OBJETIVOS	66
3.3.1.	Objetivo geral	66
3.3.2.	Objetivos específicos.....	66
3.4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	67
3.4.1.	Estudo Experimental	67
3.4.2.	Revisão Sistemática.....	71
3.5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO EXPERIMENTAIS.....	72
3.5.1.	Experimento 01. Padronização Esquiva Inibitória: Efeito de duas intensidades de choque (0.2 e 0.4 mA) e da droga amnésica MK-801, na dose de 0,05 mg/kg, na aquisição da memória.....	72
3.5.2.	Experimento 02 - Efeito da Sinvastatina na fase de aquisição da memória do teste de esquiva inibitória.....	73
3.5.3.	Discussão dos Resultados Experimentais.....	74
3.6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO DA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	76

3.6.1.	Fluxograma do Prisma.....	76
3.6.2.	Quais estatinas mais utilizadas nos estudos?.....	78
3.6.3.	Testes de Memória Utilizados nos Estudos.....	79
3.6.4.	Síntese do Estudos da Revisão.....	81
3.6.6.	Efeitos das Estatinas na Aprendizagem e Memória <i>per se</i>	104
3.6.7.	Possíveis Mecanismos envolvidos com Prejuízos Mnemônicos relacionados às Estatinas.....	107
3.7.	CONCLUSÃO.....	111
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	113
5.	REFERÊNCIAS.....	116

1. INTRODUÇÃO

As relações entre metabolismo, comportamento e cognição são complexas. Diferentes tipos de interferentes metabólicos parecem capazes de induzir efeitos sobre o comportamento. Fatores dietéticos, como a composição dos nutrientes da dieta (GOMEZ-PINILLA; TYAGI, 2020), assim como fatores farmacológicos, como tratamentos com diferentes fármacos com alvos metabólicos, como as estatinas (GHODKE; TOUR; DEVI, 2012; STANCU; SIMA, 2001; STROM et al., 2015a), acarretam alterações nas funções neurais e cognitivo-comportamentais.

O consumo de dietas ricas em gorduras saturadas é um conhecido fator de risco ao desenvolvimento de uma série de prejuízos e alterações nas funções cognitivas em diferentes espécies (GAINEY et al., 2016; GREENWOOD; WINOCUR, 2005; PICOLO et al., 2021; PISTELL et al., 2010), e mesmo no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas em humanos (POPA-WAGNER et al., 2020). Diversas evidências apontam que o consumo deste tipo de dieta está associado com distúrbios metabólicos como obesidade, dislipidemia, tolerância a glicose, resistência as ações da insulina (CLIFTON, 2019) e mesmo patologias como aterosclerose e doenças cardiovasculares (WALI et al., 2020). Tais consequência metabólicas relacionam-se a prejuízos cognitivos e alterações comportamentais (YATES et al., 2012).

Se por um lado o consumo exagerado de lipídeos pode promover alterações comportamentais, por outro, interferir nas vias bioquímicas relacionadas ao metabolismo lipídico também parecem acarretar alterações em funções neuropsicológicas (KOTTI et al., 2006; MOUTINHO; NUNES; RODRIGUES, 2017). Este parece ser o caso do tratamento com estatinas, fármacos que interferem no

metabolismo do colesterol, que também parece acarretar prejuízos cognitivos, em especial nos processos de aprendizagem e memória(CIBI, 2011; GHODKE; TOUR; DEVI, 2012; STROM et al., 2015a). Entretanto, a forma como essa classe de fármacos atua sobre os processos mnemônicos ainda não está totalmente esclarecida.

1.1. OBJETIVOS

Avaliar como fatores de diferente natureza, dietéticos (dieta rica em gordura por curtos períodos) e farmacológicos (tratamento com estatinas), afetam funções comportamentais e cognitivas em roedores.

1.1.1. Objetivo Específico I – Estudo da Sessão 2

Estudar os efeitos de 15, 25 e 35 dias de dieta hiperlipídica sobre processos comportamentais, cognitivos, metabólicos e da função mitocondrial no cérebro de roedores.

1.1.2. Objetivo Específico II – Estudo da Sessão 3

Investigar os efeitos do tratamento com fármacos da classe estatina sobre processos de aprendizagem e memória através de abordagem experimental e de revisão sistemática.

2. DINÂMICA TEMPORAL DOS IMPACTOS METABÓLICOS E NEUROCOMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS ALIMENTADOS POR CURTOS PERÍODOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.

2.1. INTRODUÇÃO

2.1.1. Dieta hiperlipídica (DHL) e suas consequências gerais para a saúde humana.

A espécie humana durante grande parte de sua história evolutiva lidou com um contexto de escassez e competição por alimentos, normalmente com animais maiores e mais fortes, ou mesmo, com outros hominídeos. Desta forma, processos metabólicos e fisiológicos necessários para pronta absorção e eficiente armazenamento de nutrientes, economia de energia e preferência por alimentos ricos em calorias, foram características adaptativas vantajosas (MALOMO; NTLHOLANG, 2018). Entretanto, com a transição alimentar da caça, coleta e agricultura de alimentos orgânicos, para o consumo de alimentos industrializados e hipercalóricos, o sucesso de nossos ancestrais se tornou um grande problema moderno (WELLS, 2012).

Assim, ainda que preocupante, não é estranho o fato de as sociedades humanas atuais sofrerem de verdadeiras pandemias de obesidade (MITCHELL, N. CATENACCI, V. WYATT, HR. HILL, 2011). Alimentos ricos em calorias, em especial em carboidratos e gorduras, antes raros e difíceis de conseguir, hoje podem ser facilmente encontrados nas prateleiras de qualquer mercado ou em qualquer *fast food*. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 1,9 bilhões de adultos e idosos

apresentam sobrepeso, e destes, cerca de 650 milhões são obesos¹. Em 2016, 39% dos indivíduos nesta faixa de idade no mundo todo apresentaram sobrepeso, e cerca de 13% eram obesos. Embora mais comum em adultos, causa particular preocupação que o número de crianças com sobrepeso e obesidade vem aumentando ano após ano. Em 2020, cerca de 39 milhões de crianças com menos de 5 anos apresentavam sobrepeso ou obesidade (OMS, 2021).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde apresentados no VIGITEL 2019, a obesidade passou de 11,8% para 20,3% entre os anos de 2006 até 2019. Esses dados são ainda mais preocupantes ao se observar que o consumo de alimentos processados e *fast food*, normalmente ricos em gorduras saturadas e açúcares, também aumentou, sendo que os níveis de atividade física diminuíram no mesmo período. Tais fatos indicam um estilo de vida baseado em consumo de alimentos ricos em gordura associado ao sedentarismo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Este padrão comportamental e dietético acarreta, em longo prazo, em maiores riscos de desenvolvimento de uma série de doenças crônicas como obesidade, dislipidemia, hiperglicemia, resistência às ações da insulina, além de efeitos deletérios sobre a função cardiovascular (CLIFTON, 2019; WALI et al., 2020). Além disso, está relacionada à aterosclerose, hipertensão arterial, infarto agudo do miocárdio, acidentes vasculares encefálicos e mesmo no surgimento e desenvolvimento de

¹ Segundo a OMS o sobrepeso (pré-obesidade) é definido por valores de IMC (massa em Kg/altura em cm) entre 25 e 29,9, para obesidade tipo I entre 30 e 34,9 e para a obesidade tipo II entre 35 e 39,9. Por fim, 40 de IMC indicam obesidade grau III, ou mórbida (OMS, 2021).

alguns tumores e cânceres (EDWARDSON et al., 2012; LUTSEY; STEFFEN; STEVENS, 2008)

Sabe-se atualmente que o consumo de dietas hipercalóricas ricas em açúcares e gordura saturada também se relaciona com prejuízos nas funções cognitivas, emocionais e comportamentais, incluindo prejuízos de aprendizagem e déficits na formação da memória de diferentes tipos, alterações motoras e de atenção, além de maior suscetibilidade ao desenvolvimento de transtornos de ansiedade e depressão (NOUSEN; FRANCO; SULLIVAN, 2014; SKILTON et al., 2007)(**Fig. 1**). Estes dados são deveras relevantes, haja vista que evidências clínicas e epidemiológicas apontam forte relação entre dislipidemias e alterações no metabolismo da glicose com o desenvolvimento da doença de Alzheimer esporádica (HUANG et al., 2014; KIVIPELTO; SOLOMON, 2006; XU et al., 2009).

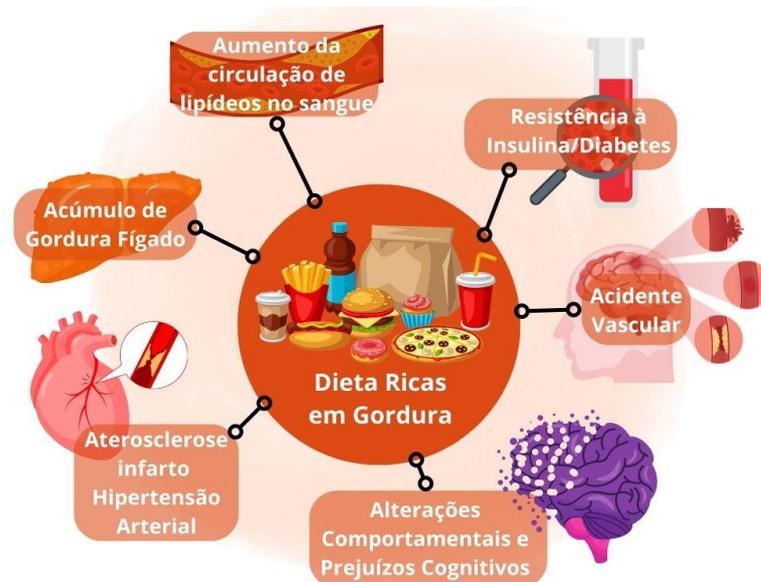


Figura 01. Imagem ilustrativa dos efeitos a longo prazo de dietas hiperlipídicas ricas em gorduras saturadas. Produzida pelo autor.

Cabe ressaltar que grande parte da literatura científica utiliza o conceito de DHL para referir dietas ricas em gordura saturada e/ou trans. É este tipo de composição lipídica que induz prejuízos em longo prazo. Dietas ricas em óleos e gorduras insaturadas podem inclusive servir de estratégias dietéticas em certas condições de obesidade e desbalanços metabólicos (DINICOLANTONIO; O'KEEFE, 2017).

2.1.2. Estudo dos Efeitos da DHL em Modelos Animais

O estudo das consequências de dietas ricas gorduras saturadas sobre o organismo envolve uma série de desafios. Tanto o metabolismo, como o comportamento e cognição, são fenômenos complexos, com muitos elementos e inúmeras interações (MA'AYAN, 2017). Desta forma, estratégias experimentais com o uso de animais são essenciais para a compreensão dos efeitos dessa dieta sobre o sistema nervoso e suas repercussões cognitivo-comportamentais. Diversos modelos parecem reproduzir, dentro dos limites translacionais, uma série das alterações metabólicas e comportamentais observadas em indivíduos com síndrome metabólica (LUTZ; WOODS, 2007).

Neste sentido, modelos experimentais permitem o estudo de estratégias terapêuticas e farmacológicas que atuem sobre estes efeitos deletérios ou mesmo para o entendimento das repercussões da síndrome metabólica para o organismo e comportamento. É notável que camundongos alimentados com DHL apresentam tanto alterações metabólicas (ganho de massa corporal, proliferação do tecido adiposo, hiperglicemia, dislipidemia, intolerância à glicose, resistência à insulina, entre outros) como cognitivo-comportamentais (prejuízos de memória, alterações emocionais), similares às observadas em humanos (BRAGA et al., 2021; EISINGER et al., 2014;

PINI et al., 2017; RODRÍGUEZ-CORREA et al., 2020; ZEMDEGS et al., 2016). De modo geral, diferentes protocolos experimentais utilizando DHL são encontrados na literatura da área, sendo as principais variantes a composição lipídica (variando normalmente entre 25% e 60% de kcal provenientes de lipídios) e a duração de curto, médio e longo prazo, a depender das perguntas do estudo (LUTZ; WOODS, 2007; OMAR; PACINI; AHRÉN, 2012).

2.1.3. Efeitos da DHL na proliferação do tecido adiposo

O consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas relaciona-se diretamente com a proliferação do tecido adiposo. Este tecido além de atuar na reserva energética, também controla diretamente uma série de processos fisiológicos a partir de suas funções endócrinas, com a secreção de hormônios pelos adipócitos e macrófagos residentes do tecido. O tecido adiposo visceral sofre uma série de alterações em razão do aumento da ingestão calórica. Com o aumento da liberação plasmática de triglicerídeos e lipoproteínas pelo fígado, devido maior absorção intestinal, o tecido adiposo realiza a absorção do conteúdo lipídico do plasma para seu armazenamento (HAUSMAN et al., 2001). Com o aumento da demanda lipídica, os adipócitos sofrem processos de hiperplasia, aumentando em quantidade, assim como processos de hipertrofia, aumentando seu tamanho e volume (JO et al., 2009).

Essas alterações aumentam a quantidade de adipocinas secretadas por essas células, em especial as pró-inflamatórias com a leptina, resistina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6). Com o aumento de adipócitos mortos o tecido passa a ser infiltrado por mais macrófagos tipo M2 que passam também a liberar mais citocinas pró-inflamatórias. O resultado da proliferação é um aumento do

nível de inflamação de forma sistêmica e proporcional a quantidade de tecido adiposo (HAASE et al., 2014).

2.1.4. Consequências da DHL sobre o metabolismo glicêmico

O consumo de dietas ricas em gordura é capaz de induzir resistência à ação do hormônio pancreático insulina e pode como consequência levar a intolerância à glicose. Essas alterações explicam o risco elevado para o desenvolvimento de diabetes observado em indivíduos obesos e que consomem dietas de elevado valor energético e pobre composição nutricional (MARSHALL; BESSESEN, 2002).

Um mecanismo importante que está envolvido com as alterações no perfil glicêmico acarretadas pelo consumo de dietas ricas em gordura se dá pelo aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias como a TNF- α e IL-6 e pela maior circulação de ácidos graxos na corrente sanguínea (SHI e colab., 2019). Tais condições acarretam maior atividade de vias intracelulares que resultam na ativação das enzimas cinases proteína quinase C teta (PKC- θ), c-Jun N-terminal cinase (JNK) e cinase I κ B (IKK) que fosforilam resíduos de serina (Ser³⁰⁷, Ser⁶¹⁶ e Ser²⁷⁰) do receptor de insulina, diminuindo a ativação da cascata de sinalização intracelular deste hormônio e, como consequência, diminuindo seus efeitos na absorção da glicose plasmática (FELBER; GOLAY, 2002; HOTAMISLIGIL, 2006; NANDIPATI; SUBRAMANIAN; AGRAWAL, 2017).

Em longo prazo, as células endócrinas do pâncreas também apresentam respostas adaptativas às alterações metabólicas induzidas pela ingestão exagerada de alimentos hipercalóricos. Com a diminuição da eficiência da insulina, o aumento de glicose circulante leva a uma elevada atividade compensatória na produção deste

hormônio por parte das células pancreáticas. A manutenção do estado de resistência a ação da insulina leva a uma sobrecarga destas células que se tornam em longo prazo incapazes de compensar o desvio, acarretando um quadro de intolerância a glicose e elevação da concentração deste carboidrato no plasma sanguíneo (OMAR; PACINI; AHRÉN, 2012).

2.1.5. Consumo de DHL e mitocôndria

As mitocôndrias apresentam papel chave no metabolismo energético e para uma série de mecanismos fisiológicos. DHL também afetam significativamente a atividade mitocondrial em diferentes tecidos do corpo. As mitocôndrias do fígado de camundongos alimentados com este tipo de dieta por 16 semanas apresentam prejuízos na respiração mitocondrial associada à diminuição da atividade do citocromo c oxidase e perda do potencial de membrana mitocondrial (VIAL et al., 2011).

Estudos também apontam para um efeito deletério da DHL por longos períodos (1 ano) em mitocôndrias musculares, prejudicando a atividade respiratória e aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (SPARKS et al., 2005). Embora o estudo de Sparks et al. (2005) não tenha verificado os efeitos nas mitocôndrias cerebrais, outros trabalhos demonstraram que as mitocôndrias do sistema nervoso também são afetadas pelo consumo de DHL. Em particular, um estudo de Crescenzo et al. (2019) demonstrou alterações no sistema de acoplamento mitocondrial que leva a aumento do potencial de membrana mitocondrial e elevação na produção de espécies reativas de oxigênio no cérebro de camundongos alimentados com DHL (CRESCENZO et al., 2019).

2.1.6. Impacto da DHL sobre o sistema nervoso central

A sinalização da insulina tem papel crítico na homeostase do tecido nervoso e plasticidade sináptica, assim sua ação tem forte influência sobre a cognição e o comportamento (DE FELICE; BENEDICT, 2015; LEE et al., 2016). Tendo em vista os efeitos da DHL, a desregulação do metabolismo deste hormônio tem sido sugerida como o evento chave que relaciona DHLs com prejuízos cognitivos e alterações comportamentais (KIM; FELDMAN, 2015)

A dislipidemia também é apontada por diferentes grupos como mecanismo responsável por alterações comportamentais observadas em animais alimentados com DHL (KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013; LI et al., 2012a; MOREIRA et al., 2014; THIRUMANGALAKUDI et al., 2008). Em estudos anteriores de nosso grupo de pesquisa, foi demonstrada uma forte influência dos níveis de colesterol plasmático em alterações locomotoras, emocionais e cognitivas em camundongos. A hipercolesterolemia, tanto de origem dietética como genética, parece estar relacionada ao aumento da atividade da enzima acetilcolinesterase em sítios importantes do cérebro dos camundongos, resultando em prejuízos da modulação colinérgica, como consequência no comportamento e processos cognitivos (MACHADO et al., 2018; MOREIRA et al., 2014). A DHL parece acarretar também diretamente em prejuízos na potenciação de longo prazo no hipocampo, além da indução de prejuízos na produção de sinalizadores de plasticidade importantes, como o caso do fator de crescimento derivado do cérebro (do inglês BDNF)(NAKANDAKARI et al., 2019).

Prejuízos na homeostase redox também são detectáveis no cérebro de animais alimentados com DHL. Esses prejuízos incluem inibição da atividade e diminuição da expressão de enzimas como a superóxido dismutase, catalase, além de desregulação do sistema glutaciona, diminuindo a sua concentração e prejudicando a atividade das enzimas glutaciona redutase e glutaciona peroxidase. Tais desbalanços e prejuízos funcionais já foram apontados como consequência de DHL em diversos modelos animais (PISTELL et al., 2010; WANG et al., 2020). Essas alterações no sistema redox estão relacionadas com disfunção mitocondrial em especial no hipocampo e córtex pré-frontal (PINTANA et al., 2012; YUZEFOVYCH et al., 2013).

2.1.7. Efeitos de Curtos Períodos de DHL

Os impactos de dietas hipercalóricas e ricas em açúcar e gordura podem ser detectados mesmo quando a dieta é mantida por curto período. No documentário *Super Size Me: a dieta do palhaço* (2004), o diretor *Morgan Spurlock* registrou um experimento com seu próprio corpo se alimentando unicamente de alimentos comprados no *MacDonald* por 30 dias. A composição da dieta variava, mas todos os alimentos eram ricos em açúcar ou gorduras e o resultado foi assustador. Ao final do experimento *Spurlock* teve um ganho de cerca de 10% de sua massa corporal, seus exames de sangue demonstraram elevações nos níveis de colesterol e triglicerídeos plasmático, além de maior detecção de enzimas hepáticas no sangue, sugerindo dano neste órgão. De modo interessante em vários momentos do filme *Morgan* relata humor deprimido, desmotivação e alguns episódios maníacos, tendo aparentemente este período de dieta afetado suas funções neurais.

Embora tenha sido um experimento mais comprometido com a arte cinematográfica, do que com a ciência, esta reflexão faz sentido e é importante reflexão social e de saúde, afinal de contas diversos estudos corroboram que curtos períodos de dietas hiperlipídicas são capazes de afetar funções fisiológicas importantes, podendo impactar inclusive no comportamento e na cognição. Por exemplo, em um estudo muito interessante, 20 homens sedentários mantiveram, por 7 dias, uma dieta rica com 74% de kcal provenientes de gordura. Observou-se que esta dieta elevou significativamente a presença de ácidos graxos livres no plasma sanguíneo. A atividade e função mitocondrial também sofreu alterações decorrentes do consumo da dieta, prejudicando sua função através da proteína desacopladora muscular, acarretando 3% de prejuízo de eficiência deste tecido. Notavelmente, além de tais efeitos fisiometabólicos, os indivíduos também apresentaram prejuízos em seus tempos de reação em diferentes testes, além de prejuízos atencionais (EDWARDS et al., 2011). Em outro estudo, apenas três dias de consumo de DHL, em humanos saudáveis, foi capaz de elevar significativamente a concentração de colesterol plasmático total, colesterol LDL e de triglicerídeos no plasma sanguíneo (GUAY et al., 2012). De forma também notável, cinco dias de DHL é capaz de induzir prejuízos na produção energética do miocárdio, além de prejuízos na atenção, memória operacional e processamento da informação visual (BRØNS et al., 2009).

Os roedores também têm seu metabolismo e comportamento afetado por curtos períodos de DHL. Em um estudo com camundongos adolescentes alimentados com DHL por 3, 4, e 6 semanas, diferentes efeitos da dieta foram observados para cada faixa de tempo. O estudo demonstrou que alterações comportamentais já estão presentes de forma branda a partir de 3 semanas de dieta, e que com 4 e 6 semanas

intensificam-se. Entretanto, respostas neuroimunológicas relacionadas à inflamação só foram detectadas a partir de 6 semanas de dieta, sugerindo que fatores além da inflamação participam do surgimento de prejuízos cognitivos e alterações comportamentais observadas nos animais (WU et al., 2018).

Estudo recente também demonstrou que mesmo 3 e 5 dias com DHL são o suficiente para causar prejuízo de memória e alterações emocionais em camundongos (DE PAULA et al., 2021). Curtos períodos de dieta também são capazes de interferir no metabolismo glicêmico. Em estudo de 2011, Lee e colaboradores demonstraram que 3 dias de dieta são capazes de induzir resistência a ação da insulina em camundongos mesmo na ausência de marcadores de inflamação detectáveis (LEE et al., 2011; NAKANDAKARI et al., 2019). O estudo sugere que a condição inicial de intolerância a glicose inicia antes do aumento da inflamação, que apenas intensificaria a resistência ao hormônio. Mesmo peixes parecem ter seu comportamento impactado por curtos períodos de DHL estudo recente foi demonstrado que peixes Zebra (*Danio rerio*) apresentam prejuízo cognitivo, aumento de comportamentos agressivos e comportamento tipo ansioso quando alimentados por 15 dias com dieta enriquecida com gordura (PICOLO et al., 2021).

2.2. HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA

A compreensão de como o consumo de dietas ricas em gordura relaciona-se com alterações metabólicas, comportamentais e neuroquímicas é essencial, haja vista os impactos de tais dietas na saúde humana. Desta forma, o entendimento de como se dá a dinâmica temporal dos efeitos de dietas hiperlipídicas em nível metabólico e comportamental, em especial por curtos períodos, é essencial para poder entender e intervir sobre os impactos neurocomportamentais do consumo deste tipo de dieta. A hipótese deste trabalho é que as alterações metabólicas precedem e correlacionam-se positivamente com as alterações comportamentais, mesmo em curtos períodos de dieta, induzindo alterações significativas na homeostase e metabolismo do sistema nervoso.

2.3. OBJETIVO

2.3.1. Geral

Analisar a dinâmica temporal dos efeitos metabólicos e neurocomportamentais em camundongos alimentados por curtos períodos de DHL.

2.3.2. Específicos

Investigar os efeitos da DHL em três diferentes curtos períodos, 15, 25 e 35 dias nos seguintes parâmetros:

2.3.2.1. Comportamentais

- Locomoção espontânea e Emocionalidade no teste do campo aberto.
- Memória de reconhecimento de curto prazo através do teste de reconhecimento de objetos.

2.3.2.2. Metabólicos

- Massa Corporal;
- Massa Adiposa Visceral;
- Glicose em Jejum;
- Tolerância à Glicose;
- Colesterol Total;
- Triglicerídeos;
- Funções Mitocondriais.

2.4. MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1. Animais

Na realização deste trabalho foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem *Swiss*, machos, e com idade entre 3 e 4 meses. Os animais foram mantidos em caixas plásticas, com água e comida *ad libitum*. As caixas foram colocadas em estantes com umidade e temperatura controladas. O ciclo claro-escuro foi mantido com 12 horas de luz (começando às 06h:00min) e 12 horas no escuro (começando às 18h:00min). Os procedimentos experimentais envolvidos neste estudo foram delineados de tal maneira a minimizar ao máximo o sofrimento dos animais. Além disso, foi utilizado tamanho amostral mínimo e adequado para as análises estatísticas, possibilitando a obtenção do máximo de informações relevantes para o cumprimento dos objetivos propostos de acordo com Diretivas dos Cuidados e manejo de animais de laboratório. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética.

2.4.2. Dietas

Dois tipos de dieta comerciais para roedores foram utilizadas neste trabalho: a dieta padrão para roedores (DP) (Proteínas 22%, carboidratos 46,5% e lipídeos 20%, Nuvilab CR1, Nuvital; Quimtia Nutrientes SA, Colombo, PR, Brasil) e DHL (Proteínas 12%, carboidratos 27% e lipídeos 61%, Rhoster Indústria e Araçoiaba da Serra, SP, Brasil), mesma utilizada em Braga, 2021 (BRAGA et al., 2021).

2.4.3. Desenho Experimental

2.4.3.1. Experimento 1

Neste trabalho os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, sendo o DP, alimentado com dieta padrão de roedores, enquanto os outros três grupos alimentados com DHL por diferentes períodos (DHL 15, 25 e 35 dias). No primeiro dia experimental, iniciou-se a DHL no grupo que a receberia por 35 dias e se iniciou a dieta do grupo DP. No décimo dia experimental, iniciou-se a DHL no grupo que a recebeu por 25 dias. Por fim, no vigésimo dia experimental, iniciou-se o grupo que receberia a dieta por 15 dias. Do trigésimo dia até o trigésimo terceiro dia foi realizado o teste de habituação ao campo aberto, servindo também como ambientação ao aparato para o teste de reconhecimento de objetos, no trigésimo quarto dia os animais os animais foram treinados e testados para memória de curto prazo no teste de reconhecimento de objetos. Por fim no trigésimo quinto dia os animais passaram pelo teste de tolerância a glicose e no trigésimo sexto, foram eutanasiados por decapitação e o sangue e tecido adiposo coletados para futuras análises.

2.4.3.2. Experimento 2

Neste experimento os animais foram separados em dois grupos DP e DHL, e tratados com as respectivas dietas por 35 dias. Após o período da dieta córtex pré-frontal, os animais foram eutanasiados por decapitação e tiveram sangue e córtex pré-frontal coletadas e congeladas para realização de análises bioquímicas e parte coletada para o ensaio de respirometria de alta resolução.

2.4.4. Teste do Campo Aberto

Neste paradigma permite-se aos animais livre exploração uma caixa de 50 cm x 50 cm x 40 cm de volume, em uma exposição diária de 5 minutos por três dias. Foram avaliados os seguintes parâmetros comportamentais: cruzamentos totais, refletindo a atividade locomotora, habituação exploratória e o tempo de permanência no centro do aparato, este último relacionado à emocionalidade haja vista a aversividade desta área para o animal (BOLIVAR et al., 2000; PRUT et al., 2003; SEIBENHENER; WOOTEN, 2015).

2.4.5. Teste de Reconhecimento de Objetos

Para avaliação da memória de curto prazo e reconhecimento, foi utilizado o teste de reconhecimento de objetos. O protocolo consiste em uma sessão de treino de 5 minutos seguida após 30 minutos de uma sessão de teste de 5 minutos. Durante a sessão de treino, os animais são expostos a dois objetos com propriedades idênticas em cor, forma e textura. Espera-se que durante esta sessão os animais explorem ambos os objetos com mesma frequência e duração, tendo em vista que são idênticos e não haja preferência justificável. Na sessão de teste o animal é reexposto ao contexto na presença de um dos objetos já conhecidos e um objeto novo, cuja cor, forma e textura diferem dos objetos da sessão de treino. Nesta sessão espera-se maior frequência e duração de comportamentos exploratórios no objeto novo, haja vista a tendência natural de preferência pela novidade e o fato de terem formado memória de um dos objetos durante a sessão de treino, uso da memória de reconhecimento (VOGEL-CIERNIA; WOOD, 2014).

2.4.6. Mensuração da Massa Corporal e Adiposa

A massa corporal dos animais foi avaliada no início e final do experimento para a análise da variação durante o período experimental. Após a eutanásia dos animais, a massa adiposa visceral da região abdominal foi dissecada e pesada em balança de precisão.

2.4.7. Teste de Tolerância a Glicose

Para avaliação da curva de tolerância a glicose, os animais foram mantidos em 6h de jejum calórico seguido da coleta da glicemia de jejum (glicose basal - tempo 0) através da retirada de uma gota de sangue pela cauda dos animais realizando a análise por meio de glicosímetro (Accu-Chek Performa®). Após a primeira coleta, foi feita aplicação via i.p. de D-(+) -glicose (Sigma Aldrich, St Louis, MO) na concentração de 2g/kg de peso corporal e a concentração de glicose no sangue aferida nos tempos 15, 30, 60 e 120 min após a aplicação. Os resultados foram expressos em mg/dl. O protocolo foi o mesmo que o utilizado em Braga, 2021 (BRAGA et al., 2021).

2.4.8. Ensaio Bioquímico de Sangue

Para a determinação de lipídeos plasmáticos foi realizada a quantificação do colesterol total e triglicerídeos no plasma dos camundongos através de reagentes comerciais (Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil), seguindo as especificações do fabricante. Os resultados são expressos em mg/dl.

2.4.9. Respirometria de alta resolução

Para avaliar o consumo de oxigênio mitocondrial em homogenato de córtex cerebral, 2mg/ml de tecido fresco obtidas de cada grupo experimental foram transferidos para oxímetro 2K (respirometria de alta resolução, por Oroboros Instrumentos, Áustria) com 2 ml por câmaras, e foram determinados a taxa de consumo de O₂ (TCO) ou fluxo de O₂ por massa de tecido (pmol O₂/s/mg), mensurado em tempo real utilizando o software DatLab (OROBOROS INSTRUMENTS, Innsbruck, Áustria), como descrito anteriormente (Mancini et al., 2020). Primeiramente, foi avaliada a taxa de consumo de O₂ basal (BASAL), que foi mensurada em meio suplementado com albumina bovina sérica (1mg/ml) e após a estabilização do fluxo de O₂ seguida à adição das amostras às câmaras de registro do oxígrafo contendo tampão de respiração (pH 7.4, sacarose 300 mM, EGTA 10 Mm, MOPS 5 mM, KH₂PO₄ 5 mM). Em seguida, a taxa de consumo de O₂ associado ao LEAK foi determinada adicionando Piruvato (5 mM), Malato (0,5) e Glutamato (10mM). O estado mitocondrial de LEAK é uma condição na qual as mitocôndrias consomem O₂, sem sintetizar ATP (não fosforilante), para compensar a fuga de prótons e elétrons. Para avaliar a TCO associada à síntese de ATP foram adicionados ADP (2mM) e succinato (10mM). Por fim, o consumo de O₂ mitocondrial foi inibido de forma irreversível pela adição de Rotenona (0,5 uM) e Antimincina (2,5 uM) inibidores dos complexos I e III, respectivamente. Nesta última etapa, a taxa de consumo de O₂ residual resultante representa o consumo de O₂ extramitocondrial, ou seja, o consumo realizado por outras organelas e processos bioquímicos celulares independentes da mitocôndria, ou pelas reações de oxidação. Protocolo conforme Mancini e colaboradores, 2021(MANCINI et al., 2021).

2.4.10. Escore padrão (Z-escore) comportamental e metabólico

Tanto os resultados comportamentais como metabólicos foram normalizados para seu escore padrão. Este procedimento matemático simples permite a integração de diferentes variáveis experimentais em uma única variável de escore padrão, permitindo uma análise integrada dos dados experimentais. Neste sentido, os parâmetros obtidos nas diferentes etapas experimentais foram calculados a partir da seguinte equação: $z = \frac{(x-\mu)}{\sigma}$, sendo x o valor individual do animal para algum parâmetro experimental, μ a média do grupo para o parâmetro e σ o valor do desvio padrão observado para o grupo. Foram calculados os escores padrão de cada animal para cada parâmetro comportamental (locomoção e habituação no campo aberto, tempo no centro no campo aberto e índice de reconhecimento na sessão de teste do reconhecimento de objetos) e metabólico (massa corporal, variação de massa, massa adiposa, triglicerídeos, colesterol, glicose em jejum, área sobre a curva do teste de tolerância à glicose). Assim serão integrados em valores únicos, um z-score comportamental e um z-score metabólico. Por fim, foi feita a média dos escores para comparação estatística e correlações. Protocolo similar ao utilizado em Zemdegs, 2016(ZEMDEGS et al., 2016).

2.4.11. Estatística

Os resultados serão apresentados como a média \pm erro padrão da média. As diferenças estatísticas entre os grupos experimentais foram detectadas com análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do post-hoc Dunnet. Para avaliação de dados de habituação e curva de tolerância a glicose foi aplicado o teste de ANOVA com medidas repetidas. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como indicativos de

significância. Para avaliar o grau de correlação entre os escores metabólicos e comportamentais foi realizado o teste de correlação de Pearson.

2.5. RESULTADOS

2.5.1. Análise da Massa Corporal e do Tecido Adiposo

Em relação à massa corporal dos animais não houve diferença significativa entre os grupos no início dos experimentos (ANOVA de uma via, $F(3, 28) = 0,7672$, $p > 0,05$) (**Fig. 1A**). Ao final dos experimentos a ANOVA indicou efeito da dieta (ANOVA de uma via, $[F(3, 28) = 28,71$, $p < 0,0005]$) na variação da massa corporal (**Fig.1B**), e o post-hoc detectou aumento significativo nos grupos alimentados por 25 e 35 dias com DHL (Dunnet, $p < 0,00005$). Na avaliação da massa adiposa visceral (**Fig1.C**) a ANOVA indicou efeito significativo da dieta (ANOVA de uma via, $[F(3, 28) = 27,81$, $p < 0,0005]$). Este aumento ocorreu em todos os grupos que receberam DHL (post-hoc Dunnet, $p < 0,0005^{***}$, $p < 0,00005^{****}$).

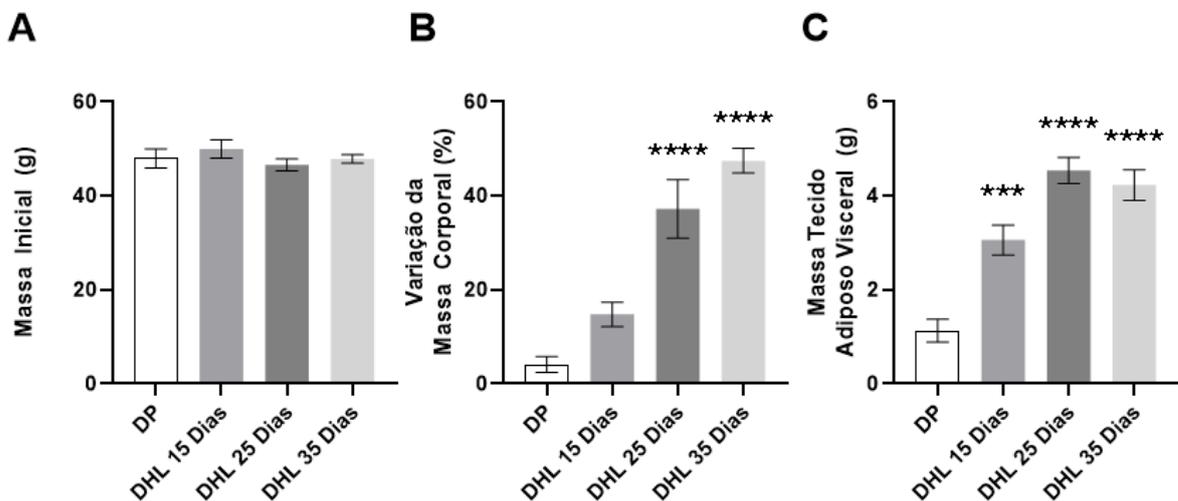


Figura 2. Análise da Massa Corporal e do Tecido Adiposo. A) A massa dos animais no início dos experimentos não apresentava diferenças significativas ($p > 0,05$, $n = 8$). **B)** A variação de massa corporal dos grupos alimentados com DHL por 25 e 35 dias foi significativamente diferente do grupo alimentado com dieta padrão ($p < 0,00005$, n

= 8).**C)** Diferenças na massa adiposa visceral dos animais. Todos os grupos alimentados com DHL apresentaram aumento significativo de massa adiposa ($p < 0,0005^{***}$, $p < 0,00005^{****}$, $n = 8$). Dados expressos em média e erro padrão.

2.5.2. Locomoção, Habituação e Emocionalidade no Campo Aberto

Para avaliação da locomoção e habituação espacial foi utilizado o teste do campo aberto. A ANOVA não indicou efeito da dieta na locomoção durante o primeiro dia (**Fig.2A**) de campo aberto ($[F(3, 28) = 0,5743, p > 0,05]$) e segundo dia (**Fig.2B**) (ANOVA $[F(3, 28) = 0,5721, p > 0,05]$). No terceiro dia (**Fig.2C**), A ANOVA de uma via indicou efeito da dieta (ANOVA, $[F(3, 28) = 4,154, p < 0,05]$, $n = 8$) e o post-hoc confirmou aumento significativo na locomoção em todos os animais que receberam DHL em comparação ao grupo DP (Dunnet, $p < 0,05$). A avaliação da emocionalidade foi realizada a partir da mensuração do tempo de permanência dos animais no centro do aparato no primeiro dia de exposição ao campo aberto (**Fig.2D**). A ANOVA indicou efeito da dieta (ANOVA, $[F(3, 28) = 3,743, p < 0,05]$) e o teste post-hoc indicou que apenas o grupo que recebeu DHL por 35 dias apresentou diminuição significativa no tempo de permanência no centro do aparato (Dunnet, $p < 0,005$).

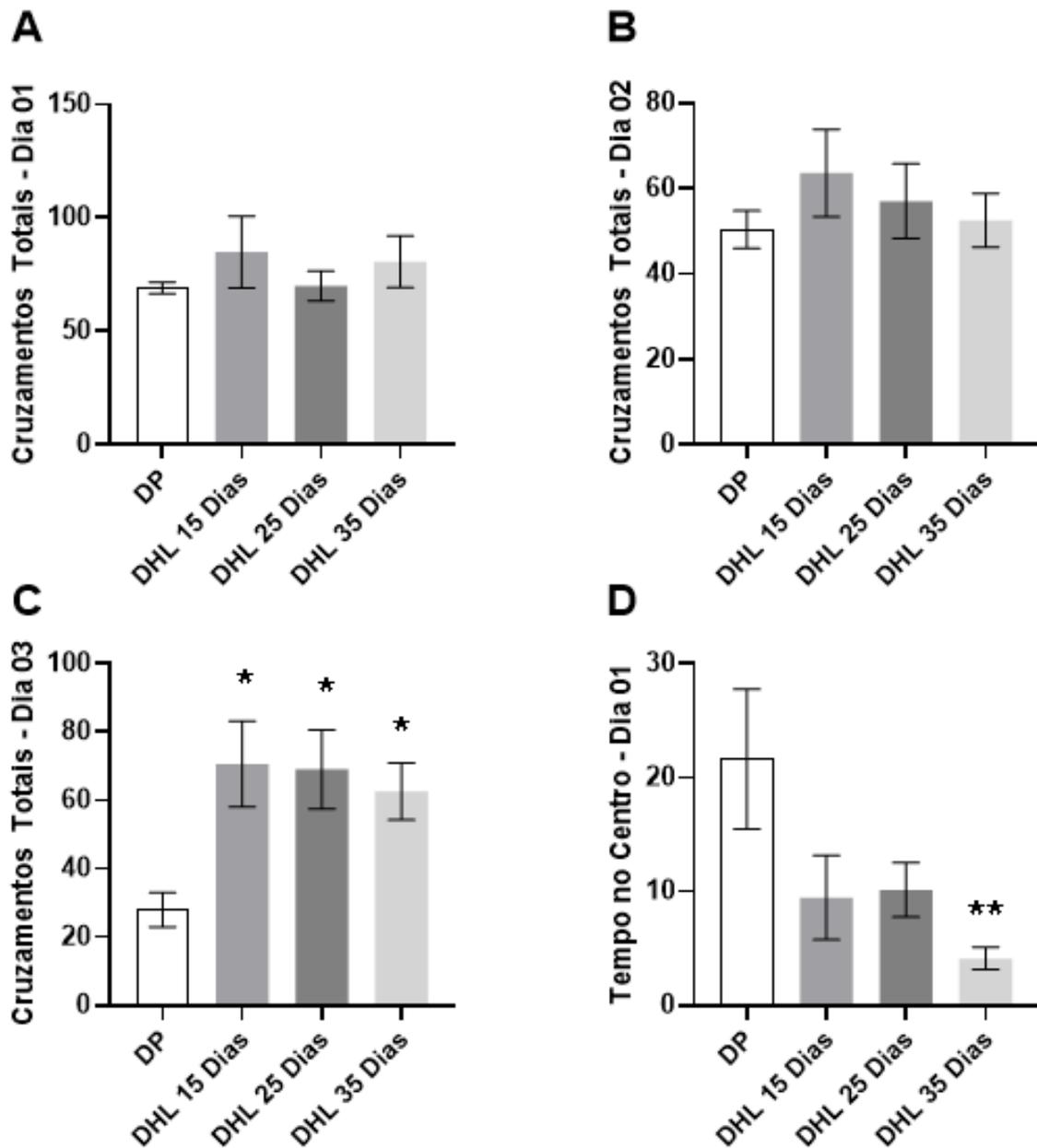


Figura 3. Locomoção, habituação e emocionalidade no campo aberto. A) No primeiro e **B)** segundo dia de exposição ao campo aberto não houve diferenças significativas na locomoção dos animais ($p > 0,05$). **C)** No terceiro dia de habituação ao campo aberto os animais alimentados com DHL apresentaram locomoção significativamente maior que os animais alimentados com DP ($p < 0,05$, post-hoc Dunnet). **D.** Verificou-se uma diminuição significativa ($p < 0,005$, post-hoc Dunnet) no

tempo de exploração no centro do aparato no primeiro dia de campo aberto no grupo alimentado por 35 com DHL ($p < 0,005^{**}$, post-hoc Dunnet). Dados expressos em média e erro padrão.

2.5.3. Efeitos da DHL na Formação da Memória de Reconhecimento de Curto Prazo

Na verificação da memória de reconhecimento de curto prazo foi utilizado o teste de reconhecimento de objetos. Durante a sessão de treino (**Fig3.A**) não houve diferenças significativas entre os grupos em relação ao tempo esperado de 50% de exploração em cada objeto (teste t contra o valor hipotético de 50%, $p > 0,05$). Na sessão de teste (**Fig3.B**) verificou-se que os grupos que receberam DHL por 25 e 35 dias apresentaram prejuízos na formação da memória de reconhecimento, tendo apenas o grupo DP e DHL por 15 dias aprendido a tarefa (teste t contra o valor hipotético de 50%, $p < 0,05$).

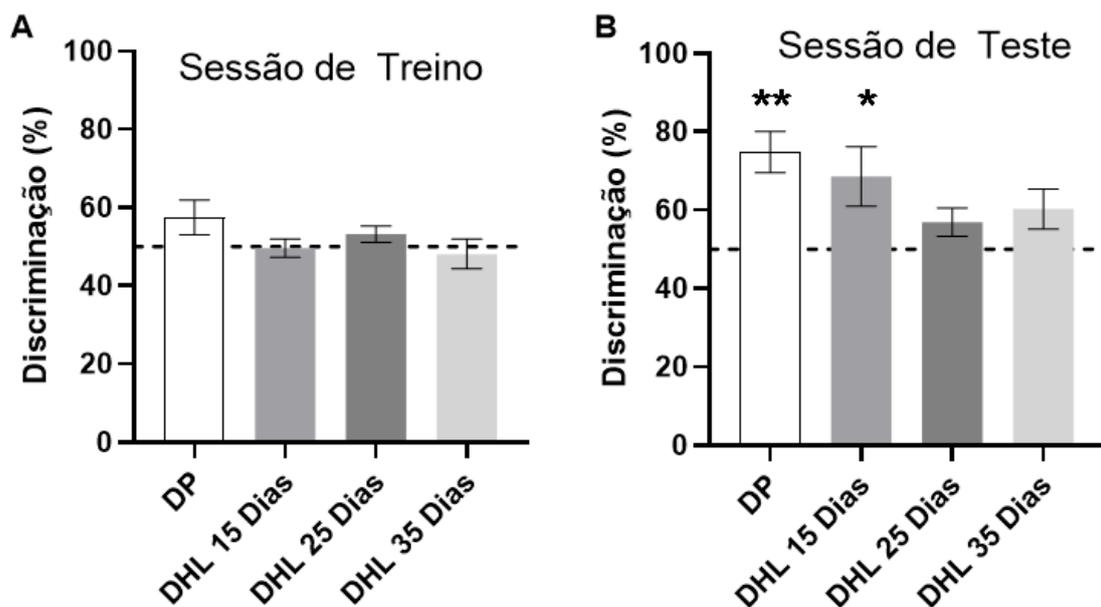


Figura 4. Avaliação da Memória de Reconhecimento de Curto Prazo. A) Sessão de treino. Durante o treino nenhum dos grupos apresentou diferenças significativa em relação ao valor hipotético de 50% de exploração dos objetos (teste t, $p > 0,05$), salientando ausência de preferência dos animais pelos objetos. **B) Sessão de teste.** Durante o teste os animais alimentados com DHL por 25 e 35 dias não aprenderam a tarefa, apenas os grupos DP e DHL 15 dias apresentaram diferença significativa entre o valor de 50% de exploração dos objetos (teste t, $p < 0,05^*$, $p < 0,005^{**}$). Dados expressos em média e erro padrão.

2.5.4. Efeitos no Metabolismo

Na avaliação da glicose em jejum, a ANOVA demonstrou efeito da dieta (ANOVA de uma via, $F(3, 28) = 8,792$ $p < 0,0005$, $n = 8$) (**Fig.5A**). O teste post-hoc indicou que todos os grupos alimentados com DHL apresentaram aumento significativo em sua glicemia em jejum (post-hoc Dunnet, $p < 0,005$). Na avaliação da curva de tolerância à glicose (**Fig.5B**), a ANOVA de medidas repetidas indicou efeito da dieta [$F(3, 28) = 13,26$, $p < 0,0005$], do tempo [$F(3,229, 90,40) = 259,8$, $p < 0,0005$] e da interação dieta x tempo [$F(3, 28) = 28,53$, $p < 0,0005$], indicando elevações significativas dos animais alimentados com DHL em relação ao grupo DP nos tempos 30, 60 e 120 (post-hoc Dunnet $p < 0,00005$). A ANOVA demonstra que a área sobre a curva (**Fig.5C**) de tolerância à glicose também teve efeito da dieta (ANOVA de uma via, $F(3, 28) = 28,53$ $p < 0,0005$, $n = 8$). O teste post-hoc indicou aumento significativo gradual em todos os grupos alimentados com DHL (Dunnet, $p < 0,0005^{***}$, $p < 0,00005^{****}$, $n = 8$).

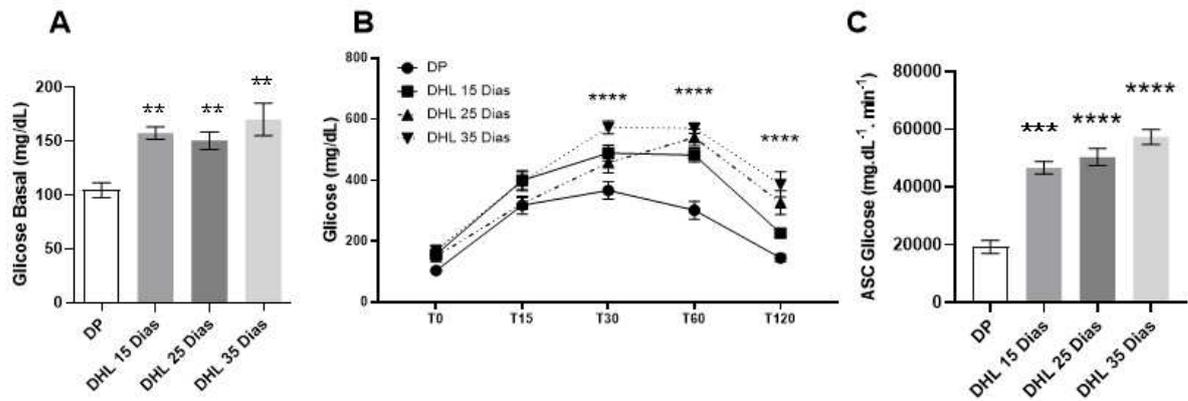


Figura 5. Avaliação do Metabolismo Glicêmico. **A)** Todos os grupos alimentados com DHL, indiferente do período, apresentaram glicose em basal em jejum elevada em relação ao grupo alimentado com DP ($p < 0,005$). **B)** A curva de tolerância a glicose demonstra aumento significativo na glicemia dos grupos alimentados com DHL nos tempo 30, 60 e 120 ($p < 0,00005$). **C)** A curva de tolerância à glicose e a área sobre a curva nos revelam que todos os grupos alimentados com DHL apresentaram uma maior intolerância a glicose que os animais alimentados com DP ($p < 0,0005^{***}$, $p < 0,00005^{****}$). Dados expressos em média e erro padrão.

2.5.5. Análise do perfil lipídico no sangue

Na avaliação do perfil lipídico do plasma sanguíneo foram avaliadas as concentrações de triglicerídeos e colesterol total plasmático. A ANOVA indicou efeito da dieta (ANOVA de uma via, $F(3, 28) = 13,18$ $p < 0,0005$, $n = 8$) para concentração de triglicerídeos plasmáticos (**Fig.6A**). O teste post-hoc demonstrou que os grupos que receberam DHL por 25 e 35 dias apresentaram elevações significativas graduais na concentração de triglicerídeos plasmáticos (post-hoc Dunnet $p < 0,005^{**}$, $p < 0,00005$). Em relação a concentração de colesterol plasmático total (**Fig.6B**), a ANOVA indicou efeito da dieta (ANOVA de uma via, $F(3, 28) = 7,855$ $p < 0,005$, $n =$

8), o teste post-hoc revelou que os grupos alimentados por 35 dias com DHL apresenta elevação significativa na concentração de colesterol plasmático (post-hoc Dunnet $p < 0,05^*$, $p < 0,0005$, $n = 8$).

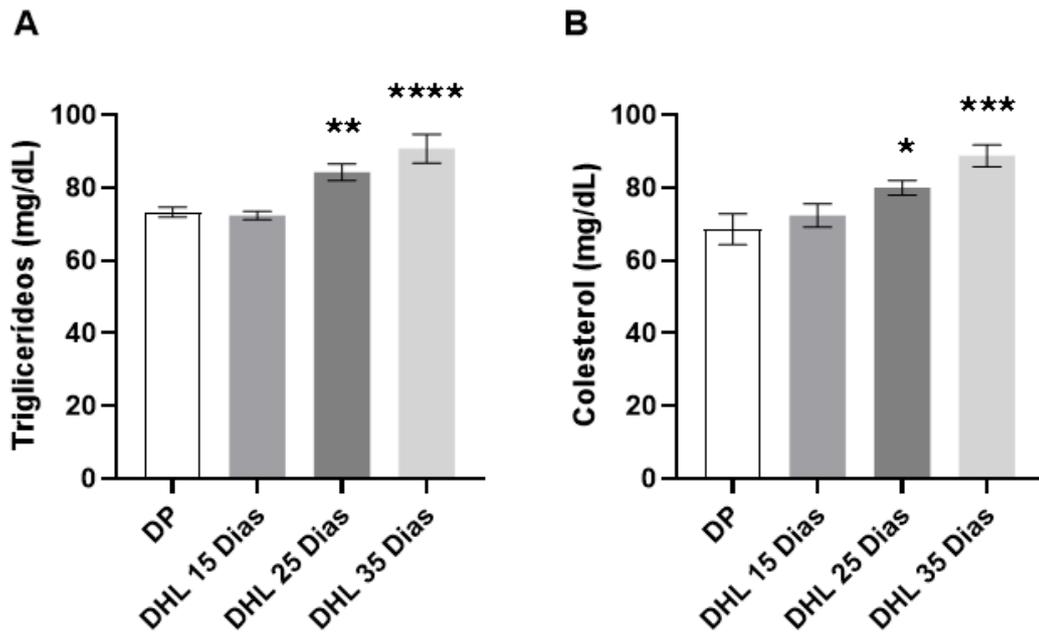


Figura 6. Avaliação dos Triglicerídeos e Colesterol Plasmáticos. **A)** Os grupos alimentados 25 e 35 dias com DHL tiveram a concentração de triglicerídeos significativamente aumentado em relação ao grupo DP ($p < 0,005^{**}$, $p < 0,00005^{****}$). **B)** Os animais alimentados por 25 e 35 dias com a DHL apresentaram aumento significativo nos níveis de colesterol plasmático total em relação ao grupo DP ($p < 0,05^*$, $p < 0,0005^{***}$). Dados expressos em média e erro padrão.

2.5.6. Análise de Escore Padrão e Correlações Comportamentais x Metabólicas

Para investigar mais profundamente as relações entre as alterações metabólicas e comportamentais observadas neste estudo, foram realizadas análises a partir dos valores de escore padrão (z-score) comportamental e metabólico. Primeiramente comparou-se a média dos escores padrão de cada grupo experimental. A ANOVA detectou efeito da dieta no escore comportamental (ANOVA, $[F(3, 28) = 7,173, p < 0,001]$) e o teste post-hoc demonstrou que os grupos alimentados com DHL por 15, 25 e 35 dias apresentaram aumento significativo no escore padrão comportamental ($p < 0,005$, post-hoc Dunnet) (**Fig.7A**). A ANOVA demonstrou efeito significativo da dieta no escore metabólico ($[F(3, 28) = 48,64, p < 0,0005]$) (**Fig. 7B**) que aumentou significativamente em todos os grupos alimentos com DHL não importando o período conforme demonstrado no teste post-hoc ($p < 0,00005$, Dunnet). O teste de correlação de Pearson mostrou que os escores comportamental e metabólico estão correlacionados positivamente nos grupos experimentais ($p < 0,05$, $r = 0,40$, correlação de Pearson) (**Fig.7C**).

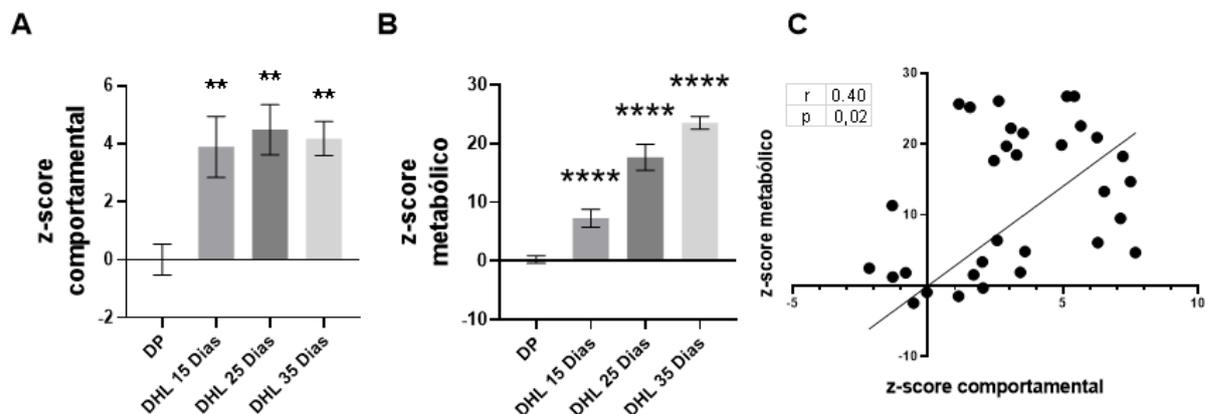


Figura 7. Análises a partir dos z-score metabólico e comportamental. A) Os animais dos grupos DHL 15, 25 e 35 dias apresentaram aumento significativo no z-

score comportamental ($p < 0,005$). **B)** Os animais DHL 15, 25 e 35 dias apresentaram z-score metabólico significativamente maior que os animais do grupo DP ($p < 0,00005$). **C)** Houve correlação positiva entre o z-score comportamental com o z-score metabólico (correlação de Pearson, $p < 0,05$, $r = 0,40$). Dados expressos em média e erro padrão.

2.5.7. Análise do consumo de oxigênio no Córtex Pré-Frontal: investigando efeitos no balanço oxidativo e função mitocondrial

A taxa de consumo de oxigênio mitocondrial basal no córtex pré-frontal do grupo DHL por 35 dias elevou-se significativamente em relação ao grupo DP (teste t, $p < 0,05$). A taxa de consumo de oxigênio associada à fosforilação oxidativa no córtex pré-frontal do grupo DHL por 35 dias foi significativamente menor do que no grupo DP (teste t, $p < 0,05$). Não houve diferenças na taxa máxima de consumo de oxigênio e na reserva mitocondrial (teste t, $p > 0,05$).

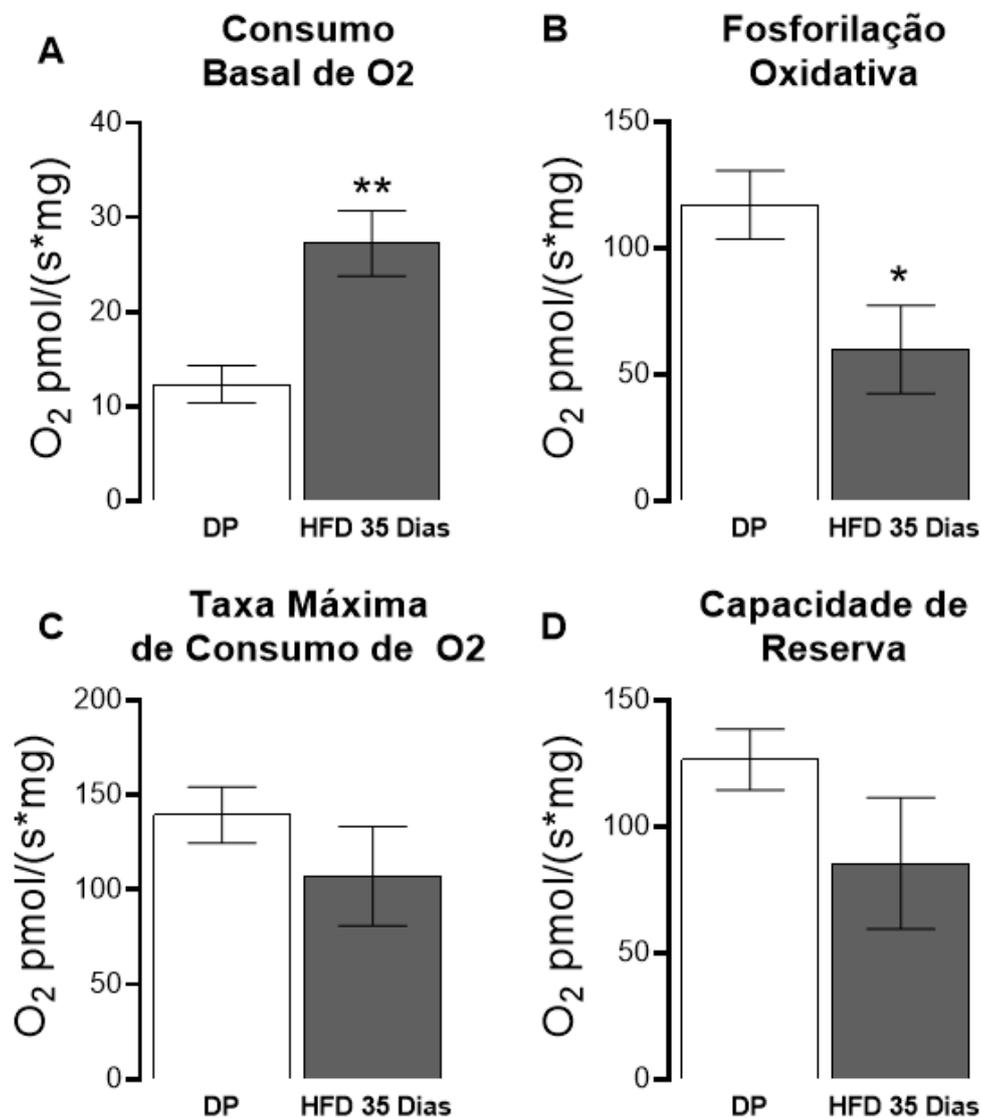


Figura 8. Respirometria de Alta Resolução. A) Consumo de O₂ Basal no córtex pré-frontal dos animais alimentados com DHL por 35 dias aumentou significativamente ($p < 0,005$). **B)** Os animais alimentados com DHL por 35 dias apresentaram Taxa de consumo de O₂ associada a síntese de ATP diminuída em relação ao grupo DP ($p < 0,05$). **C)** Não há diferença na taxa máxima de consumo de O₂ ($p > 0,05$). **D)** Não há diferenças na reserva mitocondrial ($p > 0,05$). Dados expressos em média e erro padrão.

2.6. DISCUSSÃO

Dietas hipercalóricas ricas em açúcares e gorduras, associadas a um estilo de vida sedentário de pouco gasto energético, impactam drasticamente o metabolismo. Como dito na introdução deste trabalho, dietas baseadas nestes tipos de alimentos, mesmo que por curtos períodos, podem acarretar proliferação do tecido adiposo, dislipidemia e prejuízos no metabolismo da glicose, como hiperglicemia, intolerância a glicose e resistência à ação da insulina (KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013; RODRÍGUEZ-CORREA et al., 2020). Essas alterações metabólicas sistêmicas impactam o sistema nervoso, sendo estas condições associadas ao desenvolvimento de alterações comportamentais e cognitivas, transtornos psicológicos (SKILTON et al., 2007) e de condições neuropsiquiátricas (PANZA et al., 2010; VANHANEN et al., 2006). Neste trabalho investigamos como se dá o curso do desenvolvimento das alterações metabólicas sistêmicas induzidas por DHL e como tais alterações metabólicas relacionam-se com as alterações comportamentais induzidas por este tipo de dieta.

Os dados de aumento de massa corporal estão de acordo com o período de dieta. A variação de massa dos animais é significativa, em relação ao grupo controle, com 25 e 35 dias de DHL. De acordo com estudos anteriores, este tipo de dieta rica em gordura é capaz de induzir ganho de massa significativo em camundongos (BRAGA et al., 2021; LUTZ; WOODS, 2007). Também foi observado aumento significativo da massa de tecido adiposo visceral, sendo verificado tal aumento em todos os grupos de animais alimentados com DHL. Evidências acumuladas corroboram esse achado, sugerindo que a proliferação do tecido adiposo precede a maior parte dos efeitos da dieta (ENGIN; ENGIN, 2017; GEPSTEIN; WEISS, 2019).

Todos os grupos alimentados DHL apresentaram glicemia em jejum significativamente maior que o grupo DP. A partir de 15 dias de DHL a área sobre as curvas do teste de tolerância a glicose apresentou um aumento significativo. Estes dados são corroborados por outros achados de nosso grupo que indicam a capacidade de curtos períodos de dieta desencadear aumento da glicemia em jejum e intolerância a glicose em camundongos (BRAGA et al., 2021). Um mecanismo importante relacionado ao consumo de DHLs que explica as consequências sobre o metabolismo glicêmico é a capacidade de tais dietas induzirem uma diminuição nos transportadores de glicose tipo 4, em especial no músculo esquelético e no próprio tecido adiposo (IKEMOTO et al., 1995). Essa diminuição acarreta menor absorção da glicose para as fibras musculares através da estimulação da insulina, o que tende ao aumento da glicemia sanguínea e desenvolvimento de tolerância à glicose e resistência as ações da insulina (HRIBAL; ORIENTE; ACCILI, 2002). Além disso, com o aumento da disponibilidade lipídica o fígado também passa a liberar mais glicose no plasma, o que contribui para o desenvolvimento da intolerância a esta molécula e manutenção de altos níveis de glicemia (BRØNS et al., 2009; SOLTIS et al., 2017).

Em nosso modelo também, detectamos dislipidemia a partir de 25 dias de DHL, esse aumento de lipídeos plasmáticos está normalmente associado ao aumento da ativação de vias pró-inflamatórias, a partir de maior liberação plasmática de citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6 e adipocinas, como a resistina, que inibem as vias de ação da insulina em uma série de tecidos, como tecido muscular, adiposo e hepático (SAMUEL; PETERSEN; SHULMAN, 2010; SHI et al., 2019). Aos 25 e 35 dias houve aumento significativo na concentração de colesterol total no sangue dos animais. Outros estudos demonstram que camundongos alimentados com dietas ricas em

gordura apresentam aumento de triglicerídeos e colesterol plasmático (EISINGER et al., 2014). Esse aumento refere-se diretamente a maior circulação de lipídeos oriundos da absorção da dieta e distribuição hepática (SOLTIS et al., 2017; VIAL et al., 2011).

Estudos anteriores não são conclusivos acerca dos efeitos da DHL na exploração e locomoção de animais no teste do campo aberto, com evidências tanto para aumento na atividade locomotora, como para diminuição no mesmo tipo de teste (WONG et al., 2015). Neste trabalho não foram identificadas diferenças no primeiro dia de exposição dos animais à arena do experimento. Ainda assim, no terceiro dia de exposição, os animais alimentados com DHL por qualquer período apresentaram locomoção significativamente maior que o grupo que recebeu dieta padrão. Duas explicações para essa alteração comportamental são possíveis: (i) prejuízo na aprendizagem por habituação, hipótese reforçada pelos prejuízos na memória espacial observadas em animais alimentados com DHL (VALLADOLID-ACEBES et al., 2011) e também pelo fato de os animais no primeiro dia não apresentarem diferenças significativas na locomoção em nenhum grupo; (ii) alterações locomotoras, não necessariamente relacionadas à memória, como também apontado por estudos anteriores (GELINEAU et al., 2017). Alterações no próprio metabolismo muscular podem estar envolvidas com estas diferenças, haja vista a influência negativa dos efeitos da dieta sobre a absorção da glicose, o metabolismo energético e mitocôndrias deste tecido (YUZEFOVYCH et al., 2013).

No teste de campo aberto, também se avaliou possíveis efeitos emocionais relacionados ao conflito *exploração x aversão*. No primeiro dia de exposição ao campo

aberto foi observado a uma diminuição significativa no tempo de permanência no centro dos animais alimentados com DHL por 35 dias em relação ao grupo dieta padrão. Este dado sugere um típico efeito ansiogênico por parte da DHL, que é corroborado por diferentes estudos (GAINEY et al., 2016; PINI et al., 2017; ZEMDEGS et al., 2016). Assim, apenas quando submetidos por 35 dias com a dieta os animais apresentam alterações emocionais significativas. Estes dados sugerem que as alterações emocionais sejam as consequências comportamentais mais tardias induzidas pela dieta, entretanto seriam necessários mais testes comportamentais para emocionalidade e ansiedade de forma a confirmar tal inferência. Estudos apontam a inflamação como um ponto chave para os desfechos emocionais da dieta, por exemplo, em trabalho de Noronha e colaboradores, foi demonstrado que alterações emocionais em ratos alimentados com DHL acompanham aumento de TNF α e IL-6 na região da amígdala, núcleo cerebral envolvido diretamente com o comportamento emocional relacionado a ansiedade e ao medo (NORONHA et al., 2019). Uma possibilidade é que o grau de inflamação até 25 dias de DHL não seja o suficiente para desencadear tal alteração em nível do sistema amigdalador e que com 35 dias a resultantes sistêmica chegue a tal patamar.

A memória de reconhecimento de curto prazo também foi afetada nos grupos alimentados com DHL por períodos de 25 e 35 dias, estes animais não aprenderam a tarefa, demonstrando um prejuízo na formação da memória de reconhecimento. Estes dados corroboram dados anteriores da literatura que indicam prejuízo cognitivo em animais que recebem este tipo de (GAINEY et al., 2016; MCLEAN et al., 2018; TRAN; WESTBROOK, 2017; WATSON et al., 2020). Entretanto, não se verificou tal efeito em animais que receberam a dieta por apenas 15 dias, este resultado vai de encontro

com alguns estudos que demonstraram prejuízos de memória em animais alimentados com DHL por menor período (DE PAULA et al., 2021; KHAZEN et al., 2019). Essa discrepância pode ser explicada por metodologias experimentais diferentes, ainda assim, impactos na memória normalmente requerem danos significativos a núcleos cerebrais específicos, neste caso, é plausível inferir que 15 dias de DHL, seja curto período para acarretar prejuízo cognitivo detectável pelo teste de reconhecimento de objetos.

Entretanto, detectou-se prejuízo cognitivo a partir de 25 dias de DHL, persistente com 35 dias. Estes achados vão de encontro com resultados de nosso próprio grupo em trabalho de Braga, 2021, onde só se detectou prejuízo de memória nos animais alimentados por 12 semanas com DHL, ainda assim, as diferenças nas linhagens de camundongos utilizados em cada trabalho podem justificar tal incongruência. De fato, a linhagem C57BL/6 utilizada em nosso trabalho anterior costuma apresentar melhor desempenho nos testes de memória padronizados em nosso laboratório, podendo demonstrar maior resistências aos prejuízos induzidos pela dieta.

De forma interessante, a intolerância a glicose precede os prejuízos na memória de reconhecimento. Esses resultados sugerem que a tolerância glicose surge anteriormente às alterações cognitivas mais relevantes e pode relacionar-se com desbalanços na regulação metabólica e de sinalização da insulina, que também podem impactar diretamente o tecido nervoso e o comportamento (AYUBI; SAFIRI, 2017; MA; WANG; LI, 2015; NEERGAARD et al., 2017). A sinalização da insulina além de regular a glicemia, atua também como mediador químico em diferentes funções no

sistema nervoso, por exemplo, nos neurônios a insulina é importante em diferentes processos de plasticidade sináptica servindo como modulador de receptores e interferindo em processos de neuroplasticidade (LEE et al., 2016).

Elevações do colesterol plasmático em roedores, assim como quadros de hipercolesterolemia em humanos, estão associados a prejuízos cognitivos e alterações emocionais (SCHREURS, 2010). Em modelos animais, a hipercolesterolemia parece relacionada a prejuízos em diferentes testes cognitivos e comportamentais em roedores, além de alterações neuroquímicas como o aumento da atividade da enzima acetilcolinesterase (GHODKE; TOUR; DEVI, 2012; MACHADO et al., 2018; MOREIRA et al., 2014). Tais mecanismos podem se relacionar ao desenvolvimento das alterações emocionais e do prejuízo cognitivo.

Estudos demonstram também que quadros de obesidade induzidos por DHL acarretam diminuição na expressão e concentração de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês *brain derived neurotrophic factor* – BDNF) em sítios cerebrais como hipocampo, hipotálamo e córtex pré-frontal. A diminuição deste fator de crescimento está relacionada tanto a prejuízos cognitivos, assim como em alterações emocionais. Em estudo de 2021, Malheiros e colaboradores demonstraram que dietas hipercalóricas induzem comportamentos tipo depressivo e tipo ansioso em ratos associados a diminuições significativas na expressão de BDNF no hipocampo (MALHEIROS et al., 2021).

Para aprofundar o entendimento das relações entre os efeitos metabólicos e cognitivos da DHL, foram realizadas análises a partir da normalização de escores padrão para as alterações comportamentais e metabólicas observadas. Como

explicado na sessão de métodos, o z-score integra as informações de diferentes variáveis podendo assim ser um valor representativo do impacto total da dieta sobre o comportamento e sobre a cognição, de forma que quanto maior o valor do escore padrão mais significativo é o impacto sobre as duas dimensões analisadas (comportamento e metabolismo). Observou-se que o z-escore comportamental e o z-escore metabólico dos grupos alimentados com DHL encontram-se significativamente elevados em comparação ao grupo DP. Também se verificou que os z-scores comportamentais e metabólicos se correlacionam positivamente, sugerindo que quanto maior o grau do impacto metabólico, maior grau de impacto comportamental (ZEMDEGS et al., 2016).

A função mitocondrial é crítica para a função neuronal e para neuroplasticidade (CHENG; HOU; MATTSON, 2010; KANN; KOVÁCS, 2007). Estudos anteriores sugerem que 8 semanas de DHL é capaz induzir alterações significativas na função mitocondrial cerebral. Mancini e colaboradores demonstraram que este período de dieta diminui o consumo basal de oxigênio de hipocampal, além de afetar negativamente a taxa máxima de consumo de O_2 e a reserva mitocondrial (MANCINI et al., 2021). Tendo em vista tal achado resolvemos investigar se 35 dias de dieta já era o suficiente para acarretar alterações significativas na função mitocondrial cerebral. Neste trabalho, em vez do hipocampo, o córtex pré-frontal dos animais foi verificado, haja vista sua contribuição funcional tanto tarefas de memória, como reconhecimento de objeto, assim como as respostas emocionais relacionadas à ansiedade, ambos alterados após 35 dias de DHL (ADHIKARI, 2014; MORICI; BEKINSCHTEIN; WEISSTAUB, 2015).

Foi observado que 35 dias de DHL induziu um aumento do consumo basal de oxigênio, além de uma diminuição significativa no consumo de O_2 durante a fosforilação oxidativa, tanto a taxa máxima de consumo e a capacidade mitocondrial não foram afetadas. Tais dados indicam que o tecido nervoso dos animais alimentados com DHL apresenta um consumo de oxigênio elevado e parece sugerir prejuízos na eficiência de consumo de O_2 nos processos bioenergéticos com alto consumo basal provavelmente oriundo de consumo por espécies reativas sendo produzidas por vazamento exagerado de elétrons (JASTROCH et al., 2010; ZHAO et al., 2019) e com baixo consumo durante a fosforilação oxidativa, reforçando a ideia de baixa eficiência (CAVALIERE et al., 2019; CRESCENZO et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2011). Como consequência temos aumento do estresse oxidativo e neurotoxicidade, tais repercussões podem estar relacionada as alterações comportamentais e cognitivas observadas (PICARD; MCEWEN, 2014).

2.7. CONCLUSÕES

As conclusões deste trabalho estão apresentadas na figura abaixo (**Fig. 9**). Nossos resultados indicam um possível fluxo temporal das alterações metabólicas e cognitivo-comportamentais observadas em camundongos alimentados com DHL.

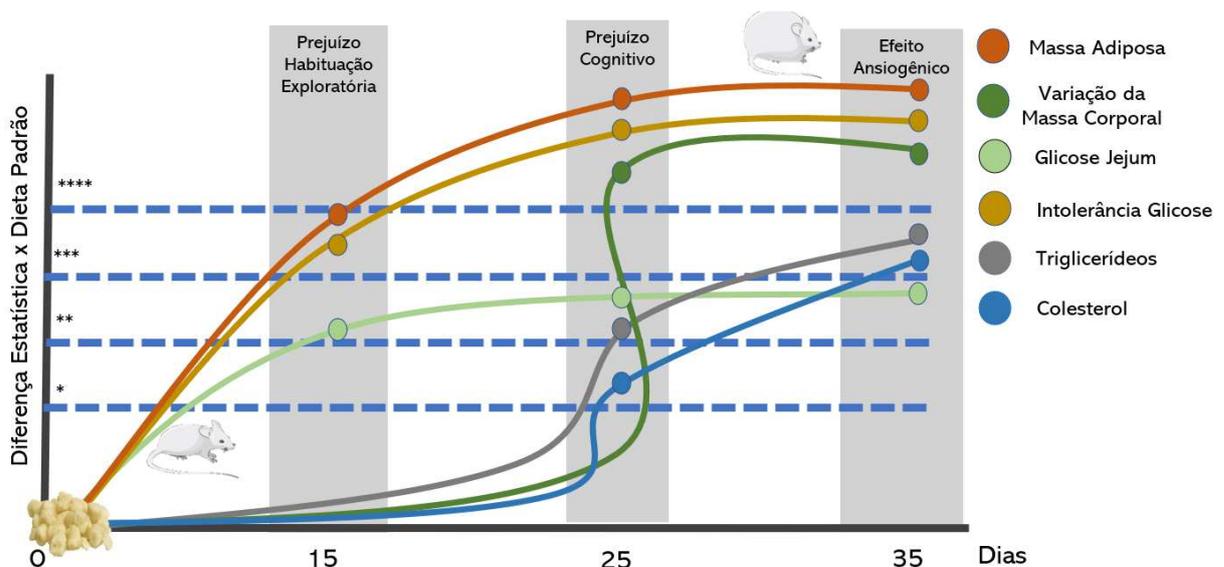


Figura 09. Síntese dos Efeitos dos Diferentes Períodos de DHL.

Neste trabalho, foi possível acompanhar o curso temporal do desenvolvimento de uma série de distúrbios metabólicos e suas relações com prejuízos e alterações comportamentais em camundongos alimentados com DHL. Também se observou relação entre os impactos deste tipo de dieta na homeostase redox e na função mitocondrial do córtex pré-frontal, consequência que ajuda explicar os efeitos comportamentais observados. Futuros estudos devem aprofundar o entendimento de como as alterações metabólicas periféricas são capazes de influenciar no metabolismo mitocondrial cerebral.

3. EFEITO DE FÁRMACOS DA CLASSE ESTATINA NA APRENDIZAGEM E MEMÓRIA EM ROEDORES: UM ESTUDO EXPERIMENTAL E DE REVISÃO SISTEMÁTICA.

3.1. INTRODUÇÃO

3.1.1. Estatinas

Estatinas são medicamentos amplamente utilizados para tratamento da hipercolesterolemia e apresentam grande eficiência na prevenção e diminuição de risco e na mortalidade de doenças cardiovasculares como a aterosclerose, doenças renais, diabetes, dentre outras (ADHYARU; JACOBSON, 2018). Os efeitos das estatinas na disponibilidade lipídica no sangue são drásticos, tratamentos com estes fármacos são capazes de diminuir a concentração plasmática de colesterol LDL, a concentração plasmática de triglicerídeos, além de promover aumento na concentração plasmática de colesterol HDL(EDWARDS; MOORE, 2003). Tais efeitos são extremamente benéficos para atenuar as consequências de diversas patologias e disfunções metabólicas, como, obesidade, dislipidemia, diabetes e hipertensão arterial (ZHOU; LIAO,2020).

As estatinas são fármacos originalmente descobertos e extraídos de fungos e posteriormente desenvolvidas e sintetizadas em laboratório. As moléculas pertencentes a esta classe de fármacos possuem três características químicas específicas: i. estrutura análoga ao HMG-CoA; ii. uma estrutura cíclica que liga a estatina a enzima; iii. Uma cadeia lateral que determina a solubilidade da molécula. Quanto à solubilidade, as estatinas podem ser divididas em dois tipos: lipofílicas (Sinvastatina, Fluvastatina, Lovastatina, Pitavastatina e Atorvastatina) (**Fig. 10A**) e

hidrofílicas (Pravastatina e Rosuvastatina) (**Fig. 10B**) (CLIMENT; BENAIGES; PEDRO-BOTET, 2021). Essas diferenças são importantes no que se refere ao acesso destes fármacos à membrana celular e barreiras teciduais, tais como a barreira hematoencefálica, e pode ter relação com possíveis eventos benéficos ou deletérios destes fármacos sobre o sistema nervoso (CIBI, 2011; WOOD et al., 2010).

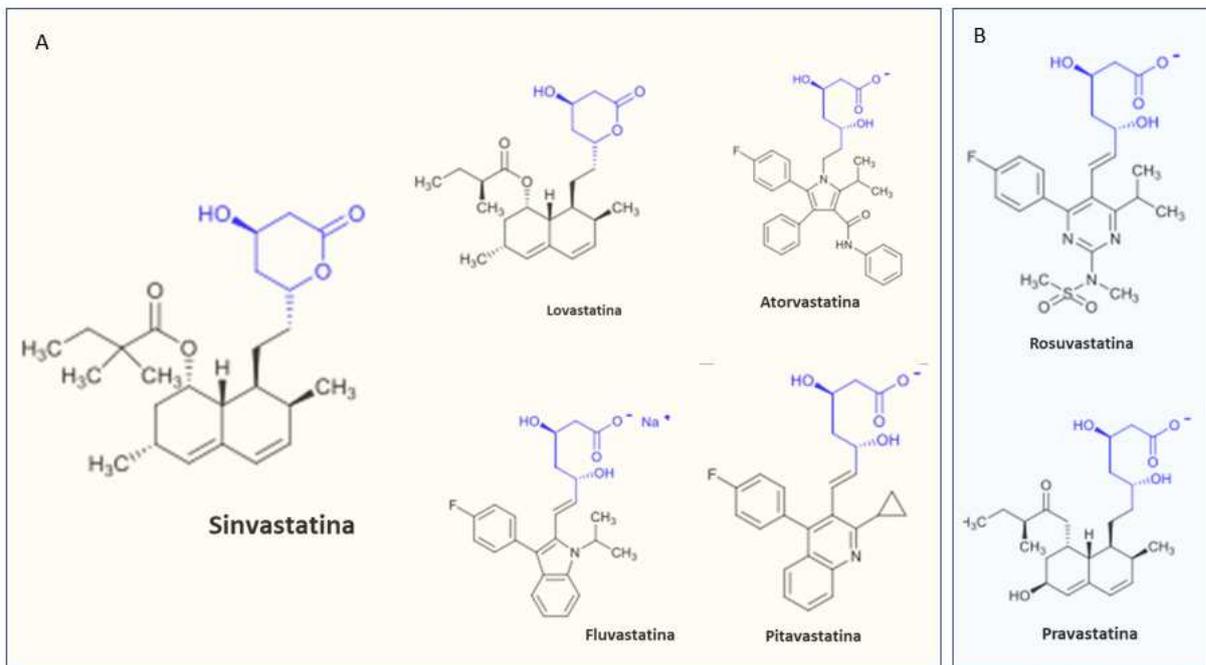


Figura 10. Principais fármacos da classe das estatinas. A. Principais estatinas lipofílicas. **B.** Principais estatinas hidrofílicas. (Produzida pelo autor.)

3.1.2. Mecanismos de Ação das Estatinas

A via do mevalonato é o principal alvo das estatinas. Esta rota bioquímica é produtora de diversas moléculas críticas ao metabolismo em todos os domínios da vida. Em animais, é a via de biossíntese do colesterol e de mais centenas de compostos. A enzima HMG-CoA redutase (HMGCR) realiza a catalisação da reação de redução de uma molécula de HMG-CoA à mevalonato. Este evento é fase limitante

da via e sua inibição, por meio das estatinas, leva a uma diminuição global dos produtos derivados dela. Assim, pode-se concluir que a atividade da enzima reflete a atividade da via do mevalonato e, que ao ter sua atividade inibida, ocasiona uma diminuição de atividade da via (LENNERNAS; FAGER, 1997).

A via inicia-se com a ligação de uma acetoacetil-CoA a uma acetil-CoA formando, através da reação da HMG-CoA sintase, uma molécula de HMG-CoA. Através da atividade da enzima HMGCR, o HMG-CoA é reduzido a mevalonato. Seguindo a via, o mevalonato é convertido a pirofosfato de isopentelino (PI). O PI pode ser convertido a pirofosfato de geranilo (PG), posteriormente em pirofosfato de farnesilo (PF) e finalmente pirofosfato de Geranilogeranilo (GG). Dentro da via do mevalonato, o PF é convertido em esqualeno que após várias reações de ciclização e isomeração dará origem ao colesterol. Necessário ressaltar que existem várias ramificações desta via, sendo responsável por vários subprodutos metabólicos e que a concentração celular de acetil-CoA e colesterol são os principais fatores reguladores desta via (**Fig. 11**) (GOLDSTEIN; BROWN, 1990; MOUTINHO; NUNES; RODRIGUES, 2017).

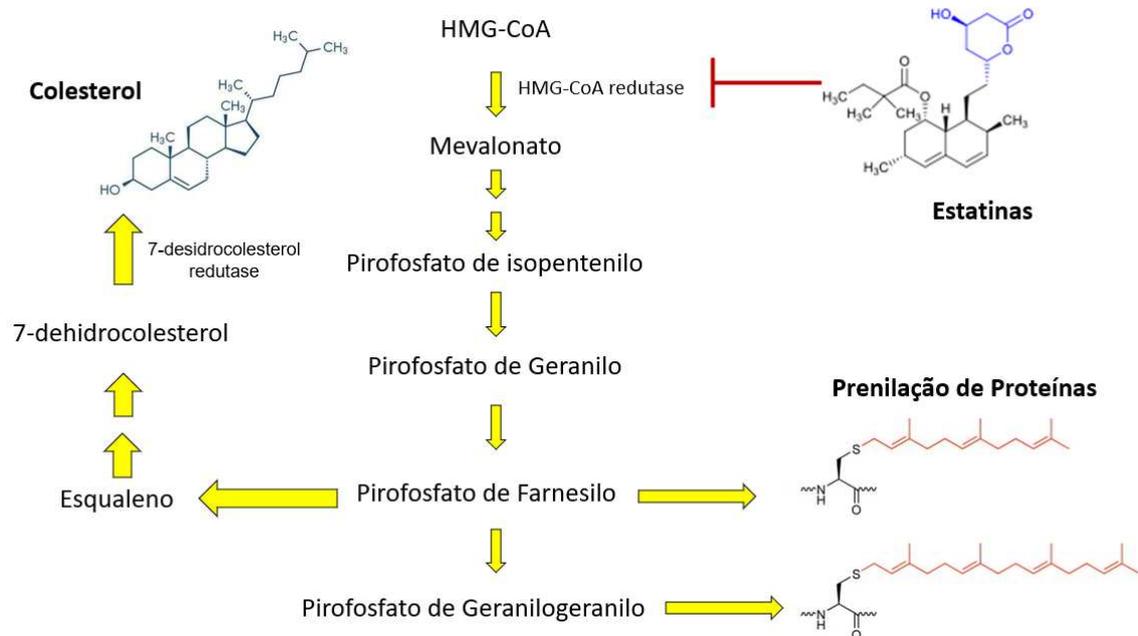


Figura 11. Principais fases da via do mevalonato com indicação do efeito das estatinas. (Produzida pelo autor.)

A inibição da produção endógena de colesterol, que as estatinas induzem, exerce efeitos na concentração de lipoproteínas no sangue. Nos hepatócitos, por exemplo, com a diminuição da produção endógena de colesterol ocorre aumento da expressão de receptores para lipoproteínas de baixa densidade (do inglês *low density lipoprotein* – LDL), mecanismo que induz diminuição nas lipoproteínas sanguíneas do tipo LDL e lipoproteínas de muito baixa densidade (do inglês *very low density lipoprotein* – vLDL), vLDL. Outro mecanismo de diminuição na circulação lipídica ocorre por diminuição na produção da Apolipoproteína B-100 (APOB-100), o que acarreta diretamente em uma diminuição na liberação de circulação de lipoproteínas contendo triglicerídeos (STANCU; SIMA, 2001).

Além disso, muitos estudos apontam efeitos secundários importantes do tratamento com estatinas através mecanismos pleiotrópicos, que atuam por pelo menos 3 mecanismos: (i) regulando a expressão a atividade de enzimas e proteínas importantes para vias anti-inflamatórias e antioxidantes, (ii) induzindo imunomodulação na liberação de citocinas, favorecendo as citocinas anti-inflamatórias e diminuindo citocinas pró-inflamatórias; e (iii) efeito antitrombótico e de proteção vascular (LIAO; LAUFS, 2009; ZHOU; LIAO, [s.d.]).

3.1.3. Memória

Para compreensão de como as estatinas podem impactar os processos mnemônicos, primeiro é preciso discutir e definir bem alguns conceitos. Memória é a função cognitiva pela qual os animais adquirem, armazenam e evocam informações provenientes de seu ambiente interno e externo. Tais informações tornam possível alterações na probabilidade de diferentes comportamentos no futuro. Ressalta-se que o termo memória não se refere a uma entidade unitária, mas sim a um conjunto de diferentes sistemas variando quanto sua dinâmica informacional, temporal e em sua natureza de aprendizagem (KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014). Podem-se classificar diferentes sistemas de memória quanto a sua duração (memórias de curto prazo vs. memórias de longo prazo), natureza (associativa vs. não associativa), evocação (declarativa vs. não declarativa) e conteúdo (espacial, aversiva, reconhecimento etc.). Para avaliação destes diferentes tipos de memória, uma vasta gama de tarefas de aprendizagem e testes de memória são utilizados.

A hipótese neurobiológica mais aceita para o armazenamento de novas memórias em diferentes organismos é a remodelação de conexões entre diferentes

vias neuronais no sistema nervoso, fenômeno que é parte da plasticidade neural. Assim, estímulos apresentados em um intervalo de tempo e condições adequadas, podem reforçar conexões entre neurônios responsáveis por seu processamento e estruturar uma rede neuronal correlata àquela experiência. Os processos envolvidos com a formação desta rede neuronal são eventos de facilitação, potenciação e depressão na transmissão sináptica e são mediados principalmente pela atividade do sistema glutamatérgico (HELL, 2016; VORHEES; WILLIAMS, 2006). A população neuronal que sofre remodelação durante a experiência de aprendizagem, forma um traço físico da memória no sistema nervoso do animal – o engrama (POO et al., 2016).

A fase inicial de formação de memórias é a fase de aquisição. É nesta etapa que a partir de estímulos internos e do ambiente, alterações na transmissão sináptica no sistema nervoso são eliciadas. No caso de memórias associativas, é durante a fase de aquisição em que ocorre o pareamento entre diferentes estímulos, o que reforça conexões entre neurônios do sistema nervoso central associado ao seu processamento (TYLER et al., 2002). Em testes comportamentais, com roedores, esta fase ocorre durante o momento de treino do animal em uma determinada tarefa, o que pode necessitar de uma ou mais sessões de repetição. Depois de adquirida, uma memória pode ser mantida por curto prazo (por segundos a horas) ou por longo prazo (de horas a vida inteira do organismo). A formação e a manutenção de memórias estarão diretamente relacionadas à experiência de aquisição da informação. Além disso, a formação destes tipos de memória também difere em seus mecanismos fisiológicos (BARROS, 1999).

Memórias de curto prazo são adquiridas por meio da facilitação na transmissão sináptica pela atividade de segundos mensageiros e da fosforilação e remodelação de canais na membrana de diferentes sistemas neurotransmissores. Por outro lado, memórias de longo prazo, além de acarretar tais diferenças na intensidade da transmissão, também ocasionam síntese de novas proteínas de membrana e sinalização, que proporcionam a manutenção do engrama formado. Este período de síntese de novas proteínas é chamado consolidação e a janela temporal deste fenômeno varia conforme a espécie e teste comportamental utilizado (6-12 horas) (ALBERINI, 2005; IZQUIERDO; MEDINA, 1997; TYLER et al., 2002)

Durante a consolidação, a memória de longo prazo encontra-se em estado lábil e suscetível a interferências comportamentais e farmacológicas. A inibição do sistema glutamatérgico, por meio de antagonistas dos receptores do tipo N-metil D-Aspartato (NMDA) (e.g., MK801), e a inibição da síntese de novas proteínas, por meio de fármacos como a cicloheximida e anisomicina, acarreta amnésia retrógrada quando aplicada nesta janela temporal em diferentes espécies. Entretanto, após consolidada, a nova memória torna-se resistente a interferências e pode, durante a evocação, ser recrutada. A evocação de uma memória é a única forma de confirmar sua formação. Em testes com roedores, tal evento acontece com a reexposição do animal em uma sessão de teste a um dos estímulos que originou o traço da memória durante a sessão de treino (IZQUIERDO et al., 2006; IZQUIERDO; FURINI; MYSKIW, 2016)

3.1.4. Plasticidade e Memória

O hipocampo é uma das regiões do encéfalo críticas para a formação de novas memórias. Sua circuitaria neuronal é um dos principais sítios de plasticidade sináptica

no encéfalo de roedores (ANAGNOSTARAS; GALE; FANSELOW, 2001; BLISS; COLLINGRIDGE, 1993; LEUNER BENEDETTA; FALDUTO JACQUELINE; SHORS TRACEY J., 2003; PHILLIPS; LEDOUX, 1992). Diferentes mecanismos moleculares nesta região estão envolvidos nas fases da memória. Sendo assim, manipulações farmacológicas que interfiram na homeostase hipocampal podem impactar nos mecanismos moleculares relacionados à formação de novas memórias. Processos neuronais específicos parecem atuar na formação e ativação do engrama durante a aquisição, consolidação e evocação de uma determinada memória (ALBERINI, 2005; IZQUIERDO et al., 2006; TYLER et al., 2002).

A ativação do sistema glutamatérgico, principalmente mediada pelos receptores do tipo α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA), e mesmo o tráfego entre as subunidades deste receptor na membrana, são mecanismos moleculares presentes no hipocampo de roedores durante a evocação de memórias (HENLEY; WILKINSON, 2013). Intervenções farmacológicas na atividade de diferentes neurotransmissores desta estrutura acarretam alterações nos processos relacionados à formação e evocação de memórias de curto e longo prazo, assim como nas fases de consolidação e reconsolidação de memórias de longo prazo (ALBERINI, 2005; IZQUIERDO; FURINI; MYSKIW, 2016; IZQUIERDO; MEDINA, 1997; TRONSON; TAYLOR, 2007).

Os eventos moleculares observados no hipocampo de roedores durante as etapas do fenômeno mnemônico são similares aos evidenciados em paradigmas experimentais de potenciação de longo prazo (do inglês *long term potentiation* – LTP) (POO et al., 2016). Tal evento é considerado o correlato fisiológico da formação de

novas memórias em variadas regiões do encéfalo, e.g., de mamíferos. De um modo geral, as alterações sinápticas envolvidas na LTP são principalmente mediadas pelo influxo do íon cálcio (Ca^{2+}) no botão pós-sináptico, por meio da abertura dos canais dos receptores AMPA e NMDA ativados após a liberação do glutamato pré-sináptico. O Ca^{2+} ativará vias de fosforilação que alteram a condutância dos canais AMPA na membrana modificando o peso de suas sinapses (ECCLES, 1983).

Os mecanismos de plasticidade associados aos processos mnemônicos envolvem complexas mudanças estruturais na membrana dos neurônios envolvidos na formação do traço da memória (MARTIN; GRIMWOOD; MORRIS, 2000). Estes processos requerem reorganização das macromoléculas proteicas que formam o citoesqueleto neuronal, assim como a composição lipoproteica de membrana (HERING; LIN; SHENG, 2003; SCHWECHTER; TOLIAS, 2013). A formação de novos espinhos dendríticos no hipocampo está relacionada com a formação de novas memórias (ENGERT; BONHOEFFER, 1999; LEUNER BENEDETTA; FALDUTO JACQUELINE; SHORS TRACEY J., 2003). E a perda de espinhos hipocampais devido a diferentes estímulos estressores acarreta prejuízos na memória (CHEN et al., 2010). Essa relação entre a formação de espinhos e memória fica clara observando-se que eventos de LTP promovem a formação de sinapses em espinhos dendríticos (TONI et al., 1999). De fato, mesmo alterações morfológicas nos espinhos são observadas durante a LTP na região CA1 do hipocampo de roedores (ENGERT; BONHOEFFER, 1999). A família Ras de GTPases parece ser crítica nestes eventos envolvendo a formação, eliminação e estabilidade dos espinhos dendríticos hipocampais (TADA; SHENG, 2006).

3.1.5. Estatinas e Memória

Apesar de seu total sucesso no tratamento da hipercolesterolemia e prevenção de uma série de doenças, alguns estudos de caso e estudos clínicos parecem apontar para um possível efeito deletério das estatinas sobre a cognição, em especial nos processos de aprendizagem e memória. Em uma análise com mais de 60 estudos de caso, uma revisão de 2003 revelou que mais que 50% dos pacientes tratados com estatinas apresentaram efeitos colaterais negativos sobre a cognição, em especial perda de memória, sendo que tais efeitos foram revertidos com a interrupção do tratamento(WAGSTAFF et al., 2003). Outro estudo, de 2015, demonstrou efeito agudo negativo das estatinas sobre a memória ao revisar os dados de pacientes tratados com esta classe de fármacos(STROM et al., 2015b). Além disso, diferentes evidências relacionam o uso de estatinas com maior risco para o desenvolvimento de demências, incluindo a doença de Alzheimer(CHU et al., 2018; GREEN et al., 2006; JEONG et al., 2021b). Por outro lado, revisões sistemáticas e meta-analíticas dos casos, e estudos clínicos, não apontam para efeitos deletérios significativos das estatinas sobre a cognição. Inclusive alguns estudos apontam para efeitos benéficos sobre memória e mesmo proteção contra declínio cognitivo e demência (MCGUINNESS et al., 2016; POLY et al., 2020; SCHULTZ; PATTEN; BERLAU, 2018).

Os estudos com roedores também parecem inconclusivos. Alguns apontam para efeitos benéficos das estatinas para a aprendizagem e memória, em especial os estudos que avaliam o tratamento de estatinas em diferentes insultos e modelos patológicos do sistema nervoso. Entretanto alguns estudos não observaram tal efeito ou, ainda, parte da literatura sugere que estatinas são capazes também de prejudicar

diferentes tipos de memória em roedores. Assim, não está claro como, e se, as estatinas interferem no processamento da memória.

Se por um lado o tratamento com estatinas poderia interferir positivamente nos processos de memória através de seus efeitos benéficos na circulação lipídica e por seus efeitos pleiotrópicos anti-inflamatórios, antioxidantes e na plasticidade sináptica, por outro, a inibição da via do mevalonato nas células neuronais poderia acarretar menor produção de colesterol e outros derivados da via. No SNC, tanto neurônios como astrócitos sintetizam compostos através da via do mevalonato. Entretanto, a síntese de colesterol oriunda desta rota bioquímica é menor nos neurônios do que nestas células gliais (MOUTINHO; NUNES; RODRIGUES, 2017). Em um estudo de Korade e colaboradores, a equipe demonstrou que neurônios do encéfalo de camundongos adultos possuem a enzima HMGCR e a enzima 7-desidroxicolesterol redutase (7DHCR), primeira e última enzimas, respectivamente, da via do MEVALONATO. Interessantemente, as regiões que contam com maior expressão de tais enzimas foram as regiões corticais, em especial, o hipocampo (KORADE et al., 2007; KORADE; KENWORTHY; MIRNICS, 2009)

Entretanto, ainda que em baixa quantidade, o colesterol produzido pela via do mevalonato nos neurônios também é importante para processos de plasticidade. Este lipídeo pode alterar importantes propriedades de membrana, como a fluidez, compressibilidade e espessura, além disso, é essencial para a homeostase bem como para arranjo de proteínas através da membrana plasmática (POO et al., 2016). O colesterol e outros lipídeos (esfingolipídios) também são importantes na formação de microdomínios na membrana neuronal, conhecidos como as balsas lipídicas, que são

associadas às proteínas, tais como a proteína de densidade pós-sináptica 95 (PSD-95) e parecem estar envolvidos em diferentes processos de sinalização celular e plasticidade, através da organização espacial e tráfego de proteínas e de receptores (BORRONI; VALLS; BARRANTES, 2016; HERING; LIN; SHENG, 2003).

Vale ressaltar que mesmo na presença de colesterol proveniente de outras fontes, culturas neuronais parecem realizar transcrição de novas proteínas da via do mevalonato ao terem a atividade da 7DHCR inibida, o que sugere que mesmo com uma demanda exógena de colesterol (oriunda dos astrócitos, por exemplo) células neuronais realizam a síntese de outros compostos a partir desta via (KORADE et al., 2007; KORADE; KENWORTHY; MIRNICS, 2009). Embora a baixa taxa de síntese de colesterol por esta via nas células neuronais, a síntese deste lipídeo e de outros compostos como FG e PG são críticas na homeostase deste tipo celular, contribuindo com sua sobrevivência e em mecanismos moleculares referentes à sua função incluindo os de plasticidade sináptica relacionados aos processos de memória (MOUTINHO; NUNES; RODRIGUES, 2017).

3.2. HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA

Tendo em vista os possíveis efeitos cognitivos das estatinas e a importância da via do mevalonato na síntese de diversos componentes moleculares necessários à homeostase do sistema nervoso, assim como o envolvimento dos seus diferentes produtos nos eventos de plasticidade sináptica, nossa hipótese é que a inibição desta rota metabólica, por meio das estatinas, pode acarretar prejuízos nos mecanismos fisiológicos correlatos à formação e manutenção de novas memórias interferindo negativamente no processamento mnemônico, porém de forma transitória e passível de adaptação. Por outro lado, os efeitos pleiotrópicos das estatinas como os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes poderiam atuar de forma benéfica atenuando ou revertendo prejuízos cognitivos associados a danos e insultos ao tecido nervoso. Como a literatura da área permanece inconclusiva é necessária uma investigação profunda de tais relações.

3.3. OBJETIVOS

3.3.1. Objetivo geral

Investigar os efeitos das estatinas na aprendizagem e memória de roedores através de abordagem experimental e de revisão sistemática da literatura.

3.3.2. Objetivos específicos

3.3.2.1. Objetivo Específico 01

Investigar o efeito da administração intraperitoneal de sinvastatina na aquisição e consolidação de uma memória de medo contextual e espacial de curto e longo prazo em camundongos *Swiss*.

3.3.2.2. Objetivo Específico 01

Realizar revisão sistemática da literatura científica sobre os efeitos das estatinas em diferentes sistemas de memórias em roedores, analisando, especificamente:

- a. Estatinas utilizadas.
- b. Modelos utilizados.
- c. Efeitos das estatinas nos modelos utilizados.
- d. Efeitos das estatinas per se.
- e. Possíveis Mecanismos.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1. Estudo Experimental

3.4.1.1. Animais

Foram utilizados camundongos machos *Swiss* com aproximadamente 3 meses de idade. Os animais foram mantidos em caixas plásticas com no máximo 5 animais, alocadas em estante isoladora com temperatura média de 23°C. Os animais tiveram livre acesso à comida e água nas gaiolas de moradia. O ciclo de luminosidade foi de 12 h claro e 12 h escuro (06:00-18:00).

3.4.1.2. Ética

Este projeto foi previamente aprovado junto à CEUA da UFSC e seguiu à risca a regulamentação legal e ética para uso de animais em pesquisa. Todos os procedimentos foram planejados de forma a causar o menor estresse possível nos animais.

3.4.1.3. Drogas

Todas as drogas foram diluídas em solventes adequados como descrito abaixo. Nas injeções intraperitoneais foram utilizadas seringas de 1 ml e a solução ajustada para 10 ml/kg.

Sinvastatina - A Sinvastatina é um fármaco da classe das estatinas amplamente utilizado nos quadros de hipercolesterolemia. Foi escolhida principalmente por seu alto poder de penetração na barreira hematoencefálica (SHAH; SWIGER; MARTIN, 2015). Esta estatina também se demonstrou uma das mais eficazes na inibição da

HMGCR no tecido neuronal, tendo sido uma das mais eficientes na redução dos níveis de colesterol em neurônios que outras estatinas. Em análise *in vitro* a sinvastatina demonstrou alto poder de inibição da enzima HMGCR em células, hepáticas, neuronais e gliais (RAMIREZ et al., 2011). A diluição da Sinvastatina foi realizada em salina + *tween* 80%.

MK 801 - Antagonista não competitivo dos receptores NMDA, utilizado como controle positivo dos testes de memória, uma vez que a dose de 0,05 mg/kg promove efeitos amnésicos em diferentes paradigmas experimentais de aprendizagem e memória em roedores (CESTARI; CASTELLANO, 1997; SHAPIRO; CARAMANOS, 1990; VAN DER STAAY et al., 2011). A diluição do MK-801 foi realizada em dimetilsulfóxido 5%.

3.4.1.4. Esquiva Inibitória

O teste de esquiva inibitória é utilizado para avaliação da memória de medo, através deste paradigma é possível se avaliar como diferentes fatores alteram fases da memória como aquisição e consolidação. Nosso protocolo consiste em uma sessão de treino na qual o animal é colocado em uma plataforma no centro do aparato, assim que o animal desce da plataforma recebe um choque nas patas, foram utilizadas duas intensidades 0.2 e 0.4 mA. Após o choque os animais são retirados do aparato. Na sessão de treino o animal é recolocado na plataforma e sua latência para descida cronometrada. Duas sessões de teste foram realizadas uma para avaliação da memória de medo de curto prazo 1,5 e outra 24 horas para avaliação da memória de medo de longo prazo. (ANAGNOSTARAS; GALE; FANSELOW, 2001; IZQUIERDO; MEDINA, 1997)

3.4.1.5. Desenho Experimental

Dois experimentos foram realizados neste estudo:

No experimento 01 (**Fig.11A**) foi realizada a padronização do teste de esquiva inibitória. Neste experimento os animais foram divididos em 3 grupos. O grupo VEI-0.2 mA e o grupo VEI-0.4 mA, os quais foram tratados com DMSO 5% 20 minutos antes da sessão de treino e receberam choques de diferentes intensidade (0.2 e 0.4 mA) durante a sessão de treino e um grupo MK-801 0,05 mg/kg-0.4 MA que foi tratado com MK-801 na dose de 0,05 mg/kg 20 minutos antes da sessão de treino e que recebeu choque de 0.4 mA.

No experimento 02 (**Fig. 11B**) os animais foram divididos em 4 grupos: VEI que foram tratados com salina + tween 80%, SIN 1 mg/kg, que receberam sinvastatina na dose de 1 mg/kg, SIN 10 mg/kg que receberam sinvastatina na dose de 10 mg/kg e SIN 50 mg/kg que receberam 50 mg/kg, todos os grupos receberam seus respectivos tratamentos via intraperitoneal 20 minutos antes da sessão de treino e que o choque aplicado foi na intensidade de 0.2 mA.

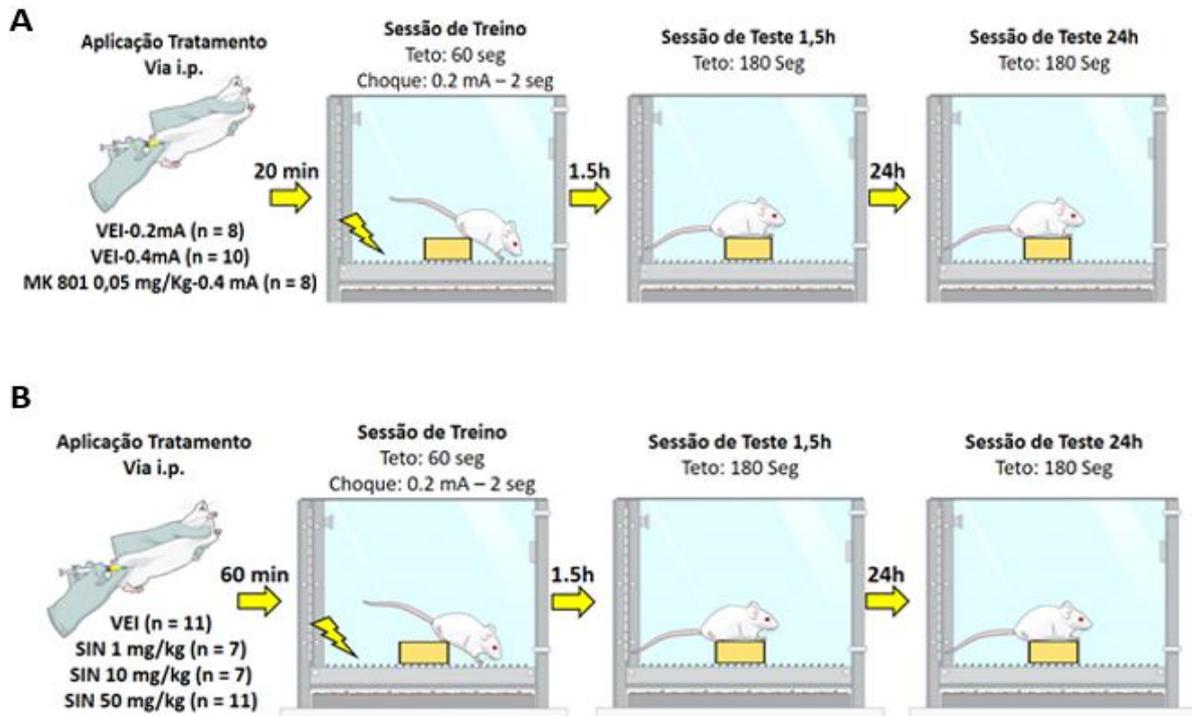


Figura 11. A. Desenho experimental da padronização da tarefa de esquiva inibitória.

B. Desenho do experimento para avaliação do efeito agudo de diferentes doses de sinvastatina na formação da memória na tarefa de esquiva inibitória.

3.4.1.6. Estatística

Na avaliação dos resultados foi utilizado o teste de análise de variância para dados não-paramétricos Kruskal-Wallis e o post-hoc utilizado foi o teste Mann-Whitney U. Os dados foram representado em valores de mediana e intervalo interquartil. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3.4.2. Revisão Sistemática

3.4.2.1. Estratégia de busca e Base de Dados

As buscas na literatura científica foram realizadas nas base de dados PubMed e Web of Science em 21 de dezembro de 2021 e atualizada em agosto de 2022. A busca foi realizada utilizando as seguintes palavras-chave e condicionais (*statin OR statins OR atorvastatin OR simvastatin OR pravastatin OR rosuvastatin OR fluvastatin*) AND (*Learning OR Memory*). Antes das etapas de seleção, os artigos de ambas as bases de dados foram analisados para verificar e remover duplicatas. Na primeira etapa de seleção os artigos foram avaliados por seus títulos e resumos por dois pesquisadores independentes (AM e GM) em caso de desacordo um terceiro (EM) foi consultado. Nesta fase foram selecionados por conterem os termos “*statin*” associado aos termos “*Learning*” ou “*Memory*” independentemente do tipo de estudo. Na segunda etapa os artigos foram selecionados a partir de uma análise mais minuciosa e considerando os critérios de inclusão descritos a seguir. O processo de seleção e triagem foi baseado no PRISMA statement.

3.4.2.2. Participantes, Intervenções e Comparadores

Para ser incluído na revisão os estudos deveriam estar de acordo com os seguintes critérios: (1) estudo experimental realizado com roedores; (2) tratamentos com estatinas, associado ou não a outra intervenção; (3) experimentos de aprendizagem e memória com pelo menos um grupo que tenha recebido estatina associada ou não a outra intervenção; (4) Artigos Experimentais; (5) Artigos em inglês, português ou espanhol. Não houve limitações quanto ao tipo de intervenção, ao tipo de estatina, ao tipo de experimento de aprendizagem ou memória e à espécie de

roedor utilizada no trabalho. Artigos pertinentes ao tópico, mas que não se enquadravam nos critérios, também foram incluídos nas discussões e reflexões desta revisão conforme sua relevância.

3.4.2.3. Extração e Análise dos Dados

Os resultados das buscas foram selecionados a partir do uso de planilhas no *Planilhas Google*. Após a etapa de seleção os dados e resultados dos artigos inclusos foram organizados em uma planilha com as seguintes colunas: *Espécie, Estatinas, Dose, Tempo de Tratamento, Modelo Utilizado no Estudo, Testes de Memória, Efeito da Estatina no Modelo, Efeito da Estatina per se e Mecanismo*. Desta tabela geral derivaram as duas tabelas deste capítulo.

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO EXPERIMENTAIS

3.5.1. Experimento 01. Padronização Esquiva Inibitória: Efeito de duas intensidades de choque (0.2 e 0.4 mA) e da droga amnésica MK-801, na dose de 0,05 mg/kg, na aquisição da memória.

O tratamento com MK-801, 20 minutos antes da sessão de treino, reduziu significativamente o tempo de latência no teste de esquiva inibitória tanto na sessão de teste 1,5 horas após treino (Kruskal-Wallis, $H(2, N = 7-8) = 12.78225$ $p < 0,0005$), assim como na sessão de teste 24 horas após o treino (Kruskal-Wallis, $H(2, N = 7-8) = 10.23879$, $p < 0,005$). O post-hoc demonstrou diferença significativa nas duas sessões de teste em relação aos grupos VEI -0.2 mA e VEI - 0.4 mA (teste Mann-Whitney U, $p < 0,05$). O post-hoc não detectou diferenças significativas na latência em relação a intensidade do choque ($p > 0,05$)(**Fig. 9**).

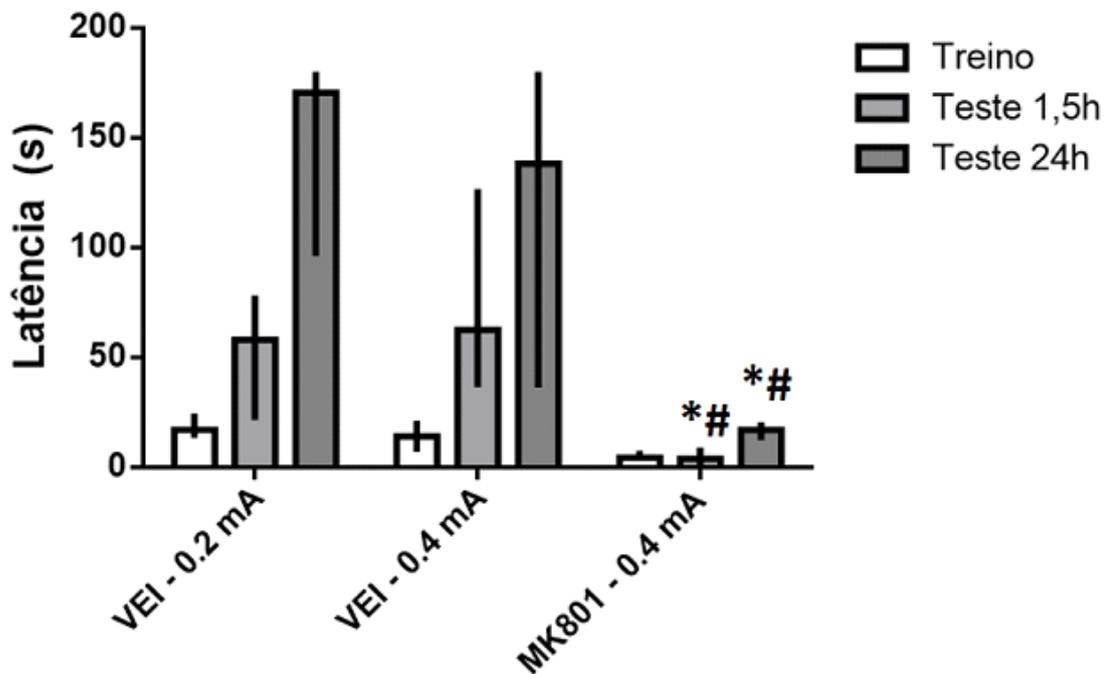


Figura 9. Experimento de Padronização da Esquiva Inibitória. O grupo MK-801, conhecido indutor amnésico neste teste, provocou prejuízo na formação e consolidação da memória para o choque de 0.4 mA ($p < 0,005$, * comparação VEI 0.2 mA e # comparação com VEI 0.4 mA). Dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil.

3.5.2. Experimento 02 - Efeito da Sinvastatina na fase de aquisição da memória do teste de esquiva inibitória.

O teste revelou efeito do tratamento para o teste de memória de longo prazo (Kruskal-Wallis, $H(3, N=7-8) = 8.709915$ $p < 0,05$), porém sem diferenças no teste de múltiplas comparações da média dos postos. O grupo SIN 50 mg/kg apresentou significativamente menor maior latência quando comparado com o grupo VEI mg/kg (teste Mann-Whitney U, $p < 0,05$). Não houve diferença significativa para as outras doses em relação ao grupo VEI (teste Mann-Whitney U, $p > 0,05$)(Fig. 10).

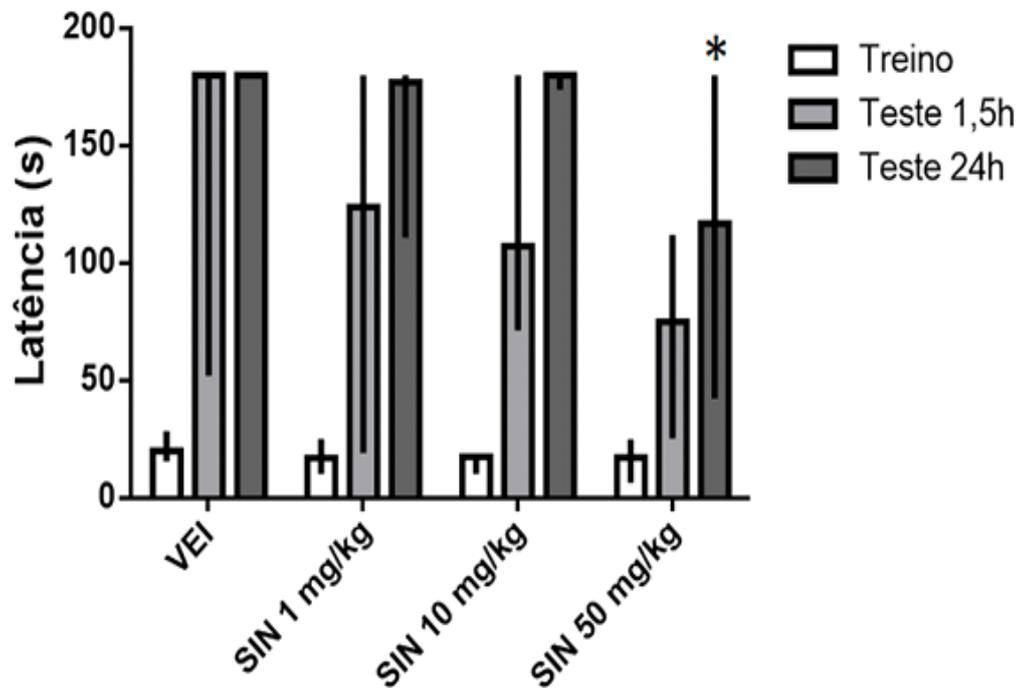


Figura 10. Avaliação do Efeito da Sinvastatina na Memória de Medo de Curto e Longo prazo. O grupo SIN 50 mg/kg apresentou menores valores de latência no teste 24 horas após o treino ($p < 0,05$, * em comparação ao grupo VEI), sugerindo um prejuízo na consolidação da memória. Dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil.

3.5.3. Discussão dos Resultados Experimentais

Os resultados experimentais sugerem um efeito negativo dose dependente do tratamento agudo com sinvastatina aquisição da memória de medo. Nota-se que apenas a dose mais alta, de 50 mg/kg, apresentou efeitos prejudiciais sobre a formação da memória. Assim, as doses de 1 e 10 mg/kg não parecem induzir qualquer alteração no processo de formação da memória de medo quando administradas de forma aguda antes do treino. Os efeitos amnésicos só são observados na memória de

longo prazo, sugerindo alteração na fase de consolidação da memória e não na sua aquisição, o que é reforçado pela integridade na evocação da memória de curto prazo.

Podem-se inferir alguns mecanismos relacionados aos efeitos de memória observados. A inibição da via do mevalonato nas células neuronais de forma aguda e abrupta através da sinvastatina, poderia acarretar alteração momentânea da síntese de colesterol e demais derivados da via importantes para eventos celulares necessários a consolidação da memória(GOLDSTEIN; BROWN, 1990; MOUTINHO; NUNES; RODRIGUES, 2017). Neste sentido seria necessária biodisponibilidade do fármaco em nível de sistema nervoso para que tais efeitos neuronais pudessem ser exercidos. Haja vista que embora permeie a barreira hematoencefálica, a permeabilidade é limitada (cerca de 25%), assim a quantidade de fármaco necessária disponível no plasma para uma ação sobre o sistema nervoso central deve ser alta, o que justificaria o efeito observável apenas na dose mais alta.

A alteração na síntese do colesterol altera a disponibilidade deste lipídeo na membrana neuronal, fator que regula a atividade de receptores e proteínas pós-sináptica envolvidas em processos de plasticidade(CIBI, 2011; KORADE; KENWORTHY; MIRNICS, 2009; PFRIEGER; UNGERER, 2011). Além do colesterol, outros produtos da via do mevalonato como o GP e FP são importantes para prenilação de proteínas, processo também relacionado aos mecanismos de plasticidade envolvidos com a consolidação da memória(LI et al., 2012b; SEGATTO et al., 2014; ZHANG; CASEY, 1996). Tais alterações se dão de forma sutil e modulatória sobre os processos de plasticidade mais tardios, o que justifica não ser

observados efeitos sobre a memória de curto prazo e o efeito amnésico não ser de intensidade similar à do MK-801 para memória de longo prazo.

Outros estudos apontam possíveis prejuízos na memória de roedores associados ao tratamento com estatinas. Parte destes estudos sugerem que baixas doses de estatinas já são capazes de induzir prejuízos de memória(MAGGO; ASHTON, 2014), enquanto outro trabalho sugere efeito dose-específico vendo prejuízos na dose de 10 mg/kg mas não na dose de 30 mg/kg(BAYTAN et al., 2008). Todavia, Okudam e colaboradores (2020) corroboram nosso achado de que doses mais altas induzem prejuízos mnemônicos(OKUDAN; BELVIRANLI, 2020). Mesmo assim, parte da literatura sugere ausência de efeito ou mesmo efeitos positivos destes fármacos sobre a memória (MAGGO; CLARK; ASHTON, 2012; SEGATTO et al., 2014). Essa variedade de resultados sugere um possível efeito complexo das estatinas sobre a cognição. Para aprofundar tal questão a próxima etapa deste estudo é uma revisão sistemática da literatura de forma a compreender o cenário complexo dos efeitos das estatinas sobre a aprendizagem e memória.

3.6. RESULTADOS E DISCUSSÃO DA REVISÃO SISTEMÁTICA

3.6.1. Fluxograma do Prisma

A figura abaixo (**Fig.12**) representa o fluxograma sugerido pelas orientações do *PRISMA statement* para revisões sistemáticas e meta-análise.

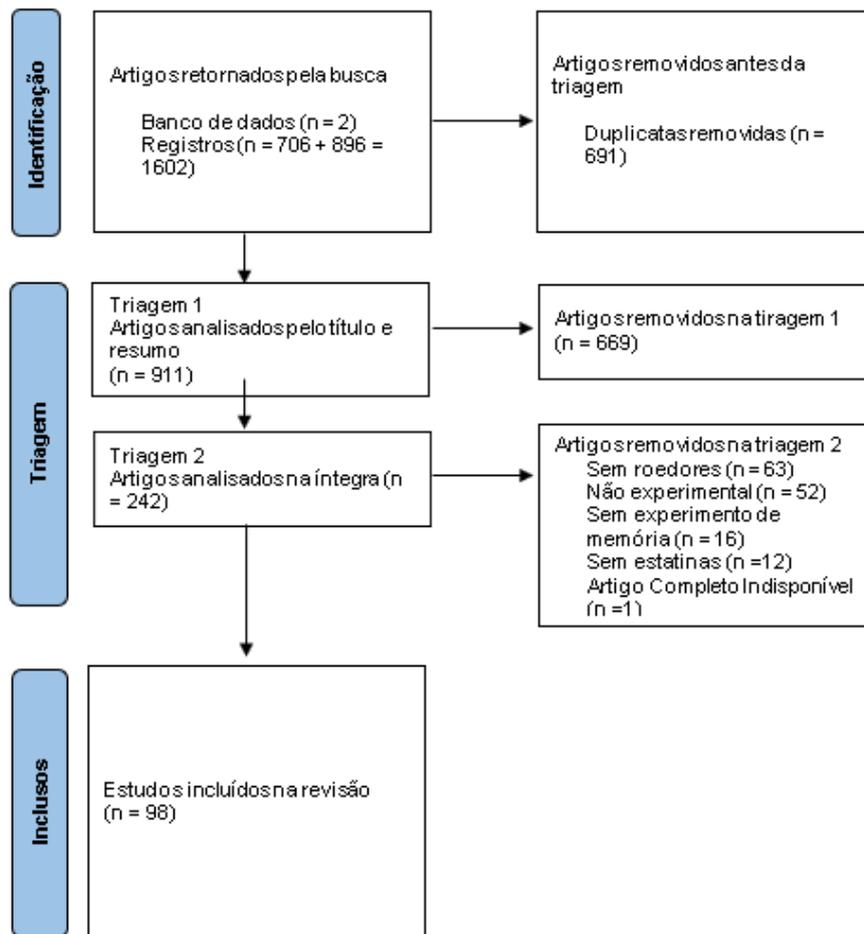


Figura 12. Fluxograma da triagem e seleção da revisão baseado no *PRISMA Statement*.

Na primeira busca na base de dados *PubMed* foram retornados 706 artigos e na base de dados *Web of Science* retornaram 896 registros. A primeira seleção se dá por meio de análise das duplicatas, nesta etapa foram excluídos 691 artigos repetidos, ou seja, que retornaram na busca de ambas as bases. Os 911 artigos resultantes da remoção de duplicatas passaram pela triagem 01, na qual foram analisados a partir de seus títulos e resumos quanto à relevância para revisão. Nesta triagem foram removidos 669 artigos e restaram 242 artigos para próxima etapa. A triagem 02 foi realizada com a análise integral dos artigos na verificação dos critérios de inclusão.

Foram removidos da revisão; 63 artigos por não apresentarem roedores em sua abordagem, 53 artigos por não serem trabalhos experimentais, 16 artigos não continham experimentos de aprendizagem e memória, 13 não incluíam estatinas na análise. Finalmente, 98 artigos corresponderam aos critérios e passaram para etapa de análise e discussão (**Fig. 13**).

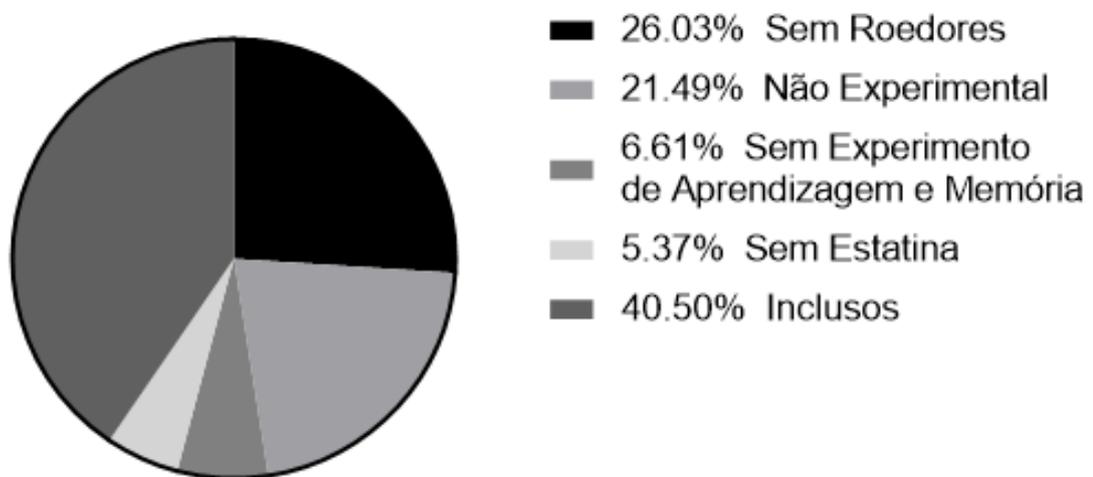


Figura 13. Resultados da seleção da segunda triagem.

3.6.2. Quais estatinas mais utilizadas nos estudos?

Considerando todos os experimentos, o gráfico abaixo (**Fig.14**), apresenta a distribuição em (%) das estatinas utilizadas nos estudos. Nota-se que a sinvastatina e atorvastatina são as mais utilizadas, provavelmente devido serem opções clínicas como, além de lipossolúveis e cruzarem a barreira hematoencefálica com maior eficiência que estatinas lipofílicas, podendo assim ter efeitos mais diretos sobre a atividade do sistema nervoso central.

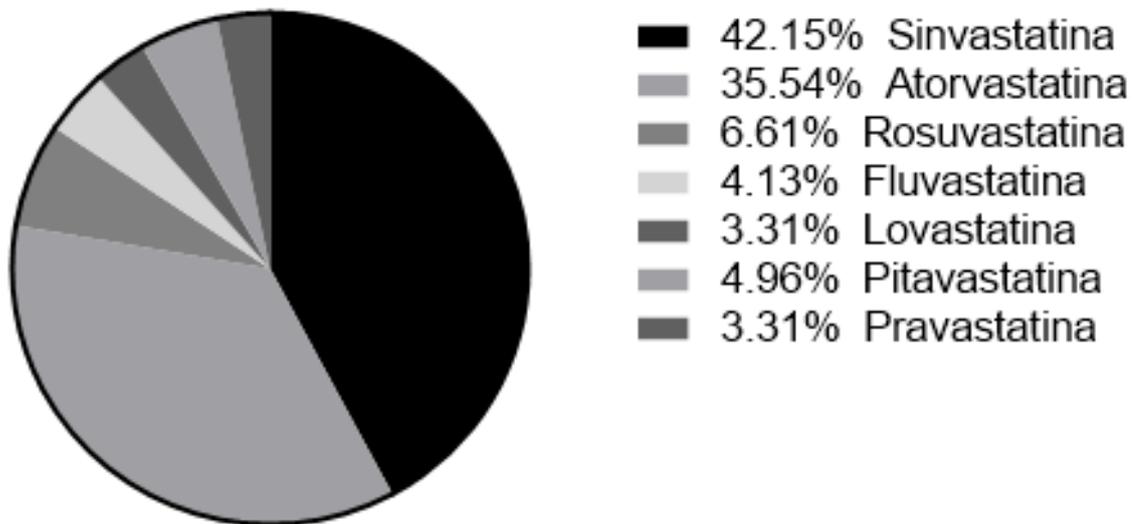


Figura 14. Estatinas mais utilizadas nos estudos incluídos na revisão sistemática. Nota-se o uso acentuado da sinvastatina e da atorvastatina, sendo estas as principais estatinas testadas.

3.6.3. Testes de Memória Utilizados nos Estudos

Diferentes estratégias experimentais para avaliação dos processos mnemônicos foram utilizados pelos estudos analisados nesta revisão. O gráfico abaixo (**Fig.15**) representa os principais testes e tarefas de memória utilizadas.

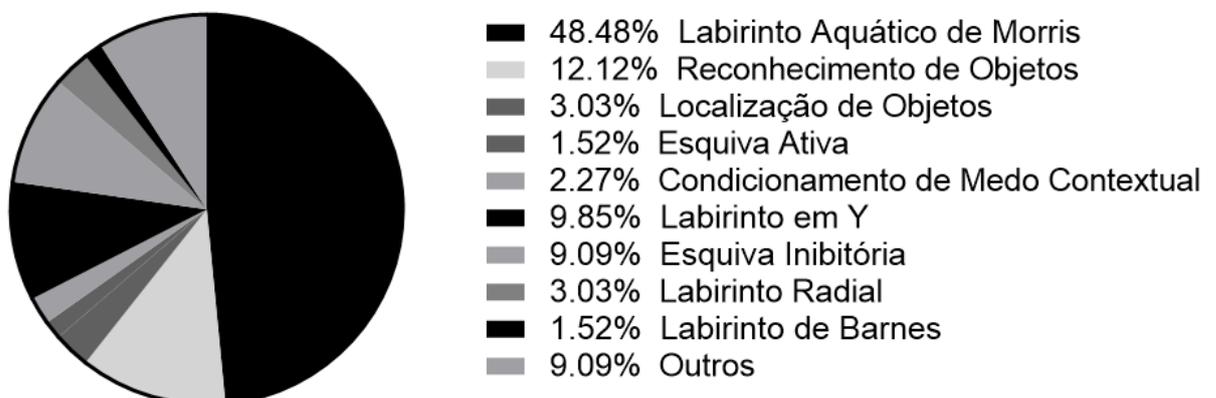


Figura 15. Testes experimentais de memória utilizados nos experimentos dos estudos incluídos na revisão.

Desta distribuição é possível se estabelecer um panorama geral dos tipos de memória avaliados nos estudos da revisão. Serão considerados como avaliação da memória espacial os testes: Labirinto Aquático de Morris, Localização de Objetos, Labirinto em Y, Labirinto Radial e Labirinto de Barnes. Como avaliação da memória de reconhecimento, a tarefa de reconhecimento de objetos. E, por fim, como memória aversiva as tarefas de esquiva e condicionamento aversivo. O gráfico abaixo (**Fig. 16**) representa a distribuição dos principais tipos de memória investigados nos estudos.

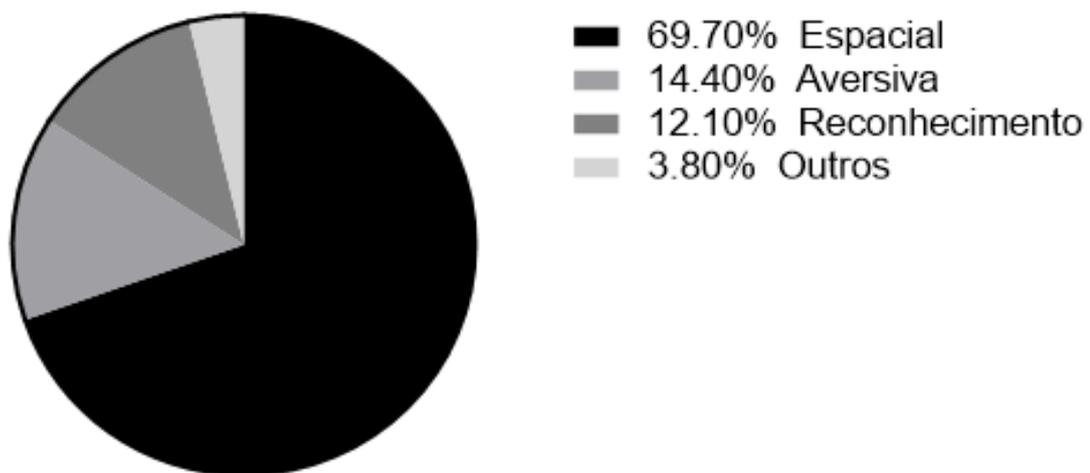


Figura 16. Tipos de memória investigados nos estudos inclusos nesta revisão.

É possível observar que maior parte dos estudos, quase 7 em 10, utilizaram tarefas que envolvem a memória espacial. Este tipo de memória é dependente do sistema

hipocampal (BIRD; BURGESS, 2008) e existe grande literatura disponível (MARTIN; CLARK, 2007) sobre suas fases e neurobiologia o que facilita comparações e compreensão mais profunda do sistema, justificando em parte a quantidade grande de estudos. Além disso o uso tradicional do labirinto aquático de Morris na neurociência da aprendizagem e memória é outro fator que favorece o estudo das memórias espaciais (BRANDEIS; BRANDYS; YEHUDA, 1989). As memórias aversivas dependentes do sistema amigdalár também foram objeto de avaliação dos estudos selecionados. O estudo das memórias de aversivas e de medo se tornou popular com a investigação mais profunda da relação deste fenômeno com o transtorno do estresse pós-traumático (DEBIEC; LEDOUX, 2006; FLAVELL, 2017; IZQUIERDO; FURINI; MYSKIW, 2016). Por fim a memória de reconhecimento também foi amplamente utilizada, provavelmente devido a popularização e fácil implementação do teste de reconhecimento de objetos em roedores e a grande base de literatura sobre suas bases neurais (VOGEL-CIERNIA; WOOD, 2014).

3.6.4. Síntese do Estudos da Revisão

A tabela (Tabela 1) a seguir apresenta todos os 98 estudos incluídos nesta revisão, assim como um pequeno resumo de suas características.

Tabela 1 - Síntese dos artigos inclusos nesta revisão.

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Sinvastatina	40	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris	Reversão de Prejuízo de Memória Espacial	Sem grupo controle estatina	Ativação da via Inibitória Wnt/ β -catenina da DKK1
Rato	Atorvastatina e Rosuvastatina	20	Prejuízo Cognitivo induzido por MDMA	Labirinto Aquático de Morris	Reversão de Prejuízo de Memória Espacial	Sem efeito per se	↓ de espécies reativas, peroxidação lipídica e na ativação das caspases-3 e -9
Camundongo	Sinvastatina	2, 10 e 50	Efeito da Estatina per se	Condicionamento de Preferência de Lugar e Condicionamento de Aversão de Lugar	sem modelo	Prejuízo de memória	Mudança no lipidioma em regiões cerebrais envolvidas com a memória.
Camundongo	Sinvastatina	0.5	Hipercolesterolemia Genética e Idade	Reconhecimento e Localização de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória espacial e de reconhecimento de curto e longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ de inflamação ↑ de BDNF no Hipocampo.
Rato	Sinvastatina	10 e 20	Neurotoxicidade do Etanol	Labirinto Aquático de Morris	Sinvastatina preveniu o prejuízo de memória.	Sem grupo controle estatina	↑ na atividade das enzimas antioxidantes; ↓ da peroxidação lipídica e redução nos níveis de TNF- α ↓ da expressão da caspase-3 na região CA1 do hipocampo e da concentração dos níveis de IBA-1.

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	5	Prejuízo Cognitivo induzido por Micro Hemorragia Cerebral	Reconhecimento de objeto e aprendizado associativo utilizando caixas de condicionamento operante touchscreen	Em machos, a atorvastatina melhorou a memória visuo-espacial/Não houve melhoras nas fêmeas.	Sem grupo controle estatina	↑ expressão de BDNF e seu receptor TrkB, ↑ os níveis de VEGF e induziu ativação da micróglia. Alterações no metabolismo da glicose e alterou a morfologia de astrócitos do hipocampo.
Camundongo	Sinvastatina	40	Prejuízo Cognitivo induzido por dano Vascular - Camundongo mutantes superexpressando TGF-β1	Reconhecimento de objeto e Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial e de reconhecimento de curto e longo prazo.	Sem grupo controle estatina	sem mecanismos investigados
Camundongo	Fluvastatina	0.1 e 2	Hipercolesterolemia Dietética + Cobre	Condicionamento da Membrana Nictitante	Recuperou 80% da resposta perdida pelo efeito da dieta e cobre.	Sem grupo controle estatina	↓ da Amiloideogênese
Rato	Sinvastatina	2	Prejuízo cognitivo induzido por isoflurano pré-natal.	Condicionamento de Medo Contextual e Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos prejuízos de memória de medo e espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Promoção de neurogênese
Camundongo	Sinvastatina	100	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ apoptose hipocampal e modulação da via ERK/MAPK.
Rato	Atorvastatina	5 e 10	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1-42	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Modulação da via TLR4/TRAF6/NF-κβ

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Sinvastatina	10	Prejuízo Cognitivo induzido por Escopolamina	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Inibição do apoptose hipocampal e regulação da via ERK/MAPK. ↓de ROS ↑da expressão proteica no hipocampo.
Camundongo	Sinvastatina	25 e 50	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Supressão do RNAm do fator inflamatório APP/PS1. Supressão da expressão de Inc RNA n336694, miR-106b e APP/PS1.
Camundongo	Sinvastatina	10 e 20	Modelo de Diabetes induzido por Estreptozotocina	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ na expressão de NF-κ beta, p65, IL-1β, IL-6 e TNF-α ↑da razão Bcl-2/Bax ↓da atividade da caspase-3 no hipocampo e córtex pré-frontal.
Camundongo	Atorvastatina e Sinvastatina	20	Modelo de Sepsis	Labirinto Aquático de Morris e Esquiva Inibitória	Preveniu prejuízos na memória espacial e de medo, de curto e longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓da neuroinflamação e proteção vascular.
Rato	Sinvastatina	50	Modelo de Demência Vascular induzido por L-Metionina	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Efeitos antioxidantes, anti-inflamatório e neuroprotetores.

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	10	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Reconhecimento de Objetos e Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos prejuízos de memória de reconhecimento e espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓Aβ1-42 e fosforilação da proteína tau. ↑dos níveis de PKB e GSK3β (Ser9) fosforilados no hipocampo e córtex pré-frontal.
Camundongo	Sinvastatina	10, 20, 40 e 80	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1-42	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Doses de 20 e 40 reverteram os prejuízos de memória espacial de longo prazo e restaurou a alternância espontânea.	Sem grupo controle estatina	ativação da subunidade NR2B do receptor NMDA e PKB e proteção contra redução da potenciação de longo prazo.
Rato	Atorvastatina	10	Modelo de Isquemia por Oclusão	Labirinto Aquático	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑ da atividade da via PKB ↓na expressão da caspase-3
Rato	Atorvastatina	10	Modelo de Isquemia por Oclusão	Labirinto Radial	Atenuação dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓da neurodegeneração - Análise Histológica
Rato	Sinvastatina	10	Indução de prejuízo cognitivo por Alumínio	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓dos níveis de MDA e nitrito ↑da atividade de enzimas antioxidantes e inibição da ativação de TNF-α no hipocampo.

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Atorvastatina	10	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1-42	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ liberação de citocinas pró-inflamatórias, e esses efeitos podem ser mediados pela via p38 MAPK.
Rato	Lovastatina	2	Hipóxia-Hipercapnia Intermitente Crônica	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem efeito per se	Melhora significativa em mecanismos de plasticidade sináptica ↑ expressão de BDNF
Camundongo	Atorvastatina	1	Prejuízo cognitivo induzido por Lítio	Reconhecimento de objetos, Labirinto em Y e Esquiva Inibitória	Coadministração de Lítio + Atorvastatina induziu prejuízo de memória	Sem efeito per se	↑ Ativação de via nitrérgica
Rato	Sinvastatina	10	Modelo de Parkinson 6-OHDA	Labirinto Aquático de Morris	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑ expressão de receptores M1/M4 no cérebro dos animais.
Camundongo	Sinvastatina	40	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ25-35	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo. E melhora na alternância no labirinto em Y.	Sem grupo controle estatina	↓ fosforilação da proteína cinase B (PKB) e a fosforilação da cinase-2 extracelular (ERK2) e ↑ neuroproteção pela via da PI3K
Rato	Atorvastatina e Rosuvastatina	10 e 20	Prejuízo cognitivo induzido por Diazepam	Esquiva ativa e Esquiva Inibitória	Atorvastatina 10 mg/kg e rosuvastatina 10 mg/kg e 20 mg/kg atenuaram o prejuízo de memória de medo de longo prazo nos dois paradigmas.	Sem grupo controle estatina	sem mecanismo investigado

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina e Pitavastatina	30 e 3	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Radial	Melhora do desempenho na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ da Amiloidogênese e proteção vascular.
Camundongo	Atorvastatina	1,5	Prejuízo Cognitivo induzido por Escopolamina	Labirinto em Y	Melhora da memória de reconhecimento de curto e longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑ da atividade da via do NO
Camundongo	Pravastatina, Lovastatina e Sinvastatina	2	Modelo de Traumatismo Craniano	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Melhora dos prejuízos de memória espacial de longo prazo. E melhora na alternância no labirinto em Y.	Sem grupo controle estatina	Restauração da integridade axonal. Análise histológica
Camundongo	Atorvastatina e Pitavastatina	30 e 3	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Radial	Melhora do desempenho na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ da Amiloidogênese e da fosforilação da proteína tau.
Rato	Sinvastatina	1.5 e 10	Hemorragia Subaracnóide	Labirinto Aquático de Morris	Redução nos prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ o vaso espasmo melhorou a função vestibulomotora ↑ a sobrevivência neuronal.
Camundongo	Sinvastatina	3	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ de dano ↑ ativação microglial no hipocampo.
Camundongo	Sinvastatina e Fluvastatina	5	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1-40	Tarefa de Localização de Água	Sinvastatina, mas não Fluvastatina induziram reversão no prejuízo de memória	Sem grupo controle estatina	↑ preservação de neurônios ↓ significativa no acúmulo de Aβ e estresse oxidativo

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Fluvastatina	5	Oclusão permanente da artéria cerebral média	Labirinto Aquático de Morris	Melhora o desempenho na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑Angiogênese e, sinaptogênese ↓na produção de espécies reativas de oxigênio.
Rato	Atorvastatina e Sinvastatina	1	Modelo de Traumatismo Craniano	Labirinto Aquático de Morris	Melhora do desempenho na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Promoção de neurogênese
Rato	Atorvastatina	1	Modelo de Traumatismo Craniano	Labirinto Aquático de Morris	Melhora do desempenho na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑da sobrevivência neuronal na região CA3 e na zona limite da lesão ↓a perda de processos neuronais de neurônios danificados na região hipocampal CA3
Rato	Atorvastatina e Sinvastatina	1	Modelo de Traumatismo Craniano	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Atorvastatina ↑a perfusão dos vasos e reduziu a coagulação intravascular
Camundongo	Sinvastatina	10	Modelo de Parkinson MPTP	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	reverteu o aumento da subunidade NMDAR2B, restaurou a regulação negativa de Nur77 e reduziu a expressão de COX-2 e TNF-α

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	3, 6 ou 12	Dieta Hiperlipídica	Reconhecimento de Objetos e Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória de reconhecimento de curto prazo e espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	<p>↑ Creb1, Gap-43, BDNF, CaMKII e ERKs</p> <p>↓ expressão de IL-1β, TNF-α, IL-6, HMGB1 e</p> <p>↑ a atividade de SOD, CAT, e GSH foi aumentada.</p> <p>↑ Bcl-2 foi regulado positivamente</p> <p>↓ Ac FoxO1, Ac-p53, Ac-NF-κ beta, e Bax</p>
Rato	Lovastatina	5	Lesão Cerebral núcleo Magnobasal (NBM)	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	<p>↓ perda de neurônios</p> <p>↑ Atividade da via da Akt</p> <p>↓ a fosforilação de p38</p>
Rato	Sinvastatina	1	Modelo de Traumatismo Craniano	Reconhecimento de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória reconhecimento de curto prazo.	Sem grupo controle estatina	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Pitavastatina	5	Modelo de Diabetes induzido por Estreptozotocina	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	Neuroproteção
Camundongo	Atorvastatina	0.88	Meia idade	Labirinto Aquático de Morris, Tarefa de separação de padrões e condicionamento de medo auditivo	Sem efeito na Memória	Sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Lovastatina	5	Prejuízo Cognitivo induzido por sevoflurano	Reconhecimento de Objetos e Labirinto em Y	Atenuação dos Prejuízos na memória espacial de curto e longo prazo.	Sem efeito per se	↓ na Amiloidogênese.

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	10	Prejuízo Cognitivo induzido por lesão na barreira hematoencefálica	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem efeito per se	↓ativação de NF-κB e NLRP3 inflamassoma no hipocampo ↓a apoptose celular e a permeabilidade da BBB
Camundongo	Sinvastatina	30	Estatina per se	Reconhecimento de Objetos e Labirinto Aquático de Morris	sem modelo	Prejuízo na memória de reconhecimento e espacial de curto e longo prazo.	↓de colesterol no hipocampo.
Camundongo	Atorvastatina	5, 10, ou 20	Prejuízo cognitivo induzido por isoflurano	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	↓da ativação da via p38MAPK/ATF2
Rato	Sinvastatina	20	Modelo de Sepsis	Reconhecimento de Objetos e Condicionamento de Medo Contextual	Proteção no prejuízo de memória de reconhecimento e de medo de curto e longo prazo.	sem efeito per se	↓inflamação ↑níveis de sinaptofisina no hipocampo ↑ Bcl-2 ↓os níveis de caspase-3 clivada
Rato	Sinvastatina	1 e 3	Dieta Hiperlipídica	Esquiva Inibitória	Sem efeito na Memória	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Atorvastatina	10	Dieta Rica em Sacarose	Esquiva Inibitória	Proteção no prejuízo de memória de medo de curto e longo prazo.	sem efeito per se	↓o acúmulo de gordura no fígado ↓ estresse oxidativo e a atividade inflamatória no cérebro

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	0.2	Modelo de Sepse	Labirinto Aquático de Morris	Proteção dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	<p>↓ a concentração plasmática de IL-1β, IL-4, IL-6, e TNF-α</p> <p>↓ os Níveis de citocinas inflamatórias no tecido cerebral</p> <p>↓ estresse oxidativo no hipocampo</p>
Rato	Sinvastatina	10 e 20	Modelo de Diabetes induzido por Estreptozotocina	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de curto e longo prazo.	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Sinvastatina	5	Modelo de Diabetes induzido por Estreptozotocina	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	melhorou a densidade neural no tecido hipocampal e preveniu a regulação positiva da expressão do gene MMP-9, redução dano neuronal no hipocampo
Rato	Rosuvastatina	5, 10 e 15	Prejuízo cognitivo induzido por dieta rica em sal e colesterol	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	↓ da neuroinflamação
Rato	Sinvastatina	5	Modelo de Diabetes induzido por Estreptozotocina	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial e de medo de longo prazo.	sem efeito per se	↑ a expressão de klotho e MnSOD e exibiu um efeito neuroprotetor que pode estar relacionado ao seu efeito antioxidante

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	5	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ25–35	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo e na alternância espontânea	sem efeito per se	potenciação de longo prazo (PLP) protegida e respostas inflamatórias inibidas ↓ FP ↑da ativação de PI3K/Akt
Rato	Atorvastatina	10	Prejuízo cognitivo induzido por nicotina	Labirinto em Y	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Diminuição da performance em relação ao controle.	↑dos receptores N-metil D-aspartato ↑da atividade do monoamina oxidase-A e monoamina oxidase-B
Camundongo	Sinvastatina	20	Estatina per se	Labirinto Aquático de Morris	sem modelo	Melhora na memória espacial de longo prazo.	Melhoria a longo prazo Potenciação em CA1 hipocampal via regulação positiva de α7 Receptor Nicotínico de Acetilcolina
Camundongo	Atorvastatina	10	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1–40	Localização de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de curto prazo.	sem efeito per se	↓da captação de sódio no hipocampo e efeito antioxidante
Camundongo	Atorvastatina e Sinvastatina	1, 10 e 20	Estatina per se	Localização de Objetos	sem modelo	Melhora na Memória Espacial Curto Prazo.	efeito mnemônico envolve o sistema beta-adrenérgico
Camundongo	Atorvastatina	10 e 20	Dieta Hiperlipídica	Labirinto em Y, Labirinto Hebb-William, esquiva inibitória e Esquiva ativa.	Reversão no prejuízo de memória espacial e de medo de longo prazo (com exceção do Labirinto Hebb-William)	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Atorvastatina	10	Isquemia Cerebral	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	protege contra danos cerebrais morfológicos e funcionais e facilita o aprendizado espacial de longo prazo e a recuperação da memória por um mecanismo dependente da subunidade do receptor GluN2B NMDA
Camundongo	Atorvastatina	5	Estatina per se	Labirinto Aquático de Morris	sem modelo	Prejuízo na memória espacial de longo prazo.	↓ da expressão das proteínas da vesícula pré-sináptica localizadas em MLR, sintaxina-1α e sinaptofisina
Rato	Sinvastatina	0.1	Estatina per se	Esquiva Inibitória	sem modelo	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Cobaia	Sinvastatina e Atorvastatina	2 e 1	Estatina per se	Labirinto Aquático de Morris	sem modelo	Prejuízo na memória espacial de longo prazo.	↓ na Potenciação de Longo Prazo Sem reversão com a adição de colesterol
Camundongo	Atorvastatina	10	Prejuízo Cognitivo Induzido por Pós-operatório	Labirinto Aquático de Morris e Condicionamento de Medo Contextual	Reversão dos Prejuízos na memória espacial e de medo de longo prazo.	sem efeito per se	↓ Produção de IL-1β ↓ Expressão da COX-2 e ativação da via NF-κB ↓ da atividade microglial

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Sinvastatina	1.5	Estatina per se	Esquiva inibitória	sem modelo	Melhora na memória de medo de longo prazo.	↓a expressão de Rab3 e RhoA
Rato	Sinvastatina e Pravastatina	10	Estatina per se	Reconhecimento de Objetos	sem modelo	Prejuízo na memória de reconhecimento de curto e longo prazo.	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Atorvastatina	10	Modelo de Parkinson MPTP	Labirinto Aquático de Morris e Reconhecimento Social	Proteção ao prejuízo na memória de reconhecimento social. Sem efeito na memória espacial.	sem efeito per se	↑os níveis de NGF no corpo estriado e no hipocampo
Rato	Atorvastatina	5	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1-42	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de curto e longo prazo.	sem efeito per se	↓produção de IL-1β, IL-6 e TNF-α
Camundongo	Sinvastatina e Pravastatina	20 e 25	Dieta Hipercolesterolêmica	Esquiva inibitória	sem modelo	Melhora na memória de medo de longo prazo.	O tratamento de curto prazo com Sinvastatina mostrou aumento significativo na atividade de HMG-CoAR, apesar do nível de colesterol cerebral inalterado. e Pravastatina não alterou o nível de colesterol cerebral, bem como a atividade cerebral de HMG-CoAR.
Cobaia	Sinvastatina e Atorvastatina	1 e 0.5	Estatina per se	Labirinto Aquático de Morris	sem modelo	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Atorvastatina	1,5	Prejuízo Cognitivo induzido por Escopolamina	Labirinto em Y	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de curto prazo.	sem efeito per se	A atorvastatina melhorou a consolidação da memória em uma via NO-dependente; em contraste, afeta a recuperação da memória através de uma via independente de NO
Rato	Sinvastatina	10	Remoção do bulbo olfatório	Esquiva Inibitória e Localização de Objetos	Sem efeito na Memória	Melhora na aquisição da memória em ambos os testes.	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Pitavastatina, Sinvastatina e Fluvastatina	10	Dieta Hiper Lipídica + Modelo de Diabetes Induzido por Estreptozotocina	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	Efeito hipocolesterolêmico e antioxidante
Rato	Atorvastatina	5	Inflamação induzida por pentilentetrazol	Esquiva Inibitória	Reversão dos Prejuízos na memória de medo de longo prazo.	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Atorvastatina	10	Prejuízo cognitivo induzido pela administração ICV de Aβ1-40	Labirinto Aquático de Morris	sem efeito na Memória	sem efeito per se	↓ astrogliose, peroxidação lipídica e expressão de COX-2, no hipocampo. ↑ na expressão de transportadores de glutamato gliais ↓ neurodegeneração

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Sinvastatina	20	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris	sem efeito na Memória	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Atorvastatina e Pitavastatina	10	Modelo de Demência Vascular induzido por L-Metionina	Labirinto Aquático de Morris	Redução dos Prejuízos na memória espacial de curto e longo prazo.	sem efeito per se	↓ no estresse oxidativo ↓ atividade acetilcolinesterase ↓ colesterol plasmático.
Rato	Sinvastatina	10 e 30	Estatina per se	Labirinto de Barnes	sem modelo	Prejuízo na memória espacial de longo prazo.	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Atorvastatina e Sinvastatina	5	Prejuízo cognitivo induzido por alprazolam, escopolamina e dieta hiperlipídica	Labirinto Aquático de Morris	Atenuação dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Sinvastatina	50	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris e Habituação Campo Aberto	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Melhora na memória espacial de longo prazo.	↑ a concentração de Akt e P-Ser473-Akt ↑ na concentração de NO
Rato	Fluvastatina	7.5	Estatina per se	Labirinto de Barnes	sem modelo	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Rosuvastatina	40	Modelo de Toxoplasmose	Reconhecimento de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória de reconhecimento de curto e longo prazo.	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Sinvastatina	1	Modelo Transgênico da Síndrome de Angelman	Reconhecimento de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória de reconhecimento de curto prazo.	sem efeito per se	Restauração da atividade da HDAC1/2

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Sinvastatina	5	Dieta Hiperlipídica	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Melhora na memória espacial de longo prazo.	Reversão na perda de neurônios piramidais do hipocampo
Rato	Sinvastatina e Rosuvastatina	88 - Sinvastatina e 150 - Rosuvastatina	Estatina per se	Labirinto Aquático de Morris	sem modelo	Prejuízo na memória espacial de longo prazo.	↓ das neurotrofinas e irisina no hipocampo.
Rato	Rosuvastatina	10	Modelo de Hipertensão Arterial	Labirinto Aquático de Morris e Reconhecimento de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória espacial e de reconhecimento de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ grau de lesão da substância branca, ↑ expressão de proteínas de junções Claudina-5, Occludina, e ZO-1 no corpo caloso ↓ depósitos de Aβ no córtex e hipocampo
Rato	Rosuvastatina	10	Modelo de Acidente Vascular por Oclusão da Carótida	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑ vascularização e função sináptica, e fatores neurotróficos
Camundongo	Atorvastatina	0.1 e 1	Modelo de Demência por Idade + D-galactose	Reconhecimento de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória de reconhecimento de curto prazo.	Sem grupo controle estatina	↑ da expressão de SOD e BDNF
Camundongo	Sinvastatina	20	Estatina per se	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	sem modelo	Melhora na memória espacial de curto e longo prazo.	↑ da atividade dos receptores α7nACh
Rato	Sinvastatina	40 e 80	Modelo de Demência por Idade + D-galactose	Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ do estresse oxidativo no plasma e neuroproteção hipocampal

Espécie	Estatinas	Dose	Modelo Utilizado no Estudo	Testes de Memória	Efeito da Estatina no Modelo	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Camundongo	Sinvastatina	40	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Aquático de Morris	sem efeito na Memória	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Atorvastatina e Pitavastatina	30 e 3	Modelo Transgênico da Doença de Alzheimer	Labirinto Radial	Reversão dos Prejuízos na memória espacial de longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↓ dos danos vasculares.
Rato	Rosuvastatina	0.2 e 2.0	Tratamento neonatal com ferro	Reconhecimento de Objetos	Reversão dos Prejuízos na memória de reconhecimento de curto prazo.	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Pravastatina e Atorvastatina	10 e 10	Estatina per se	Reconhecimento de Objetos	sem modelo	Prejuízo na memória de reconhecimento de curto e longo prazo.	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Sinvastatina	1, 5 e 10	Inflamação induzida por pentilenotetrazol	Esquiva inibitória e Labirinto Aquático de Morris	Reversão dos Prejuízos na memória espacial e de medo de curto e longo prazo.	Sem grupo controle estatina	↑ALDH2 e regulação dos distúrbios nos níveis de H2S e NO via modulação de suas enzimas sintéticas (CBS e iNOS, respectivamente) e via de sinalização BDNF/TrkB

De modo geral diversos modelos foram utilizados, podemos classificá-los em:

- (i) Modelos da doença de Alzheimer; (ii) Prejuízo Cognitivo Induzido Farmacologicamente (Escopolamina, MDMA, Etanol, dentre outros.); (iii) Estatina *per se*; (iv) Intervenção Metabólica (dietas ricas em gordura, colesterol, carboidratos e indução de diabetes por estreptozotocina); (v) Modelo de Acidente vascular; (vi)

Modelo de Sepsis; (vii) Modelos de Traumatismo e Lesões Cerebrais; (viii) Modelo da Doença de Parkinson; (ix) Idade; (x) Modelo de Hipertensão e (xi) Outros. A figura abaixo (**Fig. 17**) apresenta um breve resumo da proporção dos modelos nos artigos incluídos na revisão.

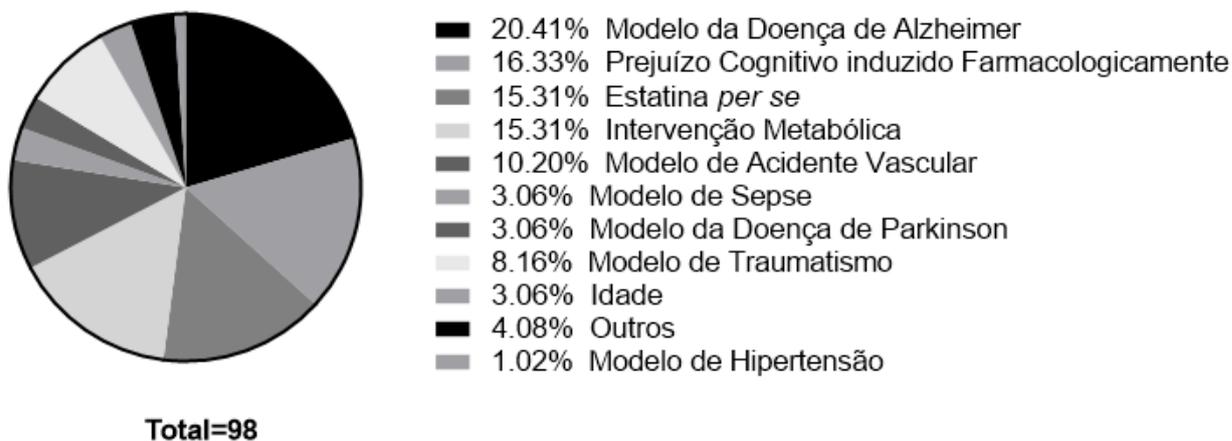


Figura 17. Modelos utilizados nos estudos incluídos na revisão.

3.6.5. Efeitos das Estatinas nos Modelos de Patologias e Insultos ao Sistema Nervoso

Muitos estudos encontraram efeitos benéficos das estatinas na reversão, atenuação ou prevenção de prejuízos cognitivos em modelos de patologias e insultos ao sistema nervoso (Tabela I). Diferentes mecanismos são elencados como responsáveis de tais efeitos. Tantos os mecanismos clássicos de diminuição da concentração lipídeos plasmáticos, aos efeitos pleiotrópicos, principalmente anti-inflamatórios, antioxidantes e vasculares, são descritos como eventos relacionados aos efeitos positivos das estatinas neste contexto.

Alguns estudos relacionam os efeitos benéficos das estatinas sobre a memória diretamente pelo seu papel de diminuição do colesterol, especialmente em modelos

dietéticos e genéticos de dislipidemias (YU et al., 2013). A diminuição nos níveis de colesterol plasmático poderia acarretar menor dano vascular fator relacionado a prejuízos nos processos de memória(EL-DESSOUKI et al., 2017; KOLADIYA et al., 2008; TRIGIANI et al., 2019). De fato, a atenuação da dislipidemias pode ter impacto positivo sobre prejuízos de memória induzidos por dietas hipercalóricas, em 2019, Liu e colaboradores apresentaram evidência de que doses de 20 mg, 40 mg e 60 mg de atorvastatina induziram diminuição dose dependente nos níveis de colesterol plasmático em um camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. Além disso, tais tratamentos também acarretaram atenuação dos prejuízos memória especial observados nos animais alimentados com a dieta rica em gordura. A reversão das consequências metabólicas relacionadas a dislipidemia também induziram alterações positivas para fenômenos de plasticidade como aumento da expressão CREB e BDNF, assim como modulação positiva sobre enzimas como CAMKII e ERK(LIU et al., 2019).

Diferentes achados relatam efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes por parte das estatinas o que diminui o impacto dos danos ao sistema nervoso central e como consequência os efeitos benéficos sobre os processos cognitivos (MARTINS et al., 2015; MASSAAD; KLANN, 2011a, 2011b; SOLMAZ; ATASOY; ERBAŞ, 2020). O efeito anti-inflamatório das estatinas parece se dar por diferentes mecanismos, um deles é o efeito principal destes fármacos na diminuição do colesterol LDL, que diminui a inflamação (JUKEMA; AHMED; TARDIF, 2019). Outros estudos apontam modulação de citocinas inflamatória, associando o tratamento com estatinas com a diminuição de citocinas pró-inflamatórias e aumento de citocinas anti-inflamatórias. Reversão e atenuação do aumento de citocinas como IL-1 β , IL-6 e TNF- α foram

observadas em diferentes modelos, como dieta hiperlipídica (LIU et al., 2019), como sepse (TIAN et al., 2020) e doença de Alzheimer (WANG et al., 2018).

Os efeitos antioxidantes parecem ser exercidos também por diferentes mecanismos, alguns estudos sugerem modulação atividade de enzimas antioxidantes, por exemplo, em Martins 2015, observou-se que 10 mg/kg de atorvastatina por 7 dias em camundongos com prejuízo cognitivo induzido por pela administração ICV de A β 1–40 reverteu as alterações comportamentais, o que foi acompanhado da diminuição da atividade da glutathione redutase e peroxidase(MARTINS et al., 2015). Mesmo a expressão de enzimas antioxidantes importante pode ser induzida pelo tratamento com estatinas, Adeli e colaboradores (2017) demonstraram que o tratamento com Simvastatina 5 mg/kg induz aumento na expressão da enzima superóxido dismutase no hipocampo de animais modelo de diabetes induzida pela administração de estreptozotocina (ADELI et al., 2017). Esta enzima é importante no controle espécies reativas e na manutenção da homeostase redox e o aumento da sua expressão neste estudo é correlato à reversão dos prejuízos de memória consequente ao tratamento. Diminuição de dano oxidativo e de espécies reativas de oxigênio foram efeitos apresentados como consequências positivas do tratamento com estatinas e que contribuem para reversão dos prejuízos cognitivos e alterações comportamentais(PIERMARTIRI et al., 2010; SOLMAZ; ATASOY; ERBAŞ, 2020).

Outro efeito presente em muitos dos trabalhos (CATALÃO et al., 2020; HU et al., 2018; JAFARI et al., 2021; LIU et al., 2017; NAKANDAKARI et al., 2019; TIAN et al., 2020) avaliados foi a inibição das vias apoptóticas, muito provavelmente em virtude aos efeitos neuroprotetores supracitados. Em Catalão e colaboradores (2019) houve diminuição significativa nos na expressão de caspase-3 e aumento na proteínas Bcl-

2, indicativo de diminuição das vias apoptóticas, no hipocampo de animais com prejuízo cognitivo induzido por sepse e tratados com sinvastatina 20 mg/kg por 14 dias. Tal consequência foi acompanhada por reversão nos prejuízos de memória de reconhecimento observado nestes animais(CATALÃO et al., 2020).

Efeitos diretos sobre sistemas neurotransmissores e mecanismos de plasticidade também podem ser observados com tratamento com estatinas sobre a memória em modelos patológicos(JEONG et al., 2021a; JIN et al., 2016; MARTINS et al., 2015; WANG et al., 2008, 2014). Estudos demonstram que as estatinas podem ter efeito sobre sistemas neurotransmissores como o glutamato e sobre a constituição lipídica das membranas neuronais, importante fator para atividade pós-sináptica e mecanismos de plasticidade. Um exemplo direto sobre o sistema glutamatérgico, crítico na plasticidade sináptica, é o estudo de Jin et al (2010),o qual demonstrou que o tratamento com sinvastatina em camundongos reverteu prejuízos cognitivos induzidos por injeção do peptídeo A β 1-42 aumentou a fosforilação da subunidade NR2B do receptor NMDA e a fosforilação da proteína Akt, ambos efeitos positivos para processos de plasticidade adjacentes a formação de novas memórias. De forma interessante os efeitos foram dose-dependentes e relacionados a diminuição de FP pela inibição da via do mevalonato (JIN et al., 2016). Outros sistemas neurotransmissores também parecem ser afetados por tratamento com estatinas e mediar efeitos positivos para cognição, incluindo os sistemas colinérgico (WANG et al., 2008, 2014), adrenérgico (VANDRESEN-FILHO et al., 2015) e dopaminérgico (JEONG et al., 2021a).

Além disso, efeitos sobre a liberação neurotrofinas, também são efeitos positivos associados ao tratamento com estatinas em modelos animais. Bergeron e

colaboradores (2020) verificou que o tratamento com atorvastatina 5mg/kg por 6 semanas reverteu os prejuízos cognitivos em um modelo de acidente vascular cerebral, tal efeito foi acompanhado de aumento nos níveis de BDNF e no seu receptor tirosina cinase B (TrkB) e do fator de crescimento endotelial vascular (do inglês *Vascular endothelial growth factor* – VEGF) em diferentes sítios cerebrais dos animais (BERGERON et al., 2021). Don-Doncow também observou um efeito de aumento nos níveis de BDNF no hipocampo de camundongos com prejuízo cognitivo induzido por modelo de hipercolesterolemia genética tratados por 2 meses com 0,5 mg/kg de sinvastatina, tal é correlato a reversão dos déficits de memória observados nos animais, sugerindo que mesmo pequenas doses podem ter feitos benéficos sobre os processos de plasticidade e de memória (DON-DONCOW et al., 2021).

Assim, além dos clássicos efeitos na circulação lipídica, maior parte dos efeitos benéficos verificados pelo tratamento com estatinas se dá por efeitos pleiotrópicos, em grande parte anti-inflamatórios e antioxidantes, além de mecanismos relacionados diretamente com a transmissão e plasticidade sináptica também foram observados. Vale notar que tais efeitos benéficos parecem ser observados com o tratamento de estatinas em animais que sofreram algum tipo de injúria ou são modelos de patologias do sistema nervoso.

3.6.6. Efeitos das Estatinas na Aprendizagem e Memória *per se*

Alguns estudos focaram especificamente nos efeitos das estatinas sobre a memória. A tabela abaixo sintetiza os mesmos e seus efeitos sobre aprendizagem e memória.

Tabela 2 - Estudos focados nos efeitos das estatinas sobre a memória em roedores

Espécie	Estatinas	Dose	Tempo de Tratamento	Testes de Memória	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Cobaia	Sinvastatina e Atorvastatina	0,5 e 1	40 Dias	Labirinto Aquático de Morris	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Fluvastatina	7,5	28 Dias	Labirinto de Barnes	sem efeito per se	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Atorvastatina	5	7 Meses	Labirinto Aquático de Morris	Prejuízo na memória espacial de longo prazo.	↓ da expressão das proteínas da vesícula pré-sináptica localizadas em MLR, syntaxina-1α e sinaptofisina
Cobaia	Sinvastatina e Atorvastatina	1 (SIN) e 2 (ATO)	6 Semanas	Labirinto Aquático de Morris	Prejuízo na memória de trabalho espacial	↓ na Potenciação de Longo Prazo Sem reversão com a adição de colesterol
Rato	Sinvastatina	10 e 30	42 Dias	Labirinto de Barnes	Prejuízo na memória espacial de longo prazo apenas na dose de 10 mg/kg	Nenhum mecanismo investigado
Rato	Sinvastatina e Rosuvastatina	88 (SIN) e 150(ROS)	18 Dias	Labirinto Aquático de Morris	Prejuízo na memória espacial de longo prazo.	↓ das neurotrofinas e irisina no hipocampo.
Camundongo	Sinvastatina	30	26 Dias	Reconhecimento de Objetos e Labirinto Aquático de Morris	Prejuízo na memória de reconhecimento e espacial de curto e longo prazo.	↓ de colesterol no hipocampo.
Rato	Pravastatina e Atorvastatina	10	18 Dias	Reconhecimento de Objetos	Prejuízo na memória de reconhecimento de curto e longo prazo.	Nenhum mecanismo investigado
Camundongo	Sinvastatina	20	30 Dias	Labirinto Aquático de Morris e Labirinto em Y	Melhora na memória espacial de curto e longo prazo.	↑ da atividade dos receptores α7nACh

Espécie	Estatinas	Dose	Tempo de Tratamento	Testes de Memória	Efeito da Estatina per se	Mecanismo
Rato	Sinvastatina	1,5	3 Semanas	Esquiva inibitória	Melhora na memória de medo de longo prazo.	↓a expressão de Rab3 e RhoA

Foram localizados 10 estudos que investigaram diretamente o efeito das estatinas sobre a memória, ou seja, focados no tratamento com esta classe de fármacos e não associados a modelos de insultos e patologias do sistema nervoso. Deste nota-se que 2 dos estudos não encontraram efeitos das estatinas sobre os processos de memória, 2 dos estudos encontraram efeitos benéficos, de melhora no desempenho mnemônico e 6 dos estudos encontraram prejuízos de memória associados ao tratamento com estatinas. Nota-se que maior parte das estatinas utilizadas são Sinvastatina e Atorvastatina, mais comuns nos estudos com roedores como visto na tabela I. Apenas 2 dos estudos utilizaram estatinas lipofílicas, sendo em um estudo a rosuvastatina (OKUDAN; BELVIRANLI, 2020) e no outro a pravastatina (STUART et al., 2013). Nota-se que no último estudo apenas a pravastatina induziu prejuízos de memória, sugerindo uma possível tendência a este tipo de estatina poder causar alterações cognitivas, enquanto as lipofílicas não apresentariam tais efeitos. Ainda assim, a solubilidade não parece ser uma característica relevante para prejuízos cognitivos e de memória quando e se leva em consideração os outros estudos avaliados.

Em relação as doses e duração dos tratamentos, não parece haver uma relação direta com os efeitos cognitivos. Por exemplo, baixas doses aparentemente são capazes de causar prejuízos como observado no estudo de Maggo 2014, o qual demonstrou alteração na memória de trabalho espacial em cobaias tratadas com 1

mg/kg de sinvastatina e 2 mg/kg de atorvastatina (MAGGO; ASHTON, 2014). De forma interessante o mesmo grupo não verificou tais prejuízos em estudo anterior no qual utilizaram doses ainda mais baixas como 0.5 mg/kg (MAGGO; CLARK; ASHTON, 2012). Baytan em 2008 apresenta resultados muito interessantes ao avaliar o efeito de 10 e 30 mg/kg por 42 dias na memória espacial de ratos na tarefa do labirinto de Barnes. O grupo encontrou que 10 mg/kg induz prejuízo neste tipo de memória, enquanto o tratamento com 30 mg/kg não acarretou alterações mnemônicas. Assim, sugerem que possíveis efeitos amnésicos da sinvastatina são dose específicos e não dose dependentes, o que segure uma modulação fina do fármaco sobre na aprendizagem no labirinto utilizado no trabalho (BAYTAN et al., 2008). Entretanto, tratamentos com altas doses também foram associadas a prejuízos cognitivos. No estudo de Okudan et al (2020) demonstrou-se 88 mg/kg de sinvastatina e 150 mg/kg de rosuvastatina por 18 dias induziram prejuízos significativos na formação da memória espacial de longo prazo em ratos na tarefa do labirinto aquático. Além disso, nossos resultados experimentais também não corroboram os achados dose específicos sugeridos por Baytan 2008, em intervenção aguda apenas alta dose (50 mg/kg) apresentou efeito amnésico na memória de medo no teste de esQUIVA inibitória (dados experimentais **Fig.11**).

3.6.7. Possíveis Mecanismos envolvidos com Prejuízos Mnemônicos relacionados às Estatinas

O prejuízo de memória induzido pelas estatinas nos diferentes estudos selecionados nesta revisão apresenta diferentes sugestões de mecanismos envolvidos. A inibição da via do mevalonato por essa classe de fármacos induz alteração de produtos celulares importantes para a função neuronal e eventos de plasticidade, tanto pela síntese *de novo* de colesterol como por outros de seus derivados como FP e GP envolvidos em processos de sinalização e prenilação.

Os lipídios de membrana contribuem para o equilíbrio entre a atividade dos receptores e proteínas sinápticas, mecanismo chave para a plasticidade. Evidências sugerem que as balsas lipídicas fornecem um ponto de encontro espacial e temporal para receptores e proteínas envolvidos em uma via comum, facilitando sua sinalização intracelular (HERING; LIN; SHENG, 2003). Proteínas pré e pós-sinápticas importantes organizaram-se em microdomínios lipídicos de membrana como as balsas lipídicas e sua expressão e disponibilidade pode ser alterada com a perturbação na formação destes ambientes de membrana devido alterações na fonte endógena de colesterol proveniente da via do mevalonato. Assim ao diminuir a atividade da via, as estatinas diminuiriam ainda mais a baixa síntese de colesterol pelas células neuronais, prejudicando o fino controle de disponibilidade do lipídio para eventos de neurotransmissão e plasticidade. Corroborando tal hipótese Schling e colaboradores demonstraram que o prejuízo de memória em camundongos tratados com atorvastatina 5 mg/kg por 7 meses foi acompanhado por diminuição de sintaxina 1- α e sinaptofina, proteínas pré-sinápticas associadas a microdomínios lipídicos da membrana de vesículas sinápticas, além de desorganização estrutural na proteína-95 de densidade pós-sináptica (SCHILLING et al., 2014).

Reforçando essa ideia, outro estudo demonstrou que tratamento com Sinvastatina induz prejuízo na memória acompanhado de diminuição significativa no colesterol do hipocampo (GUO et al., 2021). Neste estudo também se demonstrou prejuízo funcional na eletrofisiologia hipocampal em fatias tratadas com estatina, com diminuição na facilitação da transmissão sináptica e potenciação de longo prazo. Os autores sugerem que a diminuição de colesterol no hipocampo induz alteração funcional de receptores e canais iônicos importantes para neurotransmissão e plasticidade como, canais de K^+ , Na^+ e Ca^{2+} dependentes de voltagem e receptores glutamatérgicos AMPA e NMDA, cujo a literatura demonstra que a atividade pode ser influenciada pelos níveis de colesterol (KORINEK et al., 2015; LEVITAN; SINGH; ROSENHOUSE-DANTSKER, 2014). Assim, a sinvastatina, ao induzir alterações na produção do colesterol, acarretaria também em uma alteração na disponibilidade de tal lipídeo para processos de membrana, que dependem de proteínas ancoradas em balsas lipídicas ricas em colesterol (GUO et al., 2021).

Entretanto, Maggo e colaboradores (2014) demonstraram que a adição de colesterol não foi suficiente para reversão dos efeitos prejudiciais das estatinas sobre os processos de plasticidade avaliados através de eletrofisiologia (MAGGO; ASHTON, 2014). Uma possível explicação seria que para além do próprio colesterol outros derivados da via do mevalonato podem ser importantes para os mecanismos moleculares correlatos a formação e manutenção de novas memórias. De modo interessantes nas fatias em que o grupo tratou com metil- β -ciclodextrina, fármaco depletor do colesterol, também houve prejuízo na potenciação de longo prazo, mas neste caso, ocorre reversão quando o lipídio é adicionado na fatia, diferente de com o tratamento com estatinas. Este dado embora não corrobore que a depleção de

colesterol seja um dos mecanismos envolvidos com o prejuízo de memória associado as estatinas, indique que o lipídeo é importante para potenciação de longo prazo e pode sugerir que tratamentos diferentes (modelo x dose x frequência) possam também acarretar prejuízos funcionais em neurônios associados a déficits neste lipídeos.

Ainda assim, diferentes produtos derivados desta rota bioquímica podem atuar de forma diferenciada na homeostase neuronal e sua diminuição pode induzir em prejuízos nos sistemas de neuroplasticidade. Tanto PF, como o PG, são importantes agentes moleculares no fenômeno de prenilação, o qual envolve a adição de grupos hidrofóbicos à estrutura molecular de diferentes proteínas. A modificação ocasionada por tal mecanismo adiciona um grupo farnesil ou geranylgeranil no grupo c-terminal de diferentes proteínas. As proteínas GTPases de membrana são os principais alvos dos processos de prenilação (ZHANG; CASEY, 1996). Essas proteínas estão envolvidas em uma série de mecanismos de sinalização intra e extracelulares. A adição do grupo hidrofóbico às proteínas preniladas, altera sua interação com a membrana e pode promover a reorganização de suas proteínas e influenciar em sua função. A Ras é uma importante superfamília de proteínas GTPases envolvidas com os processos de plasticidade sináptica e que é diretamente influenciada pelo fenômeno de prenilação (GIESE et al., 2001). Esta superfamília influencia o tráfego e a atividade de receptores NMDA e AMPA através da membrana durante os processos de plasticidade sináptica. Alterações na homeostase destas proteínas também interferem na formação e morfologia de espinhos dendríticos (ZHU et al., 2002).

Assim, a interrupção abrupta da via do mevalonato poderia desencadear prejuízo em uma série de compostos moleculares relacionados aos mecanismos de

plasticidade sináptica, prejudicando assim os processos de memória relacionados. Esse tipo de alteração é extremamente complexo e de modulação fina o que ajuda a explicar a variedade de achados relacionando o tratamento com estatinas com interferência cognitiva. Tal hipótese explicaria por que na ausência de condição de insulto ou dano ao sistema nervoso, em vez de melhora na memória, observa-se prejuízo em alguns estudos.

Efeitos benéficos sobre a memória também são observados a partir do tratamento com estatinas. Segato e colaboradores (2014) demonstraram que o tratamento com sinvastatina induz melhora na memória espacial associada a uma diminuição na expressão das proteínas Rab3 e RhoA (SEGATTO et al., 2014). Vandresen-Filho e colaboradores (2015) sugerem um efeito benéfico da atorvastatina sobre a memória espacial se dá por meio da atividade adrenérgica, haja vista que o bloqueio dos receptores beta adrenérgicos inibiu os efeitos positivos da estatina observados neste estudo (VANDRESEN-FILHO et al., 2015).

3.7. CONCLUSÃO

Os estudos envolvendo tratamento com estatinas e memória em roedores apresentam variedade de resultados, sugerindo que os efeitos desta classe de fármacos sobre a cognição são complexos. Muitos trabalhos demonstram efeitos benéficos das estatinas nos prejuízos cognitivos induzidos por uma série de insultos no sistema nervoso ou presentes em diferentes modelos patológicos. É provável que tais efeitos benéficos se deem, além de pela diminuição do colesterol LDL plasmático, principalmente pelos efeitos pleiotrópicos anti-inflamatórios, antioxidantes e vasculares que as estatinas apresentam. Entretanto, parte da literatura e nossos

resultados experimentais demonstram que pode ocorrer prejuízo na formação da memória oriundo do tratamento das estatinas *per se*. É provável que a interferência na via do mevalonato possa alterar mecanismos importantes na homeostase dos sistemas de plasticidade adjacentes aos fenômenos mnemônicos, entretanto tal alteração é complexa e possivelmente transitória e adaptável. Ainda assim, mais estudos são necessários para investigar se tal efeito negativo ocorre em diferentes fases da memória e qual seria a relação entre dose e inibição da via do mevalonato com os processos de plasticidade relacionados aos fenômenos de memória.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram avaliadas como duas intervenções distintas sobre o metabolismo impactam sobre processos comportamentais e de memória. No estudo apresentado na sessão 2, avaliou-se os efeitos de DHL por curto períodos. Os resultados sugerem uma dinâmica para as repercussões metabólicas e suas consequências cognitivo-comportamentais e servem de base para futuros estudos que tenham como objetivo a compreensão mais aprofundada de como curtos períodos de dieta podem afetar as funções neurocomportamentais.

Os resultados deste capítulo estão reunidos no artigo científico: *“Short periods of a high-fat diet impact mice’s behavior, metabolism, and mitochondrial brain function.”* (Apêndice A), o qual encontra-se submetido no periódico científico: *PHYSIOLOGY & BEHAVIOR*. As observações e metodologia padronizadas neste estudo serviram de base aos seguintes trabalhos:

1. DE SOUZA, LETÍCIA; BARROS, WELLINGTON DE MEDEIROS; DE SOUZA, RAUL MARIN; DELANOGARE, ELEN; **MACHADO, ADRIANO EMANUEL**; BRAGA, SARA PEREIRA; ROSA, GIOVANA KAROLINE; NARDI, GEISSON MARCOS; RAFACHO, ALEX; SPERETTA, GUILHERME FLEURY FINA; MOREIRA, EDUARDO LUIZ GASNHAR. **Impact of different fructose concentrations on metabolic and behavioral parameters of male and female mice.** *PHYSIOLOGY & BEHAVIOR*, v. 228, p. 113187, 2021.
2. BRAGA, SARA PEREIRA; DELANOGARE, ELEN; **MACHADO, ADRIANO EMANUEL**; PREDIGER, RUI DANIEL; MOREIRA, EDUARDO LUIZ GASNHAR. **Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves**

- metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice.** BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH, v. 398, p. 112969, 2021.
3. VELOSO, IZOLENE CORRÊA; DELANOGARE, ELEN; **MACHADO, ADRIANO EMANUEL**; BRAGA, SARA PEREIRA; ROSA, GIOVANA KAROLINE; DE BEM, ANDREZA FABRO; RAFIQUE, JAMAL; SABA, SUMBAL; DA TRINDADE, ROBERTH NASCIMENTO; GALETTO, FÁBIO ZAZYKI; MOREIRA, EDUARDO LUIZ GASNHAR. **A selanylimidazopyridine (3-SePh-IP) reverses the prodepressant- and anxiogenic-like effects of a high-fat/high-fructose diet in mice.** JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACOLOGY, v. 73, p. 673-681, 2021.
4. DE SOUZA, RAUL MARIN; DE SOUZA, LETÍCIA; **MACHADO, ADRIANO EMANUEL**; DE BEM ALVES, ANA CRISTINA; RODRIGUES, FERNANDA SILVA; AGUIAR, ADERBAL S.; DOS SANTOS, ADAIR ROBERTO SOARES; DE BEM, ANDREZA FABRO; MOREIRA, EDUARDO LUIZ GASNHAR. **Behavioral, metabolic and neurochemical effects of environmental enrichment in high-fat cholesterol-enriched diet-fed mice.** BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH, v. 1, p. 10960, 2018.

No estudo apresentado na sessão 3 demonstrou-se o estado da arte dos estudos envolvendo o efeito de estatinas e aprendizagem e memória de roedores. De forma geral observou-se que tratamentos com estatinas reverteram e atenuaram prejuízos de memória observados em inúmeros modelos de insultos e patologias do sistema nervoso, principalmente devido aos efeitos pleiotrópicos neuroprotetores. Também se observou que alguns estudos apontam para prejuízos de memória e relacionou-se tais achados com repercussões negativas da diminuição da síntese de derivados da via

do mevalonato. Futuros trabalhos devem focar em compreender melhor como as estatinas podem interferir em fases específicas da memória e como a via mevalonato e seus derivados influenciam nos processos de plasticidade adjacentes ao processamento mnemônico.

5. REFERÊNCIAS

- ADELI, S. et al. Simvastatin enhances the hippocampal klotho in a rat model of streptozotocin-induced cognitive decline. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 72, p. 87–94, jan. 2017.
- ADHIKARI, A. Distributed circuits underlying anxiety. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 8, 1 abr. 2014.
- ADHYARU, B. B.; JACOBSON, T. A. **Safety and efficacy of statin therapy**. **Nature Reviews Cardiology** Nature Publishing Group, , 1 dez. 2018.
- ALBERINI, C. M. Mechanisms of memory stabilization: Are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? **Trends in Neurosciences**, v. 28, n. 1, p. 51–56, 2005.
- ANAGNOSTARAS, S. G.; GALE, G. D.; FANSELOW, M. S. Hippocampus and Contextual Fear Conditioning: Recent Controversies and Advances. v. 17, p. 8–17, 2001.
- AYUBI, E.; SAFIRI, S. Insulin resistance predicts cognitive decline: An 11-year follow-up of a nationally representative adult population sample. *diabetes care* 2017;40:751-758. **Diabetes Care**, v. 40, n. 9, p. e135, 2017.
- BARROS, D. M. Separate mechanisms for short- and long-term memory. v. 103, p. 1–11, 1999.
- BAYTAN, S. H. et al. Simvastatin Impairs Spatial Memory in Rats at a Specific Dose Level. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 214, n. 4, p. 341–349, 2008.
- BERGERON, S. et al. Beneficial effects of atorvastatin on sex-specific cognitive impairment induced by a cerebral microhaemorrhage in mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 178, n. 7, p. 1705–1721, 1 abr. 2021.
- BIRD, C. M.; BURGESS, N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 3, p. 182–194, mar. 2008.
- BLISS, T. V. P.; COLLINGRIDGE, G. L. A synaptic mechanism of memory: long-term potentiation in the hippocampus. **Nature**, v. 361, p. 31–39, 1993.
- BOLIVAR, V. J. et al. Habituation of activity in an open field: A survey of inbred strains and F 1 hybrids. **Behavior Genetics**, v. 30, n. 4, p. 285–293, 2000.
- BORRONI, M. V.; VALLBOM, A. S.; BARRANTES, F. J. The lipid habitats of neurotransmitter receptors in brain. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1858, n. 11, p. 2662–2670, 2016.

BRAGA, S. P. et al. Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice. **Behavioural Brain Research**, v. 398, n. July 2020, 2021.

BRANDEIS, R.; BRANDYS, Y.; YEHUDA, S. The Use of the Morris Water Maze in the Study of Memory and Learning. **International Journal of Neuroscience**, v. 48, n. 1–2, p. 29–69, 7 jan. 1989.

BRØNS, C. et al. Impact of short-term high-fat feeding on glucose and insulin metabolism in young healthy men. **Journal of Physiology**, v. 587, n. 10, p. 2387–2397, 2009.

CATALÃO, C. H. R. et al. Simvastatin Prevents Long-Term Cognitive Deficits in Sepsis Survivor Rats by Reducing Neuroinflammation and Neurodegeneration. **Neurotoxicity Research**, v. 38, n. 4, p. 871–886, 10 dez. 2020.

CAVALIERE, G. et al. High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 13, 12 nov. 2019.

CESTARI, V.; CASTELLANO, C. MK-801 potentiates morphine-induced impairment of memory consolidation in mice: Involvement of dopaminergic mechanisms. **Psychopharmacology**, v. 133, n. 1, p. 1–6, 1997.

CHEN, Y. et al. Correlated memory defects and hippocampal dendritic spine loss after acute stress involve corticotropin-releasing hormone signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 29, p. 13123–13128, 2010.

CHENG, A.; HOU, Y.; MATTSON, M. P. Mitochondria and neuroplasticity. **ASN neuro**, v. 2, n. 5, p. e00045, 4 out. 2010.

CHU, C. S. et al. **Use of statins and the risk of dementia and mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis.** **Scientific Reports** Nature Publishing Group, , 1 dez. 2018.

CIBI, L. Statins and their influence on brain cholesterol. p. 373–379, 2011.

CLIFTON, P. Metabolic syndrome—role of dietary fat type and quantity. **Nutrients**, v. 11, n. 7, 1 jul. 2019.

CLIMENT, E.; BENAIGES, D.; PEDRO-BOTET, J. Hydrophilic or Lipophilic Statins? **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, 20 maio 2021.

CRESCENZO, R. et al. Effect of Initial Aging and High-Fat/High-Fructose Diet on Mitochondrial Bioenergetics and Oxidative Status in Rat Brain. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 11, p. 7651–7663, 2019.

DE FELICE, F. G.; BENEDICT, C. A key role of insulin receptors in memory. **Diabetes**, v. 64, n. 11, p. 3653–3655, 2015.

DE OLIVEIRA, J. et al. Positive correlation between elevated plasma cholesterol levels and cognitive impairments in LDL receptor knockout mice: relevance of cortico-cerebral mitochondrial dysfunction and oxidative stress. **Neuroscience**, v. 197, p. 99–106, dez. 2011.

DE PAULA, G. C. et al. Hippocampal Function Is Impaired by a Short-Term High-Fat Diet in Mice: Increased Blood–Brain Barrier Permeability and Neuroinflammation as Triggering Events. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, 4 nov. 2021.

DĘBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Noradrenergic signaling in the amygdala contributes to the reconsolidation of fear memory: Treatment implications for PTSD. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1071, n. April 2018, p. 521–524, 2006.

DINICOLANTONIO, J. J.; O'KEEFE, J. H. **Good Fats versus Bad Fats: A Comparison of Fatty Acids in the Promotion of Insulin Resistance, Inflammation, and Obesity**. [s.l: s.n.].

DON-DONCOW, N. et al. Simvastatin therapy attenuates memory deficits that associate with brain monocyte infiltration in chronic hypercholesterolemia. **npj Aging and Mechanisms of Disease**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2021.

ECCLES, J. C. COMMENTARY CALCIUM IN LONG-TERM POTENTIATION AS A MODEL FOR MEMORY. v. 10, 1983.

EDWARDS, J. E.; MOORE, A. **Statins in hypercholesterolaemia: A dose-specific meta-analysis of lipid changes in randomised, double blind trials**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2296/4/18>>.

EDWARDS, L. M. et al. Short-term consumption of a high-fat diet impairs whole-body efficiency and cognitive function in sedentary men. **The FASEB Journal**, v. 25, n. 3, p. 1088–1096, 2011.

EDWARDSON, C. L. et al. Association of sedentary behaviour with metabolic syndrome: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. 3–7, 2012.

EISINGER, K. et al. Lipidomic analysis of serum from high fat diet induced obese mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 2, p. 2991–3002, 2014.

EL-DESSOUKI, A. M. et al. Neuroprotective Effects of Simvastatin and Cilostazol in L-Methionine-Induced Vascular Dementia in Rats. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 5074–5084, 20 set. 2017.

ENGERT, F.; BONHOEFFER, T. Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. **Nature (London)**, v. 399, n. 6731, p. 66–70, 1999.

ENGIN, A. B.; ENGIN, A. Obesity and Lipotoxicity. v. 960, 2017.

FELBER, J. P.; GOLAY, A. Pathways from obesity to diabetes. **International Journal of Obesity**, v. 26, p. S39–S45, 2002.

FLAVELL, C. Behavioural memory reconsolidation of food and fear memories. n. August, 2017.

GAINEY, S. J. et al. Short-term high-fat diet (HFD) induced anxiety-like behaviors and cognitive impairment are improved with treatment by glyburide. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 10, n. AUG, p. 1–12, 2016.

GELINEAU, R. R. et al. The behavioral and physiological effects of high-fat diet and alcohol consumption: Sex differences in C57BL6/J mice. **Brain and Behavior**, v. 7, n. 6, p. 1–17, 2017.

GEPSTEIN, V.; WEISS, R. Obesity as the Main Risk Factor for Metabolic Syndrome in Children. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, n. August, p. 1–7, 2019.

GHODKE, R. M.; TOUR, N.; DEVI, K. Effects of statins and cholesterol on memory functions in mice. **Metabolic Brain Disease**, v. 27, n. 4, p. 443–451, 2012.

GIESE, K. P. et al. Hippocampus-dependent learning and memory is impaired in mice lacking the Ras-guanine-nucleotide releasing factor 1 (Ras-GRF1). **Neuropharmacology**, v. 41, n. 6, p. 791–800, 2001.

GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. Regulation of the mevalonate pathway. **Nature**, v. 343, n. 6257, p. 425–430, 1990.

GOMEZ-PINILLA, F.; TYAGI, E. Diet and cognition: interplay between cell metabolism and neuronal plasticity. [s.d.].

GREEN, R. C. et al. Statin use and the risk of Alzheimer's disease: The MIRAGE Study. **Alzheimer's and Dementia**, v. 2, n. 2, p. 96–103, abr. 2006.

GREENWOOD, C. E.; WINOCUR, G. **High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function**. Neurobiology of Aging. **Anais...Elsevier Inc.**, 2005.

GUAY, V. et al. Effect of short-term low- and high-fat diets on low-density lipoprotein particle size in normolipidemic subjects. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 61, n. 1, p. 76–83, 2012.

GUO, Y. et al. Simvastatin impairs hippocampal synaptic plasticity and cognitive function in mice. **Molecular Brain**, v. 14, n. 1, p. 41, 24 dez. 2021.

HAASE, J. et al. Local proliferation of macrophages in adipose tissue during obesity-induced inflammation. **Diabetologia**, v. 57, n. 3, p. 562–571, 2014.

HAUSMAN, D. B. et al. The biology of white adipocyte proliferation. **Obesity Reviews**, v. 2, n. 4, p. 239–254, 2001.

HELL, J. W. How Ca²⁺-permeable AMPA receptors, the kinase PKA, and the phosphatase PP2B are intertwined in synaptic LTP and LTD. **Science Signaling**, v. 9, n. 425, p. 1–4, 2016.

HENLEY, J. M.; WILKINSON, K. A. AMPA receptor trafficking and the mechanisms underlying synaptic plasticity and cognitive aging. p. 11–27, 2013.

HERING, H.; LIN, C.; SHENG, M. Lipid rafts in the maintenance of synapses, dendritic spines, and surface AMPA receptor stability. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 8, p. 3262–3271, 2003.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 860–867, 2006.

HRIBAL, M. L.; ORIENTE, F.; ACCILI, D. Mouse models of insulin resistance. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 282, n. 5 45-5, 2002.

HU, X. et al. Simvastatin inhibits the apoptosis of hippocampal cells in a mouse model of Alzheimer's disease. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 15, n. 2, p. 1795–1802, 1 fev. 2018.

HUANG, C. C. et al. Diabetes mellitus and the risk of Alzheimer's disease: A nationwide population-based study. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, 2014.

IKEMOTO, S. et al. High fat diet-induced hyperglycemia: Prevention by low level expression of a glucose transporter (GLUT4) minigene in transgenic mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 8, p. 3096–3099, 1995.

IZQUIERDO, I. et al. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. **Trends in Neurosciences**, v. 29, n. 9, p. 496–505, 2006.

IZQUIERDO, I.; FURINI, C. R. G.; MYSKIW, J. C. Fear Memory. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 2, p. 695 LP – 750, 2016.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory Formation: The Sequence of Biochemical Events in the Hippocampus and Its Connection to Activity in Other Brain Structures. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 68, n. 3, p. 285–316, 1997.

JAFARI, M. et al. Simvastatin attenuates spatial memory impairment via inhibiting microgliosis and apoptotic cell death against ethanol induced neurotoxicity in the developing rat hippocampus. **Brain Research**, v. 1758, 1 maio 2021.

JASTROCH, M. et al. Mitochondrial proton and electron leaks. **Essays in Biochemistry**, v. 47, p. 53–67, 14 jun. 2010.

JEONG, S. H. et al. Effects of statins on dopamine loss and prognosis in Parkinson's disease. **Brain**, v. 144, n. 10, p. 3191–3200, 29 nov. 2021a.

JEONG, S. M. et al. Association between statin use and Alzheimer's disease with dose response relationship. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021b.

JIN, H. et al. Dose-Dependent Neuroprotection and Neurotoxicity of Simvastatin through Reduction of Farnesyl Pyrophosphate in Mice Treated with Intracerebroventricular Injection of A β 1-42. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 50, n. 2, p. 501–516, 6 jan. 2016.

JO, J. et al. Hypertrophy and/or hyperplasia: Dynamics of adipose tissue growth. **PLoS Computational Biology**, v. 5, n. 3, 2009.

JUKEMA, R. A.; AHMED, T. A. N.; TARDIF, J. C. Does low-density lipoprotein cholesterol induce inflammation? if so, does it matter? Current insights and future perspectives for novel therapies. **BMC Medicine**, v. 17, n. 1, 1 nov. 2019.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. Review The Molecular and Systems Biology of Memory. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 163–186, 2014.

KANN, O.; KOVÁCS, R. Mitochondria and neuronal activity. **American journal of physiology. Cell physiology**, v. 292, n. 2, p. C641-57, fev. 2007.

KHAZEN, T. et al. Acute exposure to a high-fat diet in juvenile male rats disrupts hippocampal-dependent memory and plasticity through glucocorticoids. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

KIM, B.; FELDMAN, E. L. Insulin resistance as a key link for the increased risk of cognitive impairment in the metabolic syndrome. **Experimental & molecular medicine**, v. 47, n. November 2014, p. e149, 2015.

KIVIPELTO, M.; SOLOMON, A. Cholesterol as a risk factor for Alzheimer ' s disease – epidemiological evidence. v. 114, p. 50–57, 2006.

KLOP, B.; ELTE, J. W. F.; CABEZAS, M. C. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1218–1240, 2013.

KOLADIYA, R. U. et al. Ameliorative role of Atorvastatin and Pitavastatin in L-Methionine induced vascular dementia in rats. **BMC Pharmacology**, v. 8, n. 1, p. 14, 9 dez. 2008.

KORADE, Z. et al. Expression and p75 neurotrophin receptor dependence of cholesterol synthetic enzymes in adult mouse brain. **Neurobiology of Aging**, v. 28, n. 10, p. 1522–1531, 2007.

KORADE, Ž.; KENWORTHY, A. K.; MIRNICS, K. Molecular consequences of altered neuronal cholesterol biosynthesis. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 4, p. 866–875, 2009.

KORINEK, M. et al. Cholesterol modulates open probability and desensitization of NMDA receptors. **The Journal of Physiology**, v. 593, n. 10, p. 2279–2293, 15 maio 2015.

KOTTI, T. J. et al. **Brain cholesterol turnover required for geranylgeraniol production and learning in mice.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0600316103>.

LEE, S. H. et al. Insulin in the nervous system and the mind: Functions in metabolism, memory, and mood. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 8, p. 589–601, 2016.

LEE, Y. S. et al. Inflammation is necessary for long-term but not short-term high-fat diet-induced insulin resistance. **Diabetes**, v. 60, n. 10, p. 2474–2483, 2011.

LENNERNAS, H.; FAGER, G. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. Similarities and differences. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 32, n. 0312-5963 (Print), p. 403–425, 1997.

LEUNER BENEDETTA; FALDUTO JACQUELINE; SHORS TRACEY J. Associative Memory Formation Increases the Observation of Dendritic Spines in the Hippocampus. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 2, p. 659–665, 2003.

LEVITAN, I.; SINGH, D. K.; ROSENHOUSE-DANTSKER, A. Cholesterol binding to ion channels. **Frontiers in Physiology**, v. 5, 2014.

LI, L. et al. A high cholesterol diet ameliorates hippocampus-related cognitive and pathological deficits in ovariectomized mice. **Behavioural Brain Research**, v. 230, n. 1, p. 251–258, 2012a.

LI, L. et al. Isoprenoids and Related Pharmacological Interventions: Potential Application in Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 46, n. 1, p. 64–77, 15 ago. 2012b.

LIAO, J. K.; LAUFS, U. Pleiotropic Effects of Statins. **Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, n. 8, p. 89–118, 2009.

LIU, H. et al. Moderate- and Low-Dose of Atorvastatin Alleviate Cognition Impairment Induced by High-Fat Diet via Sirt1 Activation. **Neurochemical Research**, v. 44, n. 5, p. 1065–1078, 28 maio 2019.

LIU, W. et al. Simvastatin ameliorates cognitive impairments via inhibition of oxidative stress-induced apoptosis of hippocampal cells through the ERK/AKT signaling pathway in a rat model of senile dementia. **Molecular Medicine Reports**, 16 nov. 2017.

LUTSEY, P. L.; STEFFEN, L. M.; STEVENS, J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: The atherosclerosis risk in communities study. **Circulation**, v. 117, n. 6, p. 754–761, 2008.

LUTZ, T.; WOODS, S. Overview of Animal Models of Obesity. **Neuroscience**, p. 1–20, 2007.

MA, L.; WANG, J.; LI, Y. Insulin resistance and cognitive dysfunction. **Clinica Chimica Acta**, v. 444, p. 18–23, 2015.

MA'AYAN, A. Complex systems biology. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 14, n. 134, 2017.

MACHADO, A. E. et al. Hypercholesterolemia impairs contextual fear conditioning memory formation in female mice: Evidence for cholinergic dysfunction. **NeuroReport**, v. 29, n. 13, p. 1140–1143, 2018.

MAGGO, S.; ASHTON, J. C. Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on learning and memory in the guinea pig. **European Journal of Pharmacology**, v. 723, p. 294–304, jan. 2014.

MAGGO, S.; CLARK, D.; ASHTON, J. C. The effect of statins on performance in the Morris water maze in guinea pig. **European Journal of Pharmacology**, v. 674, n. 2–3, p. 287–293, jan. 2012.

MALHEIROS, R. T. et al. Mood disorders are associated with the reduction of brain derived neurotrophic factor in the hippocampus in rats submitted to the hipercaloric diet. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 1, p. 145–151, 2021.

MALOMO, K.; NTLHOLANG, O. The evolution of obesity: from evolutionary advantage to a disease. **Biomedical Research and Clinical Practice**, v. 3, n. 2, p. 1–5, 2018.

MANCINI, G. et al. **A high fat/cholesterol diet recapitulates some alzheimer's disease-like features in mice: Focus on hippocampal mitochondrial dysfunction.** **Journal of Alzheimer's Disease** IOS Press BV, , 2021.

MARSHALL, J. A.; BESSESEN, D. H. Dietary fat and the development of type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 25, n. 3, p. 620–622, 2002.

MARTIN, S. J.; CLARK, R. E. The rodent hippocampus and spatial memory: from synapses to systems. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 4, p. 401–431, 26 fev. 2007.

MARTIN, S. J.; GRIMWOOD, P. D.; MORRIS, R. G. M. SYNAPTIC PLASTICITY AND MEMORY : An Evaluation of the Hypothesis. n. Hebb 1949, p. 649–711, 2000.

MARTINS, W. C. et al. Atorvastatin Prevents Cognitive Deficits Induced by Intracerebroventricular Amyloid- β 1–40 Administration in Mice: Involvement of Glutamatergic and Antioxidant Systems. **Neurotoxicity Research**, v. 28, n. 1, p. 32–42, 1 jul. 2015.

MASSAAD, C. A.; KLANN, E. Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 14, n. 10, p. 2013–2054, 2011a.

MASSAAD, C.; KLANN, E. Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. **Antioxidants & redox signaling**, v. 14, n. 10, p. 2013–2054, 2011b.

MCGUINNESS, B. et al. Statins for the prevention of dementia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2016, n. 1, 4 jan. 2016.

MCLEAN, F. H. et al. Rapid and reversible impairment of episodic memory by a high-fat diet in mice. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigitel Brasil 2019**. [s.l: s.n.].

MITCHELL, N. CATENACCI, V. WYATT, HR. HILL, JO. OBESITY: OVERVIEW OF AN EPIDEMIC. v. 34, n. 4, p. 717–732, 2011.

MOREIRA, E. L. G. et al. Hypercholesterolemia induces short-term spatial memory impairments in mice: Up-regulation of acetylcholinesterase activity as an early and causal event? **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 4, p. 415–426, 2014.

MORICI, J. F.; BEKINSCHTEIN, P.; WEISSTAUB, N. V. Medial prefrontal cortex role in recognition memory in rodents. **Behavioural Brain Research**, v. 292, p. 241–251, out. 2015.

MOUTINHO, M.; NUNES, M. J.; RODRIGUES, E. **The mevalonate pathway in neurons: It's not just about cholesterol**. **Experimental Cell Research** Elsevier Inc., , 1 nov. 2017.

NAKANDAKARI, S. C. B. R. et al. Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 79, n. February, p. 284–293, 2019.

NANDIPATI, K. C.; SUBRAMANIAN, S.; AGRAWAL, D. K. Protein kinases: mechanisms and downstream targets in inflammation-mediated obesity and insulin resistance. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 426, n. 1–2, p. 27–45, 2017.

NEERGAARD, J. S. et al. Metabolic syndrome, insulin resistance, and cognitive dysfunction: Does your metabolic profile affect your brain? **Diabetes**, v. 66, n. 7, p. 1957–1963, 2017.

NORONHA, S. S. R. et al. Association of high-fat diet with neuroinflammation, anxiety-like defensive behavioral responses, and altered thermoregulatory responses in male rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 80, n. February, p. 500–511, 2019.

NOUSEN, E. K.; FRANCO, J. G.; SULLIVAN, E. L. Unraveling the mechanisms responsible for the comorbidity between metabolic syndrome and mental health disorders. **Neuroendocrinology**, v. 98, n. 4, p. 254–266, 2014.

OKUDAN, N.; BELVIRANLI, M. High dose simvastatin and rosuvastatin impair cognitive abilities of healthy rats via decreasing hippocampal neurotrophins and irisin. **Brain Research Bulletin**, v. 165, p. 81–89, dez. 2020.

OMAR, B.; PACINI, G.; AHRÉN, B. Differential development of glucose intolerance and pancreatic islet adaptation in multiple diet induced obesity models. **Nutrients**, v. 4, n. 10, p. 1367–1381, 2012.

PANZA, F. et al. Metabolic syndrome and cognitive impairment: Current epidemiology and possible underlying mechanisms. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 21, n. 3, p. 691–724, 2010.

PFRIEGER, F. W.; UNGERER, N. Cholesterol metabolism in neurons and astrocytes. **Progress in Lipid Research**, v. 50, n. 4, p. 357–371, 2011.

PHILLIPS, R. G.; LEDOUX, J. E. Differential Contribution of Amygdala and Hippocampus to Cued and Contextual Fear Conditioning. *v. 106, n. 2, p. 274–285, 1992.*

PICARD, M.; MCEWEN, B. S. Mitochondria impact brain function and cognition. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, *v. 111, n. 1, p. 7–8, 7 jan. 2014.*

PICOLO, V. L. et al. Short-term high-fat diet induces cognitive decline, aggression, and anxiety-like behavior in adult zebrafish. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, *v. 110, n. September 2020, p. 110288, 2021.*

PIERMARTIRI, T. C. B. et al. Atorvastatin prevents hippocampal cell death, neuroinflammation and oxidative stress following amyloid- β 1–40 administration in mice: Evidence for dissociation between cognitive deficits and neuronal damage. **Experimental Neurology**, *v. 226, n. 2, p. 274–284, dez. 2010.*

PINI, R. T. B. et al. Effects of cafeteria diet and high fat diet intake on anxiety, learning and memory in adult male rats. **Nutritional Neuroscience**, *v. 20, n. 7, p. 396–408, 2017.*

PINTANA, H. et al. Effects of metformin on learning and memory behaviors and brain mitochondrial functions in high fat diet induced insulin resistant rats. **Life Sciences**, *v. 91, n. 11–12, p. 409–414, 2012.*

PISTELL, P. J. et al. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. **Journal of Neuroimmunology**, *v. 219, n. 1–2, p. 25–32, fev. 2010.*

POLY, T. N. et al. Association between Use of Statin and Risk of Dementia: A Meta-Analysis of Observational Studies. **Neuroepidemiology**, *v. 54, n. 3, p. 214–226, 2020.*

POO, M.-M. et al. What is memory? The present state of the engram. **BMC Biology**, *v. 14, n. 1, p. 40, 2016.*

POPA-WAGNER, A. et al. **Dietary habits, lifestyle factors and neurodegenerative diseases. Neural Regeneration Research** Wolters Kluwer Medknow Publications, , 1 mar. 2020.

PRUT, L. et al. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors : a review. *v. 463, p. 3–33, 2003.*

RAMIREZ, C. et al. ApoB100/LDLR-/- Hypercholesterolaemic mice as a model for mild cognitive impairment and neuronal damage. **PLoS ONE**, *v. 6, n. 7, 2011.*

RODRÍGUEZ-CORREA, E. et al. Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice? **Nutrition and Diabetes**, *v. 10, n. 1, 2020.*

SAMUEL, V. T.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. **The Lancet**, *v. 375, n. 9733, p. 2267–2277, 2010.*

- SCHILLING, J. M. et al. Long-term atorvastatin treatment leads to alterations in behavior, cognition, and hippocampal biochemistry. **Behavioural brain research**, v. 267, p. 6–11, 1 jul. 2014.
- SCHREURS, B. G. The effects of cholesterol on learning and memory. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 34, n. 8, p. 1366–1379, 2010.
- SCHULTZ, B. G.; PATTEN, D. K.; BERLAU, D. J. The role of statins in both cognitive impairment and protection against dementia: a tale of two mechanisms. **Translational neurodegeneration**, v. 7, p. 5, 2018.
- SCHWECHTER, B.; TOLIAS, K. F. Cytoskeletal mechanisms for synaptic potentiation. p. 1–3, 2013.
- SEGATTO, M. et al. Simvastatin Treatment Highlights a New Role for the Isoprenoid/Cholesterol Biosynthetic Pathway in the Modulation of Emotional Reactivity and Cognitive Performance in Rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 4, p. 841–854, 10 mar. 2014.
- SEIBENHENER, M. L.; WOOTEN, M. C. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 96, p. 1–6, 2015.
- SHAH, N. P.; SWIGER, K. J.; MARTIN, S. S. Impact on Cognitive Function—Are All Statins the Same? **Current Atherosclerosis Reports**, v. 17, n. 1, p. 466, 15 jan. 2015.
- SHAPIRO, M. L.; CARAMANOS, Z. NMDA antagonist MK-801 impairs acquisition but not performance of spatial working and reference memory. **Psychobiology**, v. 18, n. 2, p. 231–243, 1990.
- SHI, J. et al. **Cytokines and Abnormal Glucose and Lipid Metabolism. Frontiers in Endocrinology** Frontiers Media S.A., , 30 out. 2019.
- SKILTON, M. R. et al. Associations Between Anxiety, Depression, and the Metabolic Syndrome. **Biological Psychiatry**, v. 62, n. 11, p. 1251–1257, 2007.
- SOLMAZ, V.; ATASOY, Ö.; ERBAŞ, O. Atorvastatin has therapeutic potential for the fatty liver-induced memory dysfunction in rats, likely via its antioxidant and anti-inflammatory properties. **Neurological Research**, v. 42, n. 6, p. 497–503, 2 jun. 2020.
- SOLTIS, A. R. et al. Hepatic Dysfunction Caused by Consumption of a High-Fat Diet. **Cell Reports**, v. 21, n. 11, p. 3317–3328, 12 dez. 2017.
- SPARKS, L. M. et al. Required for Mitochondrial Oxidative Phosphorylation in Skeletal Muscle. **Oligonucleotides**, v. 54, n. July, 2005.
- STANCU, C.; SIMA, A. Statins: mechanism of action and effects. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 5, n. 4, p. 378–387, out. 2001.
- STROM, B. L. et al. Statin Therapy and Risk of Acute Memory Impairment. **JAMA Internal Medicine**, v. 175, n. 8, p. 1399, 2015a.

STROM, B. L. et al. Statin Therapy and Risk of Acute Memory Impairment. **JAMA internal medicine**, v. 175, n. 8, p. 1399–405, ago. 2015b.

STUART, S. A. et al. Chronic Pravastatin but Not Atorvastatin Treatment Impairs Cognitive Function in Two Rodent Models of Learning and Memory. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. e75467, 10 set. 2013.

TADA, T.; SHENG, M. Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 16, n. 1, p. 95–101, 2006.

THIRUMANGALAKUDI, L. et al. High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. **Journal of Neurochemistry**, v. 106, n. 1, p. 475–485, 2008.

TIAN, J. et al. Atorvastatin Relieves Cognitive Disorder After Sepsis Through Reverting Inflammatory Cytokines, Oxidative Stress, and Neuronal Apoptosis in Hippocampus. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 40, n. 4, p. 521–530, 6 maio 2020.

TONI, N. et al. LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. **Nature**, v. 402, n. November, p. 421–425, 1999.

TRAN, D. M. D.; WESTBROOK, R. F. A high-fat high-sugar diet-induced impairment in place-recognition memory is reversible and training-dependent. **Appetite**, v. 110, p. 61–71, 2017.

TRIGIANI, L. J. et al. Comparative benefits of simvastatin and exercise in a mouse model of vascular cognitive impairment and dementia. **FASEB Journal**, v. 33, n. 12, p. 13280–13293, 1 dez. 2019.

TRONSON, N.; TAYLOR, J. R. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 8, n. April, p. 262–275, 2007.

TYLER, W. J. et al. From Acquisition to Consolidation : On the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling in Hippocampal-Dependent Learning From Acquisition to Consolidation : On the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling in Hippocampal-Dependent Learning. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 9, n. 5, p. 224–37, 2002.

VALLADOLID-ACEBES, I. et al. High-fat diets impair spatial learning in the radial-arm maze in mice. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 95, n. 1, p. 80–85, 2011.

VAN DER STAAY, F. J. et al. Effects of the cognition impairer MK-801 on learning and memory in mice and rats. **Behavioural Brain Research**, v. 220, n. 1, p. 215–229, 2011.

VANDRESEN-FILHO, S. et al. Statins enhance cognitive performance in object location test in albino Swiss mice: Involvement of beta-adrenoceptors. **Physiology & Behavior**, v. 143, p. 27–34, maio 2015.

VANHANEN, M. et al. Association of metabolic syndrome with Alzheimer disease: A population-based study. **Neurology**, v. 67, n. 5, p. 843–847, 2006.

- VIAL, G. et al. Effects of a high-fat diet on energy metabolism and ROS production in rat liver. **Journal of Hepatology**, v. 54, n. 2, p. 348–356, 2011.
- VOGEL-CIERNIA, A.; WOOD, M. A. Examining object location and object recognition memory in mice. **Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]**, v. 69, n. 1–2, p. 8.31.1-17, 2014.
- VORHEES, C. V; WILLIAMS, M. T. Forms of Learning and Memory. **Nat Protocols**, v. 1, n. 2, p. 848–858, 2006.
- WAGSTAFF, L. R. et al. Statin-Associated Memory Loss: Analysis of 60 Case Reports and Review of the Literature. **Pharmacotherapy**, v. 23, n. 7, p. 871–880, jul. 2003.
- WALI, J. A. et al. **Cardio-metabolic effects of high-fat diets and their underlying mechanisms—a narrative review**. **NutrientsMDPI AG**, , 1 maio 2020.
- WANG, Q. et al. Chronic treatment with simvastatin upregulates muscarinic M1/4 receptor binding in the rat brain. **Neuroscience**, v. 154, n. 3, p. 1100–1106, 2008.
- WANG, Q. et al. Simvastatin reverses the downregulation of M1/4 receptor binding in 6-hydroxydopamine-induced parkinsonian rats: The association with improvements in long-term memory. **Neuroscience**, v. 267, p. 57–66, maio 2014.
- WANG, S. et al. Atorvastatin Attenuates Cognitive Deficits and Neuroinflammation Induced by A β 1–42 Involving Modulation of TLR4/TRAF6/NF- κ B Pathway. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 64, n. 3, p. 363–373, 7 mar. 2018.
- WANG, Z. et al. Impairment of Long-term Memory by a Short-term High-fat Diet via Hippocampal Oxidative Stress and Alterations in Synaptic Plasticity. **Neuroscience**, v. 424, p. 24–33, 2020.
- WATSON, L. S. et al. High-Fat Diet Impairs Tactile Discrimination Memory in the Mouse. **Behavioural Brain Research**, v. 382, n. January, p. 112454, 2020.
- WELLS, J. C. K. The evolution of human adiposity and obesity: Where did it all go wrong? **DMM Disease Models and Mechanisms**, v. 5, n. 5, p. 595–607, 2012.
- WONG, C. K. et al. A high-fat diet rich in corn oil reduces spontaneous locomotor activity and induces insulin resistance in mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 319–326, 2015.
- WOOD, W. G. et al. **Statins and neuroprotection: A prescription to move the field forward**. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **Anais...**Blackwell Publishing Inc., 2010.
- WU, H. et al. Normal diet Vs High fat diet -A comparative study: Behavioral and neuroimmunological changes in adolescent male mice. Abbreviations BDNF Brain derived neurotrophic factor BMI Body mass index CREB cAMP-response element binding IPGTT Intraperitoneal glucose. **Metab Brain Dis**, v. 33, p. 177–190, 2018.

XU, W. L. et al. Uncontrolled diabetes increases the risk of Alzheimer's disease: A population-based cohort study. **Diabetologia**, v. 52, n. 6, p. 1031–1039, 2009.

YATES, K. F. et al. Impact of Metabolic Syndrome on Cognition and Brain: A Selected Review of the Literature. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 32, n. 9, p. 2060–2067, 2012.

YU, H.-L. et al. The effects of phytosterol supplementation on serum LDL-C levels and learning ability in mice fed a high-fat, high-energy diet from gestation onward. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 64, n. 6, p. 724–9, 2013.

YUZEFOVYCH, L. V. et al. Mitochondrial DNA Damage and Dysfunction, and Oxidative Stress Are Associated with Endoplasmic Reticulum Stress, Protein Degradation and Apoptosis in High Fat Diet-Induced Insulin Resistance Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, 2013.

ZEMDEGS, J. et al. High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice. **British Journal of Pharmacology**, p. 2095–2110, 2016.

ZHANG, F. L.; CASEY, P. J. Protein Prenylation: Molecular Mechanisms and Functional Consequences. **Annual Review of Biochemistry**, v. 65, n. 1, p. 241–269, 1996.

ZHAO, R. et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, 8 maio 2019.

ZHOU, Q.; LIAO, J. K. **Statins and Cardiovascular Diseases: From Cholesterol Lowering to Pleiotropy**. [s.l: s.n.].

ZHU, J. J. et al. Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. **Cell**, v. 110, n. 4, p. 443–455, 2002.