



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**BRUNA GERRITS MATTOS**

**ANÁLISE DOS PERFIS METABÓLICO, MORFOMÉTRICO HEPÁTICO,  
ELETROCORTICOGRÁFICO E COMPORTAMENTAL DE RATAS TRATADAS  
COM REPOSIÇÃO HORMONAL DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL APÓS MENOPAUSA  
CIRÚRGICA**

**BELÉM-PA**

**2023**

**BRUNA GERRITS MATTOS (201809740023)**

**ANÁLISE DOS PERFIS METABÓLICO, MORFOMÉTRICO HEPÁTICO,  
ELETROCORTICOGRÁFICO E COMPORTAMENTAL DE RATAS TRATADAS  
COM REPOSIÇÃO HORMONAL DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL APÓS MENOPAUSA  
CIRÚRGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Pará, como requisito final para a obtenção do grau em Medicina.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo

**BELÉM-PA**

**2023**

**BRUNA GERRITS MATTOS**

**ANÁLISE DOS PERFIS METABÓLICO, MORFOMÉTRICO HEPÁTICO,  
ELETROCORTICOGRÁFICO E COMPORTAMENTAL DE RATAS TRATADAS  
COM REPOSIÇÃO HORMONAL DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL APÓS MENOPAUSA  
CIRÚRGICA**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina da Universidade  
Federal do Pará para obtenção do grau em Medicina.**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo/ UFPA

---

Prof. Dr. Moisés Hamoy/ UFPA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Consentino Kronka Sosthenes/ UFPA

**Aprovado em:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**Conceito:** \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

Chegou o momento de expressar minha gratidão a todos que tornaram possível a conclusão deste trabalho, um passo importante na minha jornada acadêmica.

Primariamente, gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo. Sua orientação cuidadosa, paciência e comprometimento foram fundamentais para o sucesso deste projeto. Seu conhecimento e apoio constantes me guiaram ao longo de todas as etapas deste trabalho, desde a concepção até a conclusão. Agradeço por sua dedicação e inspiração.

Também quero agradecer aos meus colegas de laboratório, cuja colaboração e amizade tornaram esta jornada acadêmica ainda mais significativa. Juntos, enfrentamos desafios, compartilhamos ideias e aprendemos uns com os outros. Essa troca constante de conhecimento foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

Além disso, agradeço profundamente ao Prof. Dr. Moisés Hamoy, que, além de ser membro da banca deste trabalho, contribuiu de maneira essencial para a realização deste projeto, bem como para a minha formação como profissional e como pessoa crítica e humanizada. Ainda, gostaria de declarar minha gratidão à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Márcia Consentino Kronka Sosthenes, não apenas por ter aceitado compor a banca do presente trabalho de conclusão de curso, mas também por ter agregado imensamente à construção da minha base de conhecimentos acadêmicos.

Aos meus colegas de curso, que compartilharam os altos e baixos dessa jornada acadêmica, meu agradecimento sincero. Suas amizades e apoio emocional me incentivaram a persistir mesmo nos momentos mais desafiadores.

Não posso deixar de mencionar meu namorado, meus amigos e familiares, que sempre estiveram ao meu lado, oferecendo seu amor, compreensão e encorajamento. Vocês foram meu alicerce durante todo esse processo.

Por fim, quero expressar minha gratidão à instituição de ensino, por proporcionar um ambiente propício ao aprendizado e à pesquisa.

Este trabalho não teria sido possível sem o apoio e a contribuição de todos vocês. Sinto-me verdadeiramente abençoada por ter pessoas tão incríveis ao meu lado durante esta jornada acadêmica.

Obrigada a todos!

## RESUMO

A perimenopausa é o período de transição para menopausa, que, por sua vez, marca o fim do período reprodutivo feminino. Nesta etapa, há diminuição sérica importante de  $17\beta$ -estradiol (E2), acarretando impactos cognitivocomportamentais, metabólicos e bioquímicos que tendem a melhorar com a terapia de reposição hormonal com E2. Destarte, este trabalho objetiva ampliar o entendimento do papel da deprivação e da reposição de E2 frente à perimenopausa de ratas após menopausa cirúrgica, através de uma análise multimodal. Para isso, 68 ratas Wistar adultas ( $200 \pm 20$ g e 8 semanas de idade) foram sujeitas à ooforectomia bilateral ou à cirurgia *sham*, e divididas em 4 grupos: a) não castrada + veículo (NC + V), b) castrada + veículo (C + V), c) castrada + fluoxetina (C + FXT) e d) castrada +  $17\beta$ -estradiol (C + E2). O experimento foi dividido em duas etapas, sendo o tratamento iniciado 15 dias após as cirurgias e com duração de 28 dias. Animais veículo receberam 200  $\mu$ L/dia de óleo de amendoim; aqueles do grupo FXT receberam 5 mg/kg/dia de fluoxetina e o grupo C + E2, 20  $\mu$ g/dia de E2. Ao final do tratamento, os animais foram divididos em dois grupos, o primeiro destinado à análise eletrocorticográfica (ECoG) e o segundo grupo direcionado para as análises de: variação de massa e ingesta de ração, bioquímica, morfometria hepática e comportamento (labirinto em cruz elevado e teste do *splash*). Na ECoG, a deprivação hormonal aumentou o poder de onda delta e somente o tratamento com FXT reverteu este evento. A castração também induziu a redução de oscilações teta em comparação com o grupo intacto e somente a FXT foi capaz de reverter o quadro, mas o E2 promoveu melhora. A deprivação hormonal induziu diminuição de disparos de onda alfa, que não foi revertido pelos tratamentos. Quanto à variação de massa, ao fim do experimento, a reposição hormonal gerou menor ganho de peso em relação aos demais grupos, mesmo sem ter diminuído a ingesta de ração. Ainda, a reposição de E2 aumentou o perfil lipídico (exceto HDL) e o índice hepático em relação aos demais grupos. No comportamento, apenas o tempo de *grooming* foi diferente, onde os animais em deprivação hormonal passaram menos tempo se limpando que os intactos e nenhum tratamento exerceu efeito sobre esse parâmetro. Nesse sentido, sugerimos que a ooforectomia foi efetiva em causar o comportamento semelhante ao apático, possivelmente atrelado a alterações cognitivas, e que os tratamentos com FXT e E2 mostraram-se promissores na avaliação da ECoG, mas não na modulação do comportamento. Além disso, propomos mais estudos para elucidar as alterações que a terapia de reposição hormonal com E2 causou na bioquímica e na avaliação morfométrica hepática, bem como para avaliar de maneira mais direcionada a cognição dos animais.

**Palavras-chaves:** Perimenopausa;  $17\beta$ -estradiol; Terapia de reposição hormonal; Bioquímica; Eletrocorticografia; Apatia.

## ABSTRACT

Perimenopause is the transition period to menopause, which, in turn, marks the end of the female reproductive period. During this stage, there is a significant decrease in serum  $17\beta$ -estradiol (E2), leading to cognitive, behavioral, metabolic, and biochemical impacts that tend to improve with E2 hormone replacement therapy. Thus, this study aims to enhance the understanding of the role of E2 deprivation and replacement in the face of perimenopause in surgically induced menopausal rats through a multimodal analysis. To accomplish this, 68 adult Wistar rats ( $200 \pm 20$ g and 8 weeks of age) underwent bilateral oophorectomy or sham surgery and were divided into four groups: a) non castrated + vehicle (NC + V), b) castrated + vehicle (C + V), c) castrated + fluoxetine (C + FXT), and d) castrated +  $17\beta$ -estradiol (C + E2). The experiment was divided into two stages, with treatment initiated 15 days after the surgeries and lasting for 28 days. Vehicle animals received 200  $\mu$ L/day of peanut oil; those in the FXT group received 5 mg/kg/day of fluoxetine, and the C + E2 group received 20  $\mu$ g/day of E2. At the end of the treatment, the animals were divided into two groups, the first for electrocorticographic (ECoG) analysis, and the second group for mass variation, food intake, biochemical, liver morphometry, and behavioral analyses (elevated plus-maze and splash test). In ECoG, hormonal deprivation increased delta wave power, and only the FXT treatment reversed this effect. Castration also induced a reduction in theta oscillations compared to the intact group, and only FXT was able to reverse this, although E2 promoted improvement. Hormonal deprivation led to a decrease in alpha wave firing, which was not reversed by the treatments. Regarding mass variation, at the end of the experiment, hormonal replacement resulted in less weight gain compared to the other groups, even without a decrease in food intake. Furthermore, E2 replacement increased the lipid profile (except for HDL) and the hepatic index compared to the other groups. In terms of behavior, only grooming time was different, with hormonally deprived animals spending less time grooming than intact ones, and no treatment had an effect on this parameter. In this regard, we suggest that oophorectomy was effective in inducing behavior similar to apathy, possibly linked to cognitive changes, and that treatments with FXT and E2 showed promise in ECoG evaluation but not in behavior modulation. Furthermore, we propose further studies to elucidate the changes caused by E2 hormone replacement therapy in biochemistry and hepatic morphometric evaluation, as well as a more targeted assessment of animal cognition.

**Keywords:** Perimenopause;  $17\beta$ -estradiol; Hormone replacement therapy; Biochemistry; Electroencephalography; Apathy.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
1.1. HIPÓTESES.....	10
OBJETIVOS.....	10
<b>Objetivo geral.....</b>	<b>10</b>
<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>10</b>
JUSTIFICATIVA.....	11
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
3.1. TIPO DE PESQUISA.....	16
3.2. LOCAL.....	16
3.3. ANIMAIS.....	16
3.4. DESENHO EXPERIMENTAL.....	16
3.5. OOFORECTOMIA.....	17
3.6. REPOSIÇÃO HORMONAL COM 17B-ESTRADIOL.....	18
3.7. VARIAÇÃO DE PESO E INGESTA DE RAÇÃO.....	18
3.8. ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	19
3.9. ANÁLISE MORFOMÉTRICA HEPÁTICA.....	19
3.10. IMPLANTAÇÃO DE ELETRODO DE LEITURA E GRAVAÇÃO DOS REGISTROS ELETROCORTICOGRÁFICOS.....	19
3.11. TESTES COMPORTAMENTAIS.....	20
3.11.1. Labirinto em cruz elevado.....	20
3.11.2. Teste do <i>Splash</i> .....	21
3.12. ANÁLISE DE DADOS.....	21
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
4.1. ÍNDICE UTERINO.....	22
4.2. VARIAÇÃO DE PESO E INGESTA DE RAÇÃO.....	23
4.3. PERFIL BIOQUÍMICO.....	24
4.4. MORFOMETRIA HEPÁTICA.....	26
4.5. ELETROCORTICOGRAFIA.....	27
4.6. ANÁLISE COMPORTAMENTAL.....	29
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>

<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A menopausa é caracterizada pela exaustão folicular ovariana, acarretando diminuição considerável dos níveis séricos de estradiol e aumento de hormônio folículo-estimulante (FSH) circulante, marcando o fim do período reprodutivo da mulher (Burger et al., 2008; Bacon, 2017). Para simular experimentalmente a menopausa, são utilizados modelos experimentais como a ooforectomia bilateral. Sabe-se que, para avaliar experimentalmente o período que corresponde à perimenopausa e ao início da menopausa em mulheres, realiza-se o modelo de menopausa cirúrgica por ooforectomia a curto prazo, enquanto que a ooforectomia a longo prazo equivaleria ao período tardio da menopausa e à pós-menopausa (Scott et al., 2012; Jeong et al., 2015; Delgobo et al., 2019; Maluleke; Millen; Michel, 2021). A perimenopausa é o período de transição para a menopausa, destacando-se por flutuações hormonais que impactam diversos sistemas, sendo possível destacar as mudanças cognitivocomportamentais, metabólicas e bioquímicas, que costumam melhorar com a terapia de reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol (Delamater; Santoro, 2018; Potter et al., 2018).

Os estrogênios são hormônios esteroides cuja principal função é a regulação do sistema reprodutor feminino, sendo, inclusive, responsáveis pelo surgimento das características sexuais femininas. Dentre tais hormônios, o que tem maior atuação é o  $17\beta$ -estradiol (E2), que regula processos fisiológicos por meio da modulação da expressão de proteínas, sinalizando por meio dos receptores nucleares  $ER\alpha$  e  $ER\beta$  e do receptor transmembrana acoplado à proteína G (GPER, do inglês *G-protein coupled estrogen receptor*). Apesar da sua atuação primordial no sistema reprodutor feminino, o E2 produz diversos outros efeitos tanto em mulheres como em homens, agindo também nos sistemas endócrino, imunológico, cardiovascular, esquelético, gastrointestinal e nervoso central (Tang et al., 2019; Delgado; Lopez-Ojeda, 2020; Merrheim et al., 2020).

Além disso, evidências mostram que o nível sérico diminuído de E2, seja pela menopausa fisiológica ou pela cirúrgica, ocasiona modificações bioquímicas, dentre elas destacam-se as alterações de: enzimas hepáticas (aspartato aminotransferase, TGO/AST, e alanina aminotransferase, TGP/ALT), ureia, creatinina, glicemia, colesterol total, triglicerídeos, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL) (Lizcano; Guzmán, 2014; Oliveira et al., 2018; Teixeira et al., 2018; Jdidi et al., 2019; Anagnostis et al., 2020; Ltaif et al., 2020). As alterações hepáticas e renais possivelmente ocorrem devido ao estresse oxidativo resultante do desbalanço entre a superprodução e a neutralização (por antioxidantes endógenos) de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em apoptose

(Jdidi et al., 2019; Ltaif et al., 2020). Enquanto que a influência sobre a glicemia, dentre outras causas, acontece porque a diminuição de E2 pode ocasionar resistência à insulina, devido à mudança na distribuição de gordura corporal, à diminuição na mobilização de ácidos graxos e ao aumento do estado inflamatório (De Paoli; Zakharia; Werstuck, 2021). Outrossim, é provável que o desbalanço no perfil lipídico seja resultado de mudanças na absorção, na exportação e/ou na oxidação mitocondrial de ácidos graxos (Oliveira et al., 2018). Tais alterações bioquímicas podem vir acompanhadas de mudança morfométrica hepática, que pode ser ocasionada, dentre outros fatores, por estresse oxidativo e/ou por resistência à insulina (Jdidi et al., 2019; De Paoli; Zakharia; Werstuck, 2021).

No sistema nervoso central (SNC), o E2 modula diversos aspectos envolvidos com vias de sinalização e atividades fisiológicas, como a neurogênese e a neuroplasticidade, além de ser considerado um agente neuroprotetor e anti-inflamatório (Slowik et al., 2018). Além disso, dentre as vias de sinalização nas quais os estrógenos atuam, destacam-se as vias dos sistemas de neurotransmissores dopaminérgico, serotoninérgico, glutamatérgico, noradrenérgico e colinérgico. Por conta da atuação majoritária do E2, dentre os hormônios estrogênicos, nesses sistemas, acredita-se que este possui importante atuação em doenças psiquiátricas (González-Rodríguez; Seeman, 2019). Nesse contexto, é possível destacar que algumas mulheres se tornam mais suscetíveis à depressão em momentos de grandes alterações dos níveis hormonais, como o que ocorre durante o pós-parto e na perimenopausa (Soares, 2019). Diversos estudos têm associado a depressão perimenopausa com a diminuição dos níveis de estrogênios que ocorre nesse momento da vida e têm evidenciado melhora da sintomatologia depressiva com terapia de reposição hormonal com E2 em mulheres neste período e em ratas ooforectomizadas (Jasienska et al., 2005; Nowakowska; Kus 2005; Freeman, 2010; Kiss et al., 2012; Xu et al., 2015; Russel; Jones; Newhouse, 2019). Ainda, é conhecido que a perimenopausa também afeta a cognição, prejudicando mecanismos relacionados à memória, aprendizado e planejamento motor (Greendale; Derby; Maki, 2011; Luine, 2014). Todas essas mudanças cognitivocomportamentais estão relacionadas ao efeito do E2 a nível neuronal. Diante disso, é percebido que o E2 tem grande influência na atividade neuronal, o que afeta diretamente a atividade elétrica cerebral, porém, na literatura, há poucos estudos que analisem o padrão eletrocorticográfico na perimenopausa e na terapia de reposição hormonal com E2 (Takuma et al., 2007; Slowik et al., 2018; González-Rodríguez; Seeman, 2019).

Apesar da vasta literatura sobre o período de transição para a menopausa, os mecanismos pelos quais a perimenopausa e a reposição hormonal de E2 atuam no metabolismo, na atividade elétrica cerebral e no comportamento ainda não são bem compreendidos (Mauvais-

Jarvis; Clegg; Hevener, 2013; Xu et al., 2015; Ménard; Hodes; Russo, 2016;). Havendo, inclusive, poucos estudos que descrevam a influência da perimenopausa sobre a atividade elétrica cerebral. Dessa forma, tendo em vista o grande número de mulheres que irão se beneficiar do aprofundamento destes temas, o estudo proposto tem como pergunta-problema a seguinte: “quais os efeitos da menopausa cirúrgica por ooforectomia bilateral a curto prazo e da reposição hormonal com E2 sobre a análise da bioquímica, da morfometria hepática, dos padrões eletrocorticográficos e do comportamento semelhante ao depressivo em ratas da linhagem Wistar com 8 semanas de idade?”.

### **1.1. Hipóteses**

**(H0)** A menopausa cirúrgica por ooforectomia bilateral a curto prazo não altera os perfis metabólico, morfométrico hepático, eletrocorticográfico e comportamental dos animais.

**(H1)** A menopausa cirúrgica por ooforectomia bilateral a curto prazo altera os perfis metabólico, morfométrico hepático, eletrocorticográfico e comportamental dos animais.

## **Objetivos**

### **Objetivo geral**

Investigar os efeitos da reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol por 28 dias em ratas fêmeas da linhagem Wistar submetidas à menopausa cirúrgica por ooforectomia bilateral a curto prazo.

### **Objetivos específicos**

- a) Avaliar os efeitos da menopausa cirúrgica e da reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol na bioquímica, com enfoque nos parâmetros hepáticos, renais e lipídicos;
- b) Analisar como a menopausa cirúrgica e a reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol interferem na morfometria hepática;
- c) Analisar a influência da menopausa cirúrgica e da reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol em registros eletrocorticográficos;
- d) Avaliar o comportamento semelhante ao depressivo dos animais em menopausa cirúrgica frente à reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol.

## **Justificativa**

A menopausa marca o fim da capacidade reprodutiva da mulher, enquanto a perimenopausa é o período de transição para este marco (Burger et al., 2008; Bacon, 2017; Potter et al., 2018). Tais estágios da vida feminina envolvem mudanças marcantes nos níveis séricos de  $17\beta$ -estradiol, resultando em diversas alterações fisiológicas e manifestações de sintomas desagradáveis que levam cerca de 90% das mulheres acometidas a buscarem apoio médico (Santoro, 2016). Tendo em vista que a estimativa é que, em 2025, aproximadamente 1,1 bilhão de mulheres, com tendência crescente de aumento neste número devido à elevação da expectativa de vida global, já tenham findado o período reprodutivo, é perceptível o impacto dos efeitos da perimenopausa e da menopausa na saúde mundial (Armeni et al., 2021). Dentre as modificações que a perimenopausa e a menopausa acarretam, podem ser destacadas: desbalanços bioquímicos, mudanças no balanço energético, desregulações cognitivas e comportamentais correlatas a alterações no SNC (Santoro, 2016; Potter et al., 2018; Armeni et al., 2021). Nesse contexto, sabe-se que o E2 tem grande atuação no SNC, influenciando a atividade elétrica cerebral (Slowik et al., 2018; González-Rodríguez; Seeman, 2019). No entanto, são escassas as pesquisas que avaliam a eletrocorticografia na perimenopausa e na terapia de reposição hormonal com E2.

Portanto, devido ao prejuízo que a perimenopausa e a menopausa podem ocasionar à saúde feminina, foi percebida a necessidade da realização de estudos para gerar dados que permitam estabelecer e consolidar intervenções que beneficiem a mulher. Diante desta questão, este trabalho se faz necessário para contribuir nos conhecimentos metabólico, bioquímico, eletrocorticográfico e comportamental correlatos à perimenopausa e à terapia de reposição hormonal com E2.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

A menopausa corresponde ao período da vida feminina em que a menstruação cessa definitivamente, marcando a exaustão folicular ovariana e, conseqüentemente, o fim da fase reprodutiva. Costuma acontecer entre 45 e 55 anos, sendo considerado insuficiência ovariana prematura se ocorrer antes dos 40 anos (Armeni et al., 2021). É chamado de perimenopausa o intervalo de tempo entre o início das alterações fisiológicas que levam à menopausa e o fim de um ano de amenorreia, que é o marco em que se define a ocorrência da menopausa (Santoro,

2016). Ambos os períodos são permeados por profundas mudanças hormonais que afetam drasticamente a mulher por acarretar sintomas como: ondas de calor, distúrbios do sono, alterações de humor e de cognição, mudanças no aparelho genitourinário, osteoporose (Santoro, 2016; Djiogue et al., 2018; Namjou et al., 2018; Armeni et al., 2021). Tais sintomas são bastante prevalentes e levam cerca de 90% das mulheres acometidas a procurar ajuda médica, evidenciando o impacto desse período não apenas na vida feminina, mas também na saúde pública (Santoro, 2016).

Nesse sentido, devido ao prejuízo que a menopausa pode gerar à saúde feminina, foi percebida a necessidade da realização de estudos para gerar dados que permitam estabelecer intervenções que beneficiem a mulher. Dessa forma, para facilitar a aquisição de conhecimento sobre a menopausa, foram estabelecidos modelos animais de menopausa, dentre os quais destaca-se a menopausa cirúrgica em modelo murino, que é gerada pela ooforectomia bilateral (OOF). Neste modelo experimental, divide-se o estudo da menopausa cirúrgica em ooforectomia a curto prazo, a qual corresponderia ao período da perimenopausa e ao início da menopausa em mulheres, e a longo prazo, que equivaleria ao período tardio da menopausa e à pós-menopausa (Scott et al., 2012; Jeong et al., 2015; Delgobo et al., 2019; Maluleke; Millen; Michel, 2021). Sabe-se que diversos experimentos já mostraram que a OOF é eficaz em reproduzir sintomatologias semelhantes às que ocorrem na menopausa humana (Qu et al., 2013; Puga-Olguín et al., 2019; Maluleke; Millen; Michel, 2021).

Como mencionado acima, os imbrólios da perimenopausa e da menopausa são decorrentes das mudanças hormonais que ocorrem nestas fases. Os principais hormônios alterados são o hormônio folículo estimulante (FSH), o qual se eleva na menopausa, e os estrogênios em que, durante a perimenopausa, predomina a intensa oscilação nos níveis séricos destes e, na menopausa, a concentração plasmática encontra-se extremamente baixa (Santoro, 2016; Armeni et al., 2021). Sendo que os principais estrogênios humanos são: estrona (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2) e estriol (E3) (Chen; Madak-Erdogan, 2018). Dentre tais hormônios, o que tem maior atuação é o 17 $\beta$ -estradiol, que regula processos fisiológicos por meio da modulação da expressão de proteínas, sinalizando por meio dos receptores nucleares ER $\alpha$  e ER $\beta$  e do receptor transmembrana acoplado à proteína G (GPER, *do inglês G-protein coupled estrogen receptor*). Apesar da sua atuação primordial no sistema reprodutor feminino, o E2 produz efeitos em diversos outros sistemas, tanto em mulheres como em homens, como por exemplo: o imunológico, o endócrino, o cardiovascular, o esquelético, o gastrointestinal e o nervoso central (Tang et al., 2019; Delgado; Lopez-Ojeda, 2020; Merrheim et al., 2020).

Sabe-se que o E2 possui efeito sobre o sistema imunológico, estimulando a produção de citocinas anti-inflamatórias. No sistema cardiovascular, o risco para doenças cardiovasculares começa a aumentar na perimenopausa e persiste elevado na menopausa e na pós-menopausa, seja pela menopausa natural ou cirúrgica, isto ocorre, dentre outros motivos, principalmente devido a alterações, causadas pela redução sérica de E2, no perfil lipídico, ao estresse oxidativo e ao aumento na rigidez vascular por disfunção endotelial causada pela diminuição da liberação de óxido nítrico (Nair; Pillai; Nair, 2021). No sistema esquelético, o E2 atua protegendo contra osteoporose, por meio de  $ER\alpha$ , que estimula os osteoclastos a entrarem em apoptose (Komori, 2015). No sistema gastrointestinal, o E2 age por diversos mecanismos, a exemplo da regulação do balanço energético corporal, do estímulo à liberação de leptina que atua no controle de fome e saciedade, da inibição da lipoproteína lipase que realiza a lipogênese, da proteção das células beta pancreáticas por meio de ação antioxidante, dentre outros. Sendo que a diminuição deste hormônio pode propiciar a ocorrência de: obesidade (por hiperfagia e redução do gasto energético), resistência à insulina, dislipidemia e esteatose hepática não alcoólica (Butera, 2010; Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013; Chen; Madak-Erdogan, 2018; Namjou; Heidarian; Rafieian-Kopaei, 2018). Porém, o aumento excessivo dos níveis séricos de E2, como o ocorrido em mulheres grávidas, está associado à diminuição da sensibilidade à insulina, por meio da clivagem do receptor de insulina (Yuasa et al., 2023).

No sistema nervoso central (SNC), o E2 modula diversos aspectos envolvidos com vias de sinalização e atividades fisiológicas, como a neurogênese e a neuroplasticidade, além de ser considerado um agente neuroprotetor e anti-inflamatório (Slowik et al., 2018). Dentre as vias de sinalização nas quais os estrogênios atuam, com ênfase na regulação pelo E2, destacam-se as vias dos sistemas de neurotransmissores dopaminérgico, serotoninérgico, glutamatérgico, noradrenérgico e colinérgico. Sugerindo que o E2 possua importante atuação em doenças psiquiátricas (González-Rodríguez; Seeman, 2019).

Diante da diversidade de atuação do E2 no organismo e da relação da sua flutuação/diminuição com a sintomatologia negativa que ocorre na perimenopausa e na menopausa, foi descoberto que a terapia de reposição hormonal com estrógeno ameniza tais sintomas (Armeni et al., 2021). Sabe-se que a terapia de reposição hormonal pode ser feita por via oral ou por via subcutânea, não havendo diferença na eficácia, porém a via subcutânea é mais recomendada para pacientes com aumento de risco cardiovascular por não ter passagem hepática e, dessa forma, não aumentar os níveis séricos de triglicerídeos e o risco de trombose venosa profunda como a via oral acarreta (Santoro, 2016; Armeni et al., 2021). A terapia de reposição hormonal pode ser feita com a administração isolada de E2, em caso em que a mulher

não possua mais útero, ou pela combinação de estrogênio com progesterona, a qual é utilizada para proteger o endométrio da proliferação exagerada (associada à carcinogênese endometrial) que a administração isolada do estrogênio pode causar. No entanto, foi descoberto que a terapia de reposição hormonal com E2 não é benéfica na pós menopausa tardia e que é associada com aumento de risco de câncer de mama e de endométrio (Pardini, 2014). Nesse sentido, após diversos estudos, foi estabelecido como seguro e recomendado a terapia de reposição hormonal na menor dose terapêutica individualizada, nos casos de mulheres sintomáticas que estejam na perimenopausa ou na menopausa, não devendo ter ultrapassado 10 anos da ocorrência da menopausa e havendo a necessidade de ponderar os riscos (Santoro, 2016; Chen; Madak-Erdogan, 2018; Zimmerman et al., 2020; Armeni et al., 2021).

Quanto à influência do E2 na bioquímica, sabe-se que as alterações hepáticas e renais causadas pela redução deste hormônio estão relacionadas, em partes, pelo aumento de estresse oxidativo (Jdidi et al., 2019; Ltaif et al., 2020). Na avaliação da atuação do E2 no perfil lipídico, sabe-se que a deprivação deste hormônio se relaciona com a ocorrência de dislipidemia e a terapia de reposição hormonal é associada com a reversão deste quadro (Lim; Lee; Kim, 2014; Ren et al., 2018; Nanashima et al., 2020). Oliveira et al. (2018) sugerem que o desbalanço no perfil lipídico causado pela OOF pode estar atrelado a mudanças na absorção, na exportação e/ou na oxidação mitocondrial de ácidos graxos. Além disso, sabe-se que a diminuição de E2 pode ocasionar resistência à insulina e esta pode resultar em dislipidemia (De Paoli; Zakharia; Werstuck, 2021). Ademais, as mudanças bioquímicas ocasionadas pela OOF podem causar alterações morfométricas hepáticas as quais tem o estresse oxidativo e a resistência à insulina como possíveis fatores causais (Jdidi et al., 2019; De Paoli; Zakharia; Werstuck, 2021).

Ainda, diante do exposto acerca da atuação do E2 no SNC, devido ao impacto deste hormônio nas células neuronais, depreende-se que alterações séricas de E2 podem impactar na eletrofisiologia cerebral. Além disso, as alterações de sono, de cognição e de humor que ocorrem na menopausa podem estar relacionadas com modificações na atividade elétrica cerebral. Nesse contexto, o eletroencefalograma vem sendo estudado como uma possível ferramenta objetiva de diagnóstico de doenças psiquiátricas (De Aguiar Neto; Rosa, 2019). Apesar disso, carecem na literatura dados acerca dos efeitos da perimenopausa e da menopausa nos padrões de ondas cerebrais.

No contexto da avaliação do comportamento na menopausa, sabe-se que a depressão é uma doença mental que atinge mais de 300 milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo duas vezes mais prevalente em mulheres (Nações Unidas No Brasil, 2017; Labaka et al., 2018). É considerada uma das patologias mais incapacitantes da atualidade, principalmente por trazer

grandes limitações ao funcionamento psicossocial, sendo a doença que mais causa incapacidade em mulheres na atualidade (Malhi; Mann, 2018; Willi; Ehlert, 2019). Nesse sentido, com base na 5ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V), a depressão pode ser classificada de três formas: transtorno depressivo maior (mais grave, podendo levar a prejuízos físicos e sociais significativos ao indivíduo), transtorno depressivo persistente (distímia) e transtorno disfórico pré-menstrual (APA, 2014). A depressão é caracterizada, no DSM-V, por sintomas relacionados ao humor, ao cognitivo e ao comportamento que causam sofrimento considerável e/ou prejuízo funcional (Bromberger; Epperson, 2018). Dentre os principais sintomas dessa doença, encontram-se a baixa-autoestima, a anedonia, os distúrbios do sono e a ansiedade, sendo que a combinação destes sintomas pode levar o indivíduo ao suicídio (Ratajczak et al., 2019). A depressão é uma doença multifatorial, na qual ainda há muitos mecanismos desconhecidos. Dentre os fatores conhecidos que podem estar envolvidos na patogênese dessa enfermidade, podem ser citados: remodelamento sináptico e neuronal (a exemplo do fator neurotrófico derivado do cérebro [BDNF], da proteína p11 e do fator nuclear kappa B [NF-κB]); modulações epigenéticas; inflamação; função astrocitária prejudicada; alterações monoaminérgicas; e desregulações hormonais (Ménard; Hodes; Russo, 2016; Perez-Caballero et al., 2019; Soares, 2019; Lorentzen et al., 2020).

Dentre as desregulações hormonais ligadas à depressão, podem ser citadas aquelas associadas ao ciclo reprodutor feminino, em que algumas mulheres se tornam mais suscetíveis à depressão em momentos de grandes alterações dos níveis hormonais, como o que ocorre no período pré-menstrual, no pós-parto e na perimenopausa (Soares, 2019; Willi; Ehlert, 2019). Ainda, diversos estudos têm associado a depressão perimenopausa com a diminuição dos níveis de estrogênios que ocorre nesse momento da vida (Jasienska et al., 2005; Bromberger; Epperson, 2018; Freeman, 2010; Russel; Jones; Newhouse, 2019). Nesse sentido, diversos estudos têm utilizado o modelo animal de ooforectomia bilateral a curto prazo para avaliar as alterações comportamentais advindas da perimenopausa e da menopausa (Nowakowska; Kuss, 2005; Puga-Olguín et al., 2019; Ge et al., 2020; Khayum et al., 2020). No entanto, Becker e colaboradores (2021) afirmaram que nenhum modelo animal de depressão consegue abordar todas as principais características da doença: anedonia, apatia, desespero, ansiedade, deterioração cognitiva, dentre outros.

Acerca do comportamento de apatia, sabe-se que este está relacionado com diversas patologias, a exemplo de processos demenciais, comprometimento cognitivo leve, injúria cerebral traumática, transtorno depressivo maior e esquizofrenia (Iznak; Iznak; Sorokin, 2011; Kos et al., 2016; Neis et al.; Zhu et al., 2019). Sendo também um sintoma correlacionado com

redução da qualidade de vida e considerado fator de mau prognóstico cognitivo, funcional e ocupacional (Kos et al., 2016). Na revisão de Kos e colaboradores (2016), é corroborada a hipótese de Levy e Dubois (2006), que elenca que a apatia pode ocorrer devido a uma disfunção em ao menos um destes três componentes: emocional-afetivo, cognitivo e autoativação. Isto é, o dano no processamento emocional-afetivo gera apatia por resultar na incapacidade de relacionar os sinais emocionais-afetivos com o comportamento contínuo ou futuro, enquanto que a disrupção do processamento cognitivo compromete o planejamento de ações essenciais para a manutenção ou a realização de um comportamento, acarretando a apatia. Já quando o processamento de autoativação está prejudicado, ocorre problemas para gerar/amplificar estímulos internos e, dessa forma, o indivíduo torna-se incapaz de iniciar ações que não sejam impulsionadas por eventos externos, caracterizando apatia.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Tipo de pesquisa**

Trata-se de um estudo explicativo, que se enquadra como uma pesquisa experimental.

#### **3.2. Local e período**

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Neuropatologia Experimental (LaNEx), localizado no Hospital Universitário João de Barros Barreto e vinculado ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA). A pesquisa ocorreu entre o mês de agosto de 2020 e o mês de dezembro de 2022.

#### **3.3. Animais**

Foram utilizadas 68 ratas adultas fêmeas (não grávidas) da linhagem Wistar com 8 semanas de idade, provenientes do Biotério do Instituto Evandro Chagas. Os animais foram mantidos em temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e ciclo claro/escuro de 12/12 horas. Foram alimentados com ração balanceada para ratos e água *ad libitum*. Os animais passaram por um período de uma semana de habituação ao ambiente antes do início dos experimentos.

Os procedimentos experimentais seguiram todas as exigências descritas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pará (CEUA nº: 4532280520).

#### **3.4. Desenho experimental**

Com o intuito de ampliar o entendimento do papel da deprivação e da reposição de  $17\beta$ -estradiol frente à perimenopausa de ratas após a menopausa cirúrgica, o presente projeto foi realizado em duas etapas experimentais em que os animais foram submetidos, após o período de adaptação ao laboratório, à ooforectomia bilateral total (animais castrados = C) ou à cirurgia simulada (animais intactos = NC), seguido de 15 dias de habituação necessários para diminuir os níveis séricos de E2. Então, os animais foram divididos nos seguintes grupos que receberam como tratamento veículo (V), fluoxetina (FXT) ou  $17\beta$ -estradiol (E2): não castrado + veículo (NC + V), castrado + veículo (C + V), castrado + fluoxetina (C + FXT) e castrado +  $17\beta$ -estradiol (C + E2). Os grupos foram formados de modo que cada um tivesse entre 8 e 9 animais, no entanto, devido à ocorrência de algumas mortes após as cirurgias de ooforectomia e de implantação de eletrodos, alguns grupos ficaram com *n* menor. Ao fim da etapa 1, cada grupo apresentava o seguinte quantitativo de animais: NC + V *n* = 7; C + V *n* = 5; C + FXT *n* = 6; C + E2 *n* = 8. Enquanto que, ao término da etapa 2 do experimento, observou-se as seguintes quantias: NC + V *n* = 8; C + V *n* = 8; C + FXT *n* = 8; C + E2 *n* = 8.

As etapas experimentais tiveram como objetivo avaliar o efeito da reposição hormonal com E2 sobre a eletrocorticografia (etapa 1) e sobre a variação de peso, a ingesta de ração, a bioquímica, a morfometria hepática e o comportamento (etapa 2). Após a eutanásia, foram coletados e pesados os úteros para calcular o índice uterino (índice uterino = peso do útero [mg]/ peso do animal [g]), de modo a demonstrar se a deprivação e a reposição hormonais foram efetivas. No experimento voltado à análise metabólica e comportamental, foram também coletados amostras de sangue para a realização da bioquímica, além do fígado para a análise morfométrica.

### 3.5. Ooforectomia

No presente estudo, a ooforectomia (OOF) foi bilateral total. Para isto, os animais foram anestesiados com associação de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal (i.p.). Após a abolição dos reflexos de retirada, os animais foram imobilizados sobre prancha cirúrgica em posição de decúbito dorsal e com a região abdominopélvica protegida com campo fenestrado. A cirurgia iniciou pela tricotomia e assepsia da região com iodopovidine, seguido por incisão mediana na área abdominopélvica, de modo a expor um ovário em cada lateral. Em seguida, foram retirados os ovários, preservando-se o útero. Ao final do procedimento cirúrgico, o peritônio e a pele foram suturados. Animais não castrados passaram por cirurgia simulada sob as mesmas condições, mas sem a retirada dos ovários.

Após a realização das cirurgias, os animais receberam doses únicas de antibiótico preventivo (amoxicilina 10 mg/kg por via subcutânea [s.c.]) e analgésico (dipirona sódica, 25 mg/kg s.c.), seguindo as normas do CONCEA (CONCEA; 2015), e passaram por período de habituação de 15 dias necessários para diminuição dos níveis séricos de E2 nas ratas ooforectomizadas (castradas) de modo a ser caracterizado, de fato, uma menopausa cirúrgica (Martins et al., 2012).

### **3.6. Reposição hormonal com 17 $\beta$ -estradiol**

O tratamento de reposição hormonal teve duração de 28 dias e o E2 foi administrado s.c. na dose de 20  $\mu$ g/dia (Takuma et al., 2007), tendo sido diluído em 200  $\mu$ l de óleo de amendoim (veículo). Enquanto os animais dos grupos controle receberam ao dia 200  $\mu$ l do veículo isolado.

A fluoxetina é um antidepressivo inibidor seletivo da recaptação de serotonina, que foi administrada na dose de 5 mg/kg/dia (i.p.) (Robert et al., 2011; Nowacka-Chmielewska et al., 2017), sendo este fármaco usado como padrão ouro no tratamento para depressão. Por isso, foi utilizado como parâmetro para comparação dos possíveis efeitos antidepressivos induzidos pelo E2.

### **3.7. Variação de peso e ingesta de ração**

De modo a avaliar a variação de peso e a ingesta de ração, os animais, assim como a ração, foram pesados em dias alternados (a cada 48 horas), obtendo-se os resultados em grama (g). Sendo que, neste trabalho, foi levado em consideração, para a análise do efeito da menopausa cirúrgica sobre o peso, o quanto os animais ganharam ou perderam após a cirurgia (no segundo dia após o procedimento), após a primeira semana de privação hormonal e após a segunda semana de privação hormonal antes do início do tratamento, comparando com o peso inicial (imediatamente antes da ooforectomia). E para avaliar os efeitos dos tratamentos no ganho de peso, foi analisado o quanto o peso do animal variou, ao fim de cada semana de tratamento, em relação ao peso ao fim da segunda semana de privação hormonal (peso imediatamente anterior ao início do tratamento).

Para obter a quantidade de ração consumida, foi subtraído a quantidade inicial de ração colocada 48 horas antes pela quantidade de ração restante de cada grupo. Para a avaliação da ingesta de ração entre os grupos, foram consideradas as médias do quanto de ração cada grupo consumiu a cada 48 horas nos seguintes períodos: nas primeiras 48 horas após a cirurgia; na

semana 1 de deprivação hormonal; na semana 2 de deprivação hormonal; na semana 1 de tratamento; na semana 2 de tratamento; na semana 3 de tratamento; e na semana 4 de tratamento.

### **3.8. Análise bioquímica**

A coleta da amostra de sangue necessária para a bioquímica foi realizada por meio de punção cardíaca após a anestesia no dia da eutanásia.

Os dados bioquímicos analisados foram as dosagens séricas das transaminases hepáticas oxalacética e pirúvica (TGO e TGP), ureia, creatinina, colesterol total (CT), triglicerídeos (TGL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL).

### **3.9. Avaliação morfométrica hepática**

Após a eutanásia, os fígados foram coletados, submetidos à limpeza (retirada de gordura visceral) e pesados para avaliação morfométrica. Para avaliação morfométrica hepática, o índice hepático (IH) foi calculado da seguinte maneira:  $IH = \text{massa do fígado (mg)} / \text{massa do animal (g)}$ .

### **3.10. Implantação do eletrodo de leitura e gravação dos registros electrocorticográficos**

Na etapa experimental para avaliar os efeitos da reposição hormonal com  $17\beta$ -estradiol em ratas submetidas à menopausa cirúrgica, foram implantados eletrodos conjugados na dura-máter quatro dias antes da captação dos registros electrocorticográficos (ECoG). Dessa forma, os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) (i.p.), e foi realizada a tricotomia da região superior da cabeça para, em seguida, ser feita uma pequena incisão na pele para exposição da caixa craniana e implantação dos eletrodos.

No aparato estereotáxico, com o crânio do animal exposto, foram perfurados dois furos bilaterais com uma broca dental. Eletrodos de aço inoxidável foram, então, colocados na dura-máter, acima do lobo frontal, nas coordenadas do bregma- 0,96 mm e cerca de 1,0 mm lateral. Um parafuso (para servir como base e aterramento para os registros) foi introduzido no osso occipital e os eletrodos foram fixados com acrílico dental, conforme descrito por outros autores (Hamoy et al., 2018; Estumano et al., 2019).

Quatro dias após a cirurgia de implantação de eletrodo, cada animal foi submetido individualmente à gravação dos registros eletrocorticográficos em uma gaiola. Os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados digital composto por um amplificador de alta impedância da marca Grass Technologies, modelo P511, um osciloscópio do modelo Protek 6510 e uma placa de aquisição e digitalização de dados da National Instruments (Austin, TX). Os dados foram adquiridos de forma contínua a uma taxa de 1 kHz, com um filtro passa-baixa definido em 3 kHz e um filtro passa-alta em 0,3 Hz. Durante as sessões de gravação, os animais foram confinados em compartimentos de acrílico de dimensões 20 x 45 x 15 cm. O procedimento da ECoG seguiu um padrão em todos os tratamentos, com uma fase inicial de adaptação de 10 minutos, seguida de uma gravação de 300 segundos.

As análises subsequentes foram realizadas utilizando uma ferramenta desenvolvida na linguagem de programação Python, versão 2.7, fazendo uso das bibliotecas "Numpy" e "Scipy" para o processamento matemático, e a biblioteca "matplotlib" para a criação de gráficos e plots. Uma interface gráfica foi criada com a biblioteca PyQt4. Para calcular os espectrogramas, foi adotada uma janela de Hamming com 256 pontos (256/1.000 s). Cada quadro da densidade espectral de potência (PSD) foi gerado com uma sobreposição de 128 pontos por janela. A PSD de cada quadro foi calculada com o método de periodograma médio de Welch. Os histogramas de frequência foram obtidos ao calcular a PSD do sinal usando a janela de Hamming de 256 pontos, sem sobreposição, o que resultou em uma resolução de 1 Hz por intervalo. Cada forma presente na PSD é a média de um conjunto específico de experimentos. A PSD foi determinada para cada grupo e as médias foram exibidas em intervalos individuais. Tais análises foram conduzidas em frequências de até 50 Hz, divididas em faixas Delta (1–4 Hz), Teta (4–8 Hz), Alfa (8–12 Hz), Beta (12–28 Hz) e Gama (30–40 Hz) para fins de interpretação, conforme estudos anteriores (Hamoy et al., 2018; Estumano et al., 2019).

Para esta parte do experimento, um grupo exclusivo de animais foi necessário em virtude de possíveis intercorrências durante os procedimentos, como a retirada dos eletrodos pelos animais, além da implantação dos eletrodos interferirem nos procedimentos comportamentais e nas análises histológicas.

### **3.11. Testes comportamentais**

#### **3.11.1. Labirinto em Cruz Elevado**

O labirinto em cruz elevado (LCE) foi realizado ao fim da etapa experimental destinada à análise do comportamento. Cada animal foi colocado no aparato durante 5 minutos.

O LCE consiste em um aparato, elevado 50 cm do chão, com dois braços abertos opostos entre si (50 x 10 x 0,5 cm) alternados com dois braços fechados opostos entre si (50 x 10 x 40 cm) formando uma cruz com uma área central entre os braços (10 x 10 cm) (Estumano et al., 2019). Todo procedimento foi registrado em vídeo por uma Câmera Logitech HD Pro 1080p C920 suspensa sobre o aparato para posterior análise.

O LCE foi escolhido, pois é um dos testes utilizados para verificar comportamento semelhante ao ansioso, o qual está muito presente na depressão (Ye et al., 2019). Para a avaliação deste comportamento foram analisados os seguintes parâmetros: (1) Distância total percorrida (m); (2) Tempo de imobilidade (s); (3) porcentagem de tempo no braço aberto ( $[\text{tempo no braço aberto}/(\text{tempo no braço aberto} + \text{tempo no braço fechado})] \times 100$ ); (4) porcentagem de tempo no braço fechado ( $[\text{tempo no braço fechado}/(\text{tempo no braço aberto} + \text{tempo no braço fechado})] \times 100$ ); (5) porcentagem de entradas no braço aberto ( $[\text{número de entradas no braço aberto}/(\text{número de entradas no braço fechado} + \text{número de entradas no braço aberto})] \times 100$ ); (6) porcentagem de entradas no braço fechado ( $[\text{número de entradas no braço fechado}/(\text{número de entradas no braço fechado} + \text{número de entradas no braço aberto})] \times 100$ ). O comportamento foi analisado utilizando o *software* ANY-MAZE.

### 3.11.2. Teste do *Splash*

Após todos os animais passarem pelo LCE, cada animal, na mesma sequência, foi submetido ao teste do *splash* (TS). Este teste é usado para avaliar o autocuidado do animal (apatia) e, por essa característica estar diminuída na depressão, é também usado para avaliar o comportamento semelhante ao depressivo (Neis et al., 2016).

Este teste consistiu da aplicação de solução de sacarose a 10% na região do dorso, próximo à cabeça, do animal (que estava em sua caixa habitual sozinho). Tal substância é viscosa e o comportamento normal dos roedores é a realização do movimento de limpeza (denominado de *grooming*) (Neis et al, 2016). Então, os parâmetros analisados foram: (1) número de eventos de *grooming*; e (2) tempo total gasto realizando *grooming* (Sadeghi; Peeri; Hosseini, 2016). Cada animal foi gravado por 5 minutos por uma Câmera Logitech HD Pro 1080p C920 suspensa sobre o aparato para posterior análise comportamental. A avaliação dos vídeos ocorreu por meio de estudo duplo-cego.

### 3.12. Análise de dados

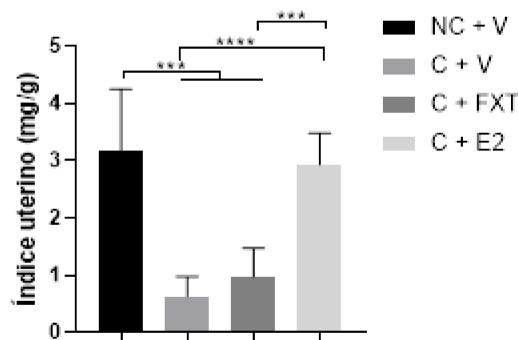
Os dados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão, adotando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativa. A análise estatística foi realizada utilizando o GraphPad Prism

version 9.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Comparações paramétricas entre grupos foram feitas utilizando teste t ou ANOVA um critério seguido do pós-teste Tukey para múltiplas comparações. As análises não paramétricas foram feitas utilizando Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis seguido de pós-teste de Dunn. ANOVA duas-vias seguido de pós-teste Tukey foram utilizados para analisar a variação de peso e a ingesta de ração.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Índice uterino

Nossos resultados mostram que a ooforectomia induziu deprivação hormonal, visto que foi encontrado diferença no índice uterino entre os grupos intacto (NC + V:  $3,18 \pm 1,07$  mg/g) e castrado (C + V:  $0,63 \pm 0,35$  mg/g;  $p < 0,0001$ ). Ainda, os animais tratados com FXT também tiveram o útero reduzido em relação aos animais intactos (C + FXT:  $0,97 \pm 0,50$  mg/g; vs NC + V,  $p = 0,0003$ ). Por outro lado, o grupo que recebeu reposição de E2 apresentou peso uterino semelhante ao grupo intacto (C + E2:  $2,93 \pm 0,55$  mg/g;  $p > 0,05$  vs NC + V;  $p < 0,001$  vs C + V;  $p < 0,0001$  vs C + FXT; Figura 1).



**Figura 1:** Avaliação do índice uterino. \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$ . NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2:  $17\beta$ -estradiol.

### 4.2. Variação de peso e ingesta de ração

Quanto às análises da ingesta de ração e da variação de peso, a ooforectomia reduziu a ingesta de ração (C + V:  $10,16 \pm 2,99$  g ; C + FXT:  $13,08 \pm 3,78$  g; C + E2:  $10,86 \pm 1,96$  g; Tabela 1) logo após o procedimento em relação ao grupo intacto (NC + V:  $27,88 \pm 12,61$  g; vs C + V e C + E2,  $p < 0,001$ ; vs C + FXT,  $p < 0,01$ ; Tabela 1), porém não houve diferença no

ganho de peso entre os grupos logo após a cirurgia (NC + V:  $-6,47 \pm 8,31$  g; C + V:  $-8,22 \pm 4,61$  g; C + FXT:  $-5,59 \pm 3,54$  g; C + E2:  $-7,92 \pm 4,40$  g,  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 2). Na primeira semana de deprivação hormonal, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos tanto na ingesta de ração (NC + V:  $38,69 \pm 0,08$  g; C + V:  $40,45 \pm 1,56$  g; C + FXT:  $41,90 \pm 0,26$  g e C + E2:  $40,87 \pm 1,75$  g;  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 1) quanto na variação de peso (NC + V:  $12,33 \pm 9,39$  g; C + V:  $23,03 \pm 4,04$  g; C + FXT:  $25,09 \pm 5,80$  g e C + E2:  $20,41 \pm 4,75$  g;  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 2). Na segunda semana de deprivação hormonal, a castração ocasionou ganho de peso nos animais em relação ao grupo intacto (NC + V:  $24,81 \pm 10,36$  g; C + V:  $57,44 \pm 22,44$  g; C + FXT:  $59,35 \pm 13,33$  g; C + E2:  $55,98 \pm 6,73$  g; NC + V vs C + V, C + E2 e C + FXT,  $p > 0,001$ , para todas as comparações; Tabela 2), mesmo sem haver alterações significativas na ingesta de comida entre os grupos (NC + V:  $40,85 \pm 3,93$  g; C + V:  $49,60 \pm 1,03$  g; C + FXT:  $48,30 \pm 0,62$  g; C + E2:  $49,32 \pm 2,10$  g,  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 1).

Durante o tratamento, na primeira semana, o grupo em deprivação hormonal ganhou mais peso (C + V:  $21,78 \pm 4,26$  g; C + E2:  $-1,06 \pm 4,43$  g; C + V vs C + E2,  $p < 0,001$ ; Tabela 2) e ingeriu mais ração (C + V:  $50,38 \pm 2,25$  g; C + E2:  $40,02 \pm 1,91$  g; C + V vs C + E2,  $p < 0,05$ ; Tabela 1) apenas em relação ao grupo com E2. Na segunda semana, o grupo com reposição hormonal, apesar de não ter havido diferença na ingesta de ração (NC + V:  $40,10 \pm 4,37$  g; C + V:  $48,46 \pm 2,88$  g; C + FXT:  $42,4 \pm 4,06$  g; C + E2:  $39,64 \pm 1,79$  g,  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 1), ganhou menos peso que o grupo em deprivação hormonal e em relação ao que recebia fluoxetina (NC + V:  $24,24 \pm 8,06$  g; C + V:  $36,40 \pm 7,54$  g; C + FXT:  $25,06 \pm 9,37$  g; C + E2:  $0,20 \pm 7,94$  g, C + V e C + FXT vs C + E2,  $p > 0,001$ , para ambas as comparações; Tabela 2). Nas semanas 3 e 4 de tratamento, o grupo C + E2 teve variação de peso significativamente menor em relação aos demais grupos (Semana 3 = NC + V:  $32,25 \pm 13,18$  g; C + V:  $46,49 \pm 6,93$  g; C + FXT:  $35,19 \pm 8,83$  g; C + E2:  $-0,72 \pm 7,26$  g; NC + V, C + V e C + FXT vs C + E2,  $p < 0,001$ , para todas as comparações; Semana 4 = NC + V:  $50,14 \pm 9,88$  g; C + V:  $75,23 \pm 36,79$  g; C + FXT:  $47,68 \pm 10,95$  g; C + E2:  $13,39 \pm 6,81$  g; NC + V, C + V e C + FXT vs C + E2,  $p < 0,001$ , para todas as comparações; Tabela 2), mesmo sem ter havido diferença significativa na ingesta de ração entre os grupos (Semana 3 = NC + V:  $41,35 \pm 4,86$  g; C + V:  $45,10 \pm 1,58$  g; C + FXT:  $40,27 \pm 0,98$  g; C + E2:  $39,51 \pm 2,26$  g;  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Semana 4 = NC + V:  $39,14 \pm 4,78$  g; C + V:  $41,33 \pm 0,88$  g; C + FXT:  $39,09 \pm 5,59$  g; C + E2:  $38,36 \pm 0,79$  g;  $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 1). Ainda, na última semana de tratamento, os animais em deprivação hormonal ganharam mais peso em relação a todos os demais grupos (NC + V, C + FXT e C + E2 vs C + V,  $p < 0,001$ ,

para todas as comparações; Tabela 2), apesar de não ter havido diferença significativa na ingestão de alimentos ( $p > 0,05$ , para todas as comparações; Tabela 1).

**Tabela 1.** Avaliação da ingestão de ração em ratas submetidas à menopausa cirúrgica.

	<b>NC + V</b>	<b>C + V</b>	<b>C + FXT</b>	<b>C + E2</b>
<b>Cirurgia</b>	27,88 ± 12,61	10,16 ± 2,987***	13,08 ± 3,783**	10,86 ± 1,962***
<b>Privação-Semana 1</b>	38,69 ± 0,084	40,45 ± 1,56	41,9 ± 0,26	40,87 ± 1,754
<b>Privação-Semana 2</b>	40,85 ± 3,929	49,6 ± 1,031	48,3 ± 0,624	49,32 ± 2,103
<b>Tratamento-Semana 1</b>	41,36 ± 4,077	50,38 ± 2,249	42,79 ± 1,175	40,02 ± 1,913#
<b>Tratamento-Semana 2</b>	40,1 ± 4,371	48,46 ± 2,881	42,4 ± 4,059	39,64 ± 1,791
<b>Tratamento-Semana 3</b>	41,35 ± 4,856	45,1 ± 1,577	40,27 ± 0,985	39,51 ± 2,258
<b>Tratamento-Semana 4</b>	39,14 ± 4,781	41,33 ± 0,883	39,09 ± 5,592	38,36 ± 0,789

Os dados representam média ± desvio padrão. \*\* $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  vs NC + V. # $p < 0,05$  vs C + V. NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2: 17 $\beta$ -estradiol.

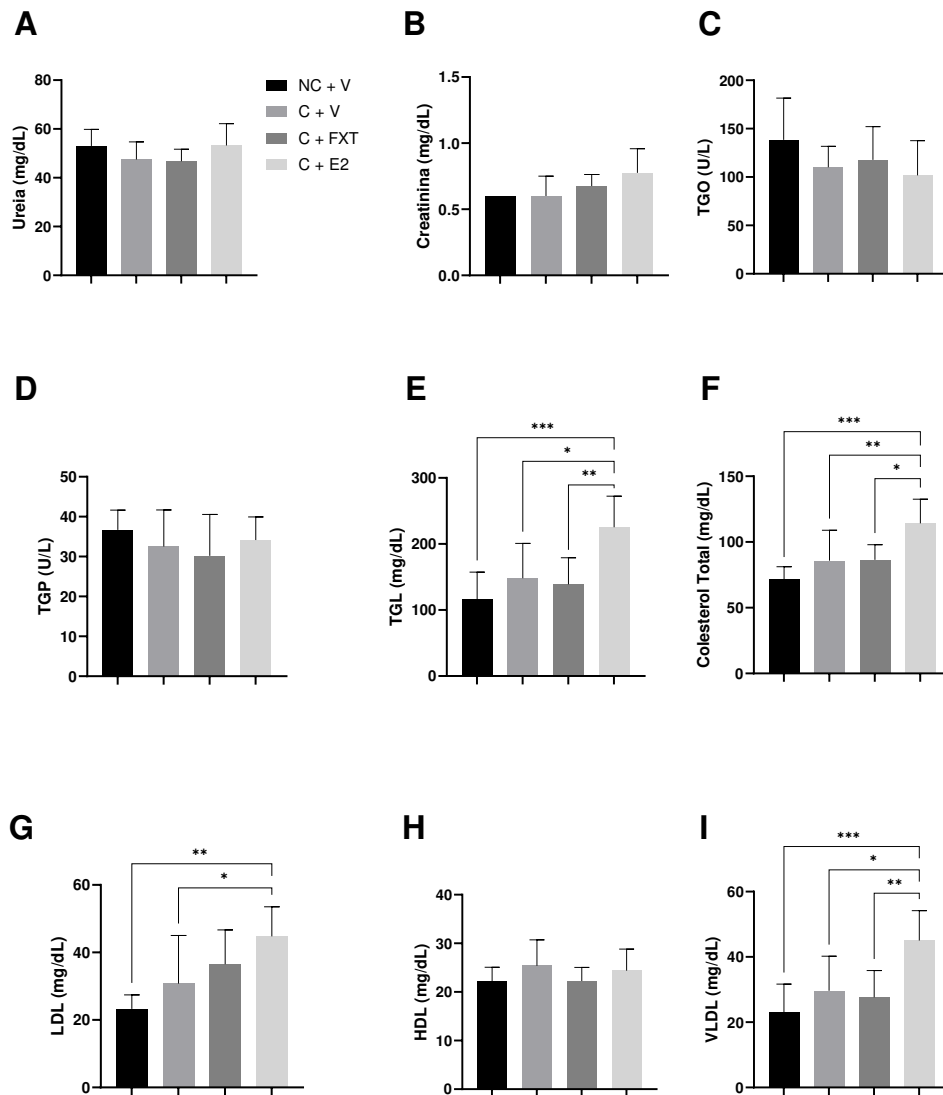
**Tabela 2.** Análise da variação de peso em ratas submetidas à menopausa cirúrgica.

	<b>NC + V</b>	<b>C + V</b>	<b>C + FXT</b>	<b>C + E2</b>
<b>Cirurgia</b>	-6,475 ± 8,309	-8,225 ± 4,606	-5,588 ± 3,542	-7,925 ± 4,4
<b>Privação-Semana 1</b>	12,33 ± 9,39	23,03 ± 4,043	25,09 ± 5,796	20,41 ± 4,755
<b>Privação-Semana 2</b>	24,81 ± 10,359	57,44 ± 22,444***	59,35 ± 13,332***	55,98 ± 6,734***
<b>Tratamento-Semana 1</b>	10,64 ± 5,025	21,78 ± 4,258	11,2 ± 6,235	-1,063 ± 4,432###
<b>Tratamento-Semana 2</b>	24,24 ± 8,057	36,4 ± 7,54	25,06 ± 9,326	0,2 ± 7,936####+
<b>Tratamento-Semana 3</b>	32,25 ± 13,183	46,49 ± 6,927	35,19 ± 8,831	-0,725 ± 7,266*****++
<b>Tratamento-Semana 4</b>	50,14 ± 9,882	75,23 ± 36,786***	47,68 ± 10,949###	13,39 ± 6,81*****++

Os dados representam média  $\pm$  desvio padrão. \*\*\*  $p < 0,001$  vs NC + V; ###  $p < 0,001$  vs C + V; +++  $p < 0,001$  vs C + FXT. NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2: 17 $\beta$ -estradiol.

### 4.3. Perfil bioquímico

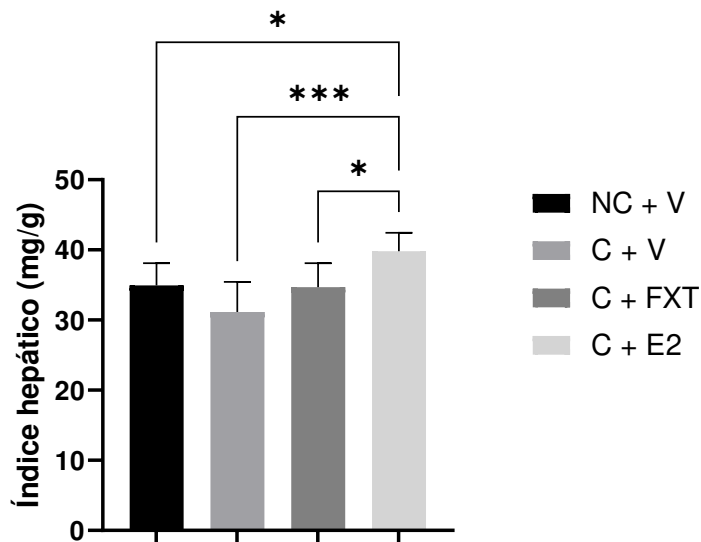
Na avaliação da bioquímica, não houve diferença entre os grupos ao analisarmos as funções renal e hepática (Figura 2A-D). Em relação ao perfil lipídico, os animais que receberam reposição hormonal apresentaram colesterol total (NC + V:  $71,75 \pm 9,38$  mg/dL; C + V:  $85,75 \pm 23,16$  mg/dL; C + FXT:  $86,38 \pm 11,61$  mg/dL; C + E2:  $114,10 \pm 18,40$  mg/dL; NC + V vs C + E2,  $p < 0,001$ ; C + V vs C + E2,  $p < 0,01$ ; C + FXT vs C + E2,  $p < 0,05$ ), triglicerídeos (NC + V:  $115,40 \pm 42,04$  mg/dL; C + V:  $148,10 \pm 52,76$  mg/dL; C + FXT:  $138,80 \pm 40,28$  mg/dL; C + E2:  $225,40 \pm 46,94$  mg/dL; NC + V vs C + E2,  $p < 0,001$ ; C + V vs C + E2,  $p < 0,05$ ; C + FXT vs C + E2,  $p < 0,01$ ) e VLDL (NC + V:  $23,13 \pm 8,56$  mg/dL; C + V:  $29,63 \pm 10,58$  mg/dL; C + FXT:  $27,63 \pm 8,18$  mg/dL; C + E2:  $45,00 \pm 9,20$  mg/dL; NC + V vs C + E2,  $p < 0,001$ ; C + V vs C + E2,  $p < 0,05$ ; C + FXT vs C + E2,  $p < 0,01$ ) significativamente maior em relação aos demais grupos. Além disso, o grupo C + E2 também apresentou aumento do LDL (C + E2:  $44,75 \pm 8,76$  mg/dL) quando comparado aos grupos controle não castrado (NC + V:  $23,29 \pm 4,15$  mg/dL;  $p = 0,0019$ ) e castrado (C + V:  $36,50 \pm 14,29$  mg/dL,  $p = 0,0484$ ). Na avaliação do HDL não foram observadas diferenças significativas (NC + V:  $22,50 \pm 2,95$  mg/dL; C + V:  $25,50 \pm 5,34$  mg/dL; C + FXT:  $21,50 \pm 2,82$  mg/dL; C + E2:  $26,50 \pm 4,44$  mg/dL;  $p > 0,05$ , para todas as comparações).



**Figura 2:** Avaliação bioquímica dos níveis séricos de (A) ureia, (B) creatinina, (C) TGO, (D) TGP, (E) triglicerídeos (TGL), (F) colesterol total, (G) lipoproteína de baixa densidade (LDL), (H) lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Os dados representam a média  $\pm$  DP, \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ . NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2: 17 $\beta$ -estradiol.

#### 4.4. Morfometria hepática

No que concerne ao índice hepático, nossos resultados evidenciaram que a OOF não o alterou (NC + V:  $34,93 \pm 3,16$  mg/g; C + V:  $31,13 \pm 4,29$  mg/g; NC + V vs C + V,  $p > 0,05$ ; Figura 3). Contudo, a terapia de reposição hormonal elevou este índice em relação aos demais grupos (C + FXT:  $34,69 \pm 3,43$  mg/g; C + E2:  $39,83 \pm 2,61$  mg/g; NC + V e C + FXT vs C + E2,  $p < 0,05$ ; C + V vs C + E2,  $p = 0,0001$ ; Figura 3).



**Figura 3:** Avaliação do índice hepático. \* $p < 0,05$  e \*\*\* $p < 0,001$ . NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2:  $17\beta$ -estradiol.

#### 4.5. Eletrocorticografia

Na análise da ECoG, o grupo em deprivação hormonal (C + V:  $0,51 \pm 0,08 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) apresentou poder total de onda menor que o grupo intacto (NC + V:  $0,65 \pm 0,11 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p = 0,0168$ ) e a reposição de E2 reverteu este fenômeno (C + E2:  $0,71 \pm 0,04 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p = 0,0007$  vs C + V;  $p > 0,05$  vs NC + V). Entretanto, a FXT não foi capaz de reverter o desequilíbrio na atividade elétrica cerebral induzida pela deprivação hormonal nem ser semelhante à reposição hormonal (C + FXT:  $0,40 \pm 0,38 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p < 0,0001$  vs NC + V;  $p > 0,05$  vs C + V;  $p < 0,0001$  vs C + E2; Figura 4A).

Na avaliação do poder de onda delta, foi observado que a deprivação hormonal (C + V:  $0,30 \pm 0,027 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) acarretou aumento desse parâmetro quando comparado com o grupo intacto (NC + V:  $0,24 \pm 0,029 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p = 0,0003$ ) e que a reposição hormonal não foi capaz de reverter este efeito (C + E2:  $0,30 \pm 0,013 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p < 0,0001$  vs NC + V;  $p > 0,05$  vs C + V). Porém, o tratamento com FXT aboliu a ação da castração sobre o perfil de onda delta (C + FXT:  $0,13 \pm 0,021 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p < 0,0001$  vs C + V; Figura 4B).

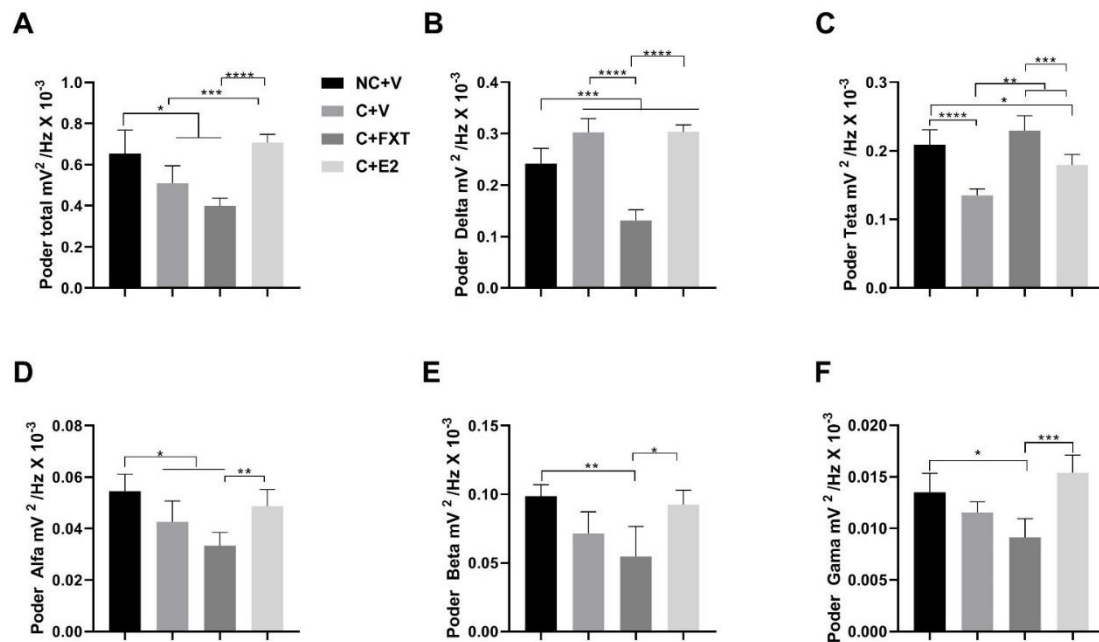
No que tange ao poder de onda teta, a castração reduziu as oscilações teta quando comparada ao grupo intacto (NC + V:  $0,21 \pm 0,021 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ; C + V:  $0,13 \pm 0,009 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p < 0,0001$ ), sendo revertido pelo tratamento com FXT (C + FXT:  $0,23 \pm 0,021 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p < 0,0001$  vs C + V;  $p > 0,05$  vs NC + V). Entretanto, o grupo em reposição hormonal (C + E2:  $0,18 \pm 0,015 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) melhorou o perfil de teta em relação ao grupo

C + V ( $p = 0,0014$ ), mas não o suficiente para reverter a redução que a deprivação hormonal causou ( $p = 0,0219$ , vs NC + V) nem foi semelhante aos achados induzidos pela FXT ( $p = 0,0002$ ; Figura 4C).

Na análise do poder de onda alfa, foi observado que o grupo em deprivação hormonal (C + V:  $0,042 \pm 0,008 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) apresentou redução nessas oscilações quando comparados com o grupo intacto (NC + V:  $0,054 \pm 0,006 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p = 0,02$ ). A FXT não alterou o padrão de ondas alfa na castração (C + FXT:  $0,033 \pm 0,005 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p < 0,0001$  vs NC + V;  $p > 0,05$  vs C + V). Além disso, a reposição hormonal não exerceu influência sobre ondas alfa (C + E2:  $0,048 \pm 0,006 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p > 0,05$  vs NC + V e vs C + V; Figura 4D).

Avaliando o poder de onda beta, foi notado que a deprivação hormonal não alterou esse tipo de oscilação (C + V:  $0,07 \pm 0,016 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) quando comparado ao grupo intacto (NC + V:  $0,10 \pm 0,008 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p > 0,05$ ). No entanto, o tratamento com a FXT (C + FXT:  $0,05 \pm 0,022 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) inibiu os disparos de onda beta quando comparado ao grupo intacto ( $p = 0,0072$ ) e a reposição hormonal, mais uma vez, não exerceu influência sobre ondas beta (C + E2:  $0,09 \pm 0,010 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p > 0,05$  vs NC + V e vs C + V; Figura 4E).

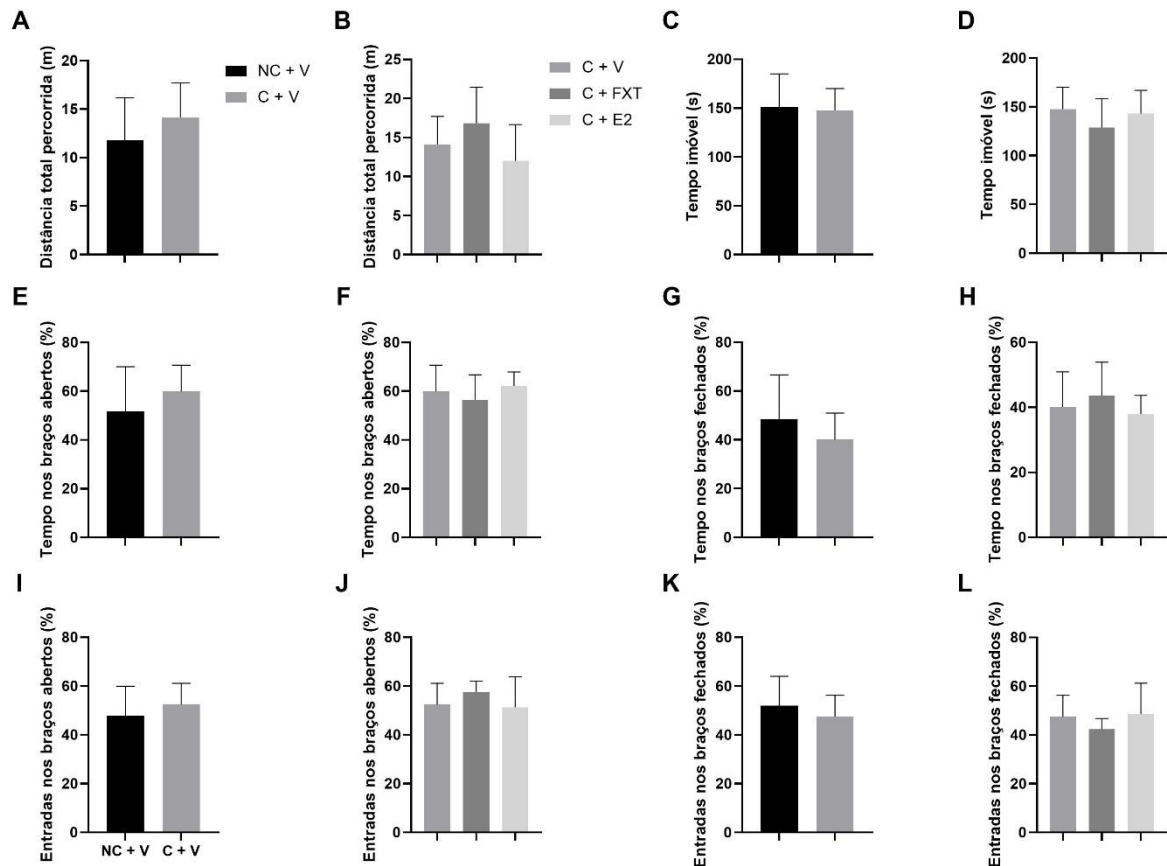
A análise de ondas gama apresentou o mesmo padrão ocorrido no poder de onda beta, onde a FXT (C + FXT:  $0,009 \pm 0,0018 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ) inibiu os disparos de onda gama em relação aos intactos (NC + V:  $0,013 \pm 0,0002 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p = 0,0229$ ) e o E2 não exerceu efeito sobre este parâmetro (C + E2:  $0,015 \pm 0,0017 \text{ mV}^2/\text{Hz} \times 10^{-3}$ ;  $p > 0,05$  vs NC + V e vs C + V; Figura 4F).



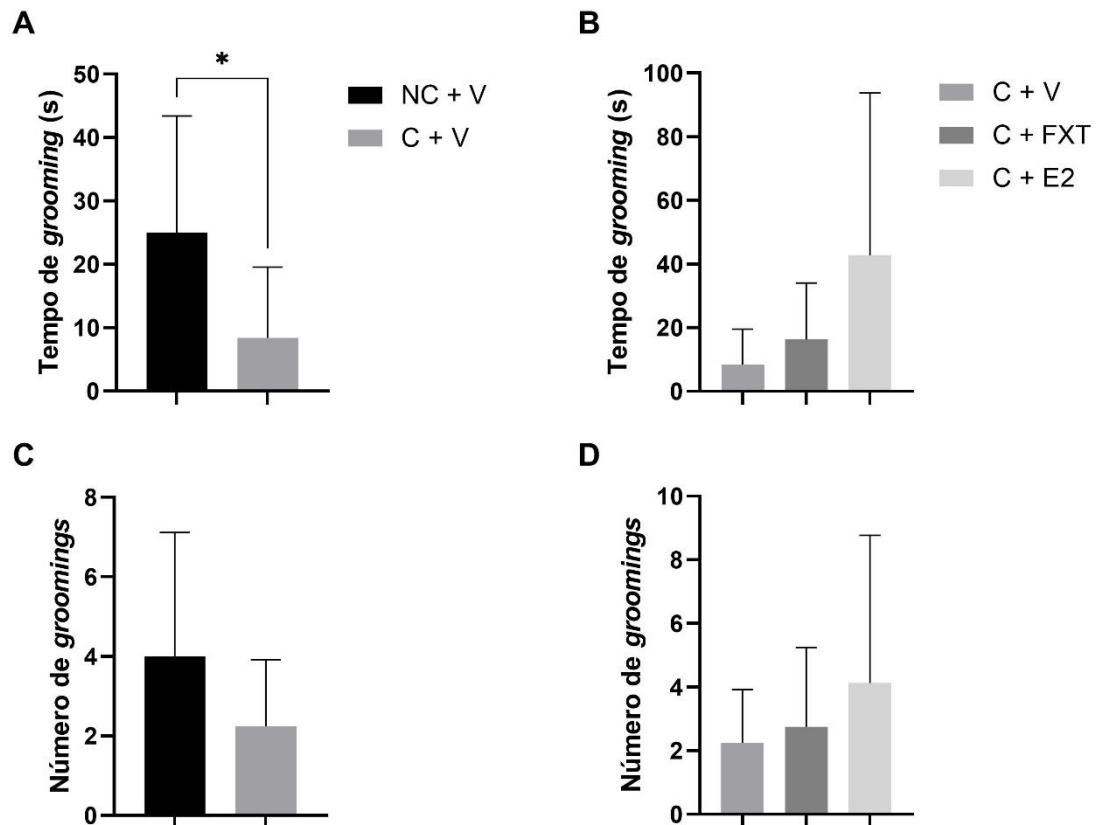
**Figura 4:** Distribuição linear de frequências obtida com os registros eletrocorticográficos. (A) Distribuição linear do poder total de ondas até 40Hz. (B) Distribuição de frequência linear de ondas delta. (C) Distribuição de frequência linear de ondas teta. (D) Distribuição de frequência linear de ondas alfa. (E) Distribuição de frequência linear de ondas beta. (F) Distribuição de frequência linear de ondas gama. Os dados representam a média  $\pm$  DP, \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$ . NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2: 17 $\beta$ -estradiol.

#### 4.6. Análise comportamental

Na avaliação comportamental no LCE, não houve diferença estatística entre os grupos em nenhum dos parâmetros analisados (Figuras 5A-L). Por outro lado, no teste do *splash*, também não foi notada diferença entre os grupos no número de eventos de *grooming* (Figuras 6C e 6D), mas, na análise do tempo total de *grooming*, os animais em deprivação hormonal (C + V:  $8,37 \pm 11,19$  s) passaram menos tempo realizando *grooming* (Figura 6A) que os animais intactos (NC + V:  $25,00 \pm 18,38$  s;  $p = 0,0295$ ). Os tratamentos não exerceram efeito sobre o tempo total de *grooming* (C + FXT:  $16,25 \pm 17,82$ s; C + E2:  $42,75 \pm 51,06$ s; C + V vs C + FXT e C + E2,  $p > 0,05$ ; Figura 6B).



**Figura 5:** Análise dos parâmetros comportamentais no labirinto em cruz elevado. (A) distância total percorrida (em metros), comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal; (B) distância total percorrida (em metros), comparando os grupos ooforectomizados; (C) Tempo de imobilidade (em segundos), comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal; (D) Tempo de imobilidade (em segundos), comparando os grupos ooforectomizados; (E) Porcentagem de tempo (em segundos) nos braços abertos, comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal; (F) Porcentagem de tempo (em segundos) nos braços abertos, comparando os grupos ooforectomizados; (G) Porcentagem de tempo (em segundos) nos braços fechados, comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal; (H) Porcentagem de tempo (em segundos) nos braços fechados, comparando os grupos ooforectomizados; (I) Porcentagem de entradas nos braços abertos, comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal; (J) Porcentagem de entradas nos braços abertos, comparando os grupos ooforectomizados; (K) Porcentagem de entradas nos braços fechados, comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal e (L) Porcentagem de entradas nos braços fechados, comparando os grupos ooforectomizados. Os dados representam a média  $\pm$  DP. NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2: 17 $\beta$ -estradiol.



**Figura 6:** Perfil comportamental no teste do *splash*. (A) tempo (em segundos) gasto realizando *grooming*, comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal; (B) tempo (em segundos) gasto realizando *grooming*, comparando os grupos ooforectomizados; (C) número total de *groomings* realizados, comparando o grupo intacto com o grupo em deprivação hormonal e (D) número total de *groomings* realizados, comparando os grupos ooforectomizados. Os dados representam a média  $\pm$  DP, \*  $p < 0,05$ . NC: não castrado; C: castrado; V: veículo; FXT: fluoxetina; E2: 17 $\beta$ -estradiol.

## 5. DISCUSSÃO

O período da perimenopausa é correlato com a ocorrência de diversos sintomas, afetando o sistema cardiovascular, o sono, a cognição, o humor, o funcionamento bioquímico e outros, os quais costumam apresentar melhora após a realização de terapia de reposição hormonal. Nesse contexto, é possível destacar a depressão, a dislipidemia e a obesidade como alterações frequentes da perimenopausa que são passíveis de tratamento com terapia de reposição hormonal (Potter et al., 2018; Santoro et al., 2020). Diante disso, esta pesquisa utilizou de uma análise multimodal para encontrar novas respostas acerca dos efeitos da terapia de reposição hormonal com 17 $\beta$ -estradiol em ratas submetidas à menopausa cirúrgica por ooforectomia bilateral a curto prazo.

Nesse contexto, nas análises da variação de peso e de ingesta de comida, nossos resultados evidenciaram que os animais em deprivação hormonal (C + V) tiveram maior ganho de peso comparado aos demais grupos ao final do tratamento, enquanto o grupo que recebeu terapia de reposição hormonal apresentou a menor variação de peso. Tais resultados são coerentes com a literatura, dado que diversos estudos mostram que a ooforectomia aumenta o peso corporal, podendo levar à obesidade, enquanto que a reposição de  $17\beta$ -estradiol reverte esse fenômeno (Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013; Nishimura et al., 2020; Malinská et al., 2021). Ainda, Nishimura e colaboradores (2020) evidenciaram que a fluoxetina reduziu o ganho de peso em animais ooforectomizados por mecanismos de atuação semelhantes aos do E2, o que está de acordo com nossos resultados de que o grupo C + FXT não teve variação de peso significativamente diferente em relação ao grupo intacto quando avaliado todas as semanas de tratamento.

Apesar dessas alterações do ganho de peso, não houve diferença significativa na ingesta de comida entre os grupos durante quase todo o período de tratamento. Tal situação é dissonante dos achados expostos no estudo de Nishimura et al. (2020), o qual mostra que a ooforectomia aumenta a ingesta de alimentos e a administração de E2 e de FXT diminuem essa ingesta, sendo estes fatores importantes pelas variações no ganho de peso na menopausa, na terapia de reposição hormonal e no tratamento da depressão na menopausa. Porém, Mauvais-Jarvis, Clegg e Hevener (2013) evidenciam que somente a hiperfagia não é responsável pela obesidade após a menopausa cirúrgica, pois o ganho de peso está atrelado à perda global da ação de  $ER\alpha$  que resulta em diminuição do gasto energético, além de Namjou e colaboradores (2018) terem elencado que a diminuição sérica de E2 aumenta a agregação de gordura visceral e diminui o consumo de lipídios. Ainda, Butera (2010) mostrou que a terapia de reposição hormonal com E2 tem efeito sobre o ganho de peso, possivelmente, não apenas através da modulação da ingesta de comida, mas também por meio de uma ação direta sobre o tecido adiposo por meio da inibição da lipoproteína lipase, a qual é responsável pela lipogênese (Chen; Madak-Erdogan, 2018). Dessarte, hipotetizamos que, apesar de não ter havido hiper ou hipofagia, os animais em deprivação hormonal tiveram maior ganho de peso devido à diminuição do consumo energético, enquanto que o grupo que recebeu E2 possivelmente teve esse quadro impedido devido a uma ação direta no tecido adiposo de inibição da lipogênese.

Em relação à avaliação da bioquímica, não houve diferença significativa entre os grupos na análise da função renal. Este resultado contrasta com o experimento de El-Gnedy, Elsaed e Abdallah (2019), no qual a ooforectomia elevou a creatinina plasmática 6 semanas após a cirurgia e o E2 reverteu este fenômeno em ratas. Todavia, nossa pesquisa está de acordo com o

experimento de Zhang et al. (2019), em que não encontraram alterações séricas de creatinina após 6 semanas da OOF em ratas e também não evidenciaram diferença significativa na creatinina plasmática entre os grupos de deprivação hormonal e terapia de reposição hormonal.

No que tange à função hepática, não observamos alterações nas transaminases. Quanto a isso, os estudos são divergentes, Lim et al. (2013) não encontraram diferença entre o grupo ooforectomizado e o grupo intacto após 9 semanas da cirurgia, mas as ratas em terapia de reposição hormonal apresentaram níveis séricos de enzimas hepáticas significativamente menor que os em deprivação hormonal, mas não diferentes do controle. Porém, Lim et al. (2014) mostraram que a OOF em ratas, após 9 semanas da cirurgia, eleva as enzimas hepáticas e a terapia de reposição hormonal reverte este quadro, enquanto Younan et al. (2019) evidenciaram que a OOF, após 6 semanas, aumentou apenas TGP em ratas. Portanto, devido a tais conflitos na literatura, sugerimos que são necessários mais estudos para compreender o efeito da deprivação hormonal e da terapia de reposição hormonal nas transaminases hepáticas.

Na análise do perfil lipídico, nossos resultados evidenciaram que a deprivação hormonal não alterou significativamente TGL, CT, HDL, LDL E VLDL em relação ao grupo intacto. Enquanto a terapia de reposição hormonal elevou os índices de TGL, CT, VLDL em relação a todos os demais grupos e aumentou LDL apenas em relação aos grupos NC + V e C + V. Estes resultados contrastam com a literatura, visto que a deprivação hormonal é largamente associada à dislipidemia, elevando colesterol total, LDL, VLDL e TGL, enquanto que a terapia de reposição hormonal costuma combater este quadro (Lim; Lee; Kim, 2014; Ren et al., 2018; Nanashima et al., 2020). Porém, alguns estudos mostram que a deprivação hormonal pode reduzir triglicérides e a terapia de reposição hormonal pode aumentar, mesmo se a administração de E2 for subcutânea (Liu et al., 2004; Hao et al., 2010; Kim; Baek; Rhyu, 2011). Ainda, no experimento de Agacayak et al. (2015), a deprivação hormonal aumentou o CT, mas o LDL, o HDL e o TGL não foram estatisticamente diferentes do controle, enquanto que o E2 elevou significativamente o LDL e o Colesterol Total em relação ao controle. Por outro lado, Bhattarai et al. (2017) observaram que a OOF apenas aumentou o TGL, mas não o CT. Dessa forma, nós sugerimos que essas diferenças podem estar associadas ao tempo de ooforectomia e/ou ao veículo administrado e que são necessários mais estudos para entender os fatores associados aos efeitos da ooforectomia no metabolismo lipídico.

No que tange ao fato de nossos resultados terem mostrado que o tratamento com E2 causou dislipidemia, aumentando CT, LDL, VLDL e TGL, não foram encontradas pesquisas que mostrem a administração terapia de reposição hormonal subcutânea com E2 causando alteração de todos estes parâmetros juntos. Diante disso, nós hipotetizamos que isso possa ter

sido causado devido à dose administrada na terapia de reposição hormonal ser possivelmente suprafsiológica, já que muitos artigos utilizam apenas 10 µg/kg s.c., que é cerca de 6 a 10 vezes menor que a dose que utilizamos (Lim; Kim; Kim, 2013; Lim; Lee; Kim, 2014; Santos et al., 2016; Bansal; Chopra, 2021). Pois, sabe-se que doses elevadas de E2 podem causar resistência à insulina e a baixa sensibilidade à insulina está associada com a ocorrência de dislipidemia (Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013; Marchand et al., 2017; Bjornstad; Eckel, 2018; Yuasa et al., 2021). Nesse sentido, mais experimentos são necessários para confirmar essa correlação entre o nosso modelo experimental e resistência à insulina.

Na avaliação do índice hepático, Jdidi et al. (2019) mostraram que tanto o E2 quanto a OOF não causaram alterações em camundongos. Além disso, Starčević e colaboradores (2017) evidenciaram que a ooforectomia aumentou o índice hepático em ratas fêmeas. Ainda, Zhu et al. (2021) relataram que ratos machos em modelo de diabetes mellitus tipo 2 tiveram seu peso corporal diminuído e seu índice hepático aumentado. Dessa forma, como nosso experimento evidenciou que a deprivação hormonal não alterou o índice hepático e o grupo em terapia de reposição hormonal aumentou este índice e causou dislipidemia em relação aos demais grupos, sugerimos a necessidade de mais pesquisas frente a uma possível resistência à insulina causada pela dose de E2 utilizada neste trabalho.

Quanto à ECoG, pouco se sabe acerca da influência da menopausa cirúrgica por ooforectomia a curto prazo e da terapia de reposição hormonal com 17β-estradiol nos padrões eletrofisiológicos e seus impactos no comportamento. No que tange ao poder total de onda, sabe-se que a diminuição deste é correlata com aumento de gravidade em casos de demência (Cope; Murai; Sukoff Rizzo, 2022). Diante disso, sugerimos a necessidade de realizar mais experimentos para avaliar a cognição e a memória dos animais neste modelo experimental, pois o grupo em deprivação hormonal apresentou menor poder total de onda que o grupo intacto e o grupo E2. Tal fato estaria de acordo com a literatura, a qual evidencia que a perimenopausa e a menopausa causam alterações cognitivas (Greendale; Derby; Maki, 2011; Luine, 2014).

Em relação à atividade de ondas delta, é sabido que esta aumenta durante o sono e na maioria das situações relacionadas a dano tecidual cerebral (Knyazev et al., 2012; Chen et al., 2016). Ainda, estudos apontam que as ondas delta estão aumentadas na depressão apática, na anedonia, na esquizofrenia, na ansiedade, nas demências, no transtorno obsessivo compulsivo e na lesão cerebral traumática (Iznak; Iznak; Sorokin, 2011; Knyazev, 2012; Buhagiar et al., 2020). Nesse contexto, diante dos nossos achados de aumento de poder de onda delta e de diminuição do tempo de *grooming* dos animais em deprivação hormonal em comparação aos intactos, sugerimos que a menopausa cirúrgica por ooforectomia a curto prazo pode simular

quadros semelhantes à apatia. Corroborando nossa hipótese, Buhagiar et al. (2020) mostraram que pacientes com lesão cerebral traumática leve apresentaram elevação de potencial delta e que isto foi acompanhado por prejuízo na ativação da memória de trabalho e da hemodinâmica do córtex pré-frontal dorsolateral (CPF DL), sendo que o CPF DL tem impacto importante em diversos componentes cognitivos, a exemplo da formação da memória, e que as alterações nesta estrutura estão associadas ao prejuízo de memória ocasionado pela redução sérica de E2 na menopausa (Guo; Raglang; Carter, 2019; Konishi et al., 2019). Associando tais informações com o resultado encontrado por Chen e colaboradores (2016) de que pacientes com esquizofrenia com maior prejuízo cognitivo apresentaram aumento de potencial de delta em lobo frontal, hipotetizamos que a deprivação hormonal, neste experimento, pode ter acarretado prejuízo cognitivo relacionado à memória de trabalho, gerando o comportamento semelhante ao apático associado à elevação do poder delta. Além disso, somente a FXT foi capaz de abolir o efeito da castração sobre o perfil de ondas delta no presente trabalho. Dessa maneira, outro experimento é necessário para aplicar testes comportamentais que avaliem a cognição com maior precisão para ratificar esta hipótese.

Ondas teta estão relacionadas com processamento emocional e são essenciais para o aprendizado e formação de memória (De Aguiar Neto; Rosa, 2019; Soltani et al., 2020). A diminuição do poder de ondas teta tem sido relacionada com redução da atenção ao conteúdo emocional em pessoas com depressão severa e ao prejuízo cognitivo em mulheres de meia idade e em indivíduos com depressão (Kober et al., 2016; Roohi-Azizi et al., 2017; Kane; Cavanagh; Dillon 2019; Bocharov et al., 2020). Além disso, é sabido que o poder de onda teta aumenta com a atenção necessária que antecede o início de um movimento, ou seja, correlaciona cognição e motricidade (Tsujimoto; Shimazu; Isomura, 2006). Aqui, mostramos que animais com deprivação hormonal apresentaram menor poder de onda teta em relação ao grupo intacto, associado a uma diminuição do tempo de autocuidado (tempo realizando *grooming*), que pode ser conexo a um comprometimento do processamento emocional. No entanto, outra hipótese viável é que a apatia tenha ocorrido devido ao não aumento do poder de onda teta que é exigido para a atenção que precede um movimento, tendo isso acarretado a diminuição do tempo de realização de *grooming* neste experimento, pois a deprivação de E2 também pode ocasionar alterações nos comportamentos cognitivo e motor (Luine, 2014). Ainda, tanto a FXT quanto o E2 foram capazes de aumentar o poder de ondas teta, embora apenas a FXT tenha impedido totalmente o efeito da ooforectomia no poder de onda teta. Tal situação, aliada ao fato de que o aumento do poder de onda teta no córtex frontal é preditor de boa resposta de ISRS ao tratamento de transtorno depressivo maior, sugere que o tratamento com fluoxetina traria bom

prognóstico a longo prazo em caso de o mecanismo subjacente ao comportamento apático ter sido o prejuízo do processamento emocional-afetivo (Olbrich; Arns, 2013; Kos et al., 2016). Além disso, sabe-se que a FXT também pode melhorar déficits cognitivos, o que também pode estar associado a esse aumento de atividade teta, porém, mais experimentos são necessários para avaliar se houve comprometimento de cognição e memória neste modelo experimental (Liu et al., 2021).

As ondas alfa refletem relaxamento e atenção cerebral, sendo relacionadas com cognição e formação de memória (Desai; Tailor; Bhatt, 2015; Yeum; Kang, 2018; De Aguiar Neto; Rosa, 2019). Sabe-se que tanto o aumento quanto a diminuição da atividade de alfa podem estar associado à depressão e que a redução está relacionada a sintomas negativos da esquizofrenia, como a apatia (Boutros et al., 2014; Roohi-Azizi et al., 2017; Bortolon et al., 2018; Kesebir; Yosmaoğlu, 2018). Em nossa pesquisa, foi observado que a deprivação hormonal induziu a redução de disparos alfa, sugerindo que essa diminuição pode estar associada à manifestação do comportamento de apatia observado na diminuição do tempo de *grooming* no teste do *splash* e que isso pode estar relacionado a um componente do comportamento semelhante ao depressivo. Em contrapartida, Estumano et al. (2019) evidenciaram que a redução do poder de onda alfa foi correlata ao baixo desempenho motor, possivelmente por diminuição do planejamento motor, de ratos macho Wistar castrados. Dessa forma, sabendo que o E2 impacta nas atividades motora e cognitiva, também é plausível sugerir que, assim como na análise da atividade teta, a diminuição do comportamento de autocuidado tenha ocorrido devido a uma redução do desempenho motor atrelado à cognição, já que o teste do *splash* avalia o tempo e o número de movimentos de limpeza dos animais (Luine, 2014). Além disso, é necessário a realização de outros experimentos para averiguar se ocorre alterações de memória e cognição neste modelo experimental.

Neste trabalho, apenas a FXT causou redução dos disparos beta e gama. Quanto a isso Fitzgerald et al. (2019) evidenciam que a administração crônica de fluoxetina suprime os disparos no córtex pré-frontal. Isso explica a razão de a fluoxetina ter apresentado menor poder total de onda e redução nas oscilações delta, alfa, beta e gama quando comparado com o grupo intacto e com o grupo que recebeu terapia de reposição hormonal.

O LCE analisa ansiedade, que comumente está associada à depressão (Becker; Pinhasov; Ornoy, 2021, Borruto et al., 2021). A literatura evidencia que a castração de curta duração não causa ansiedade (Xu et al., 2019; Ge et al., 2020). Arrant et al. (2013) mostraram que a FXT é ansiogênica em adolescentes, mas não em adultos. Ainda, Furuta et al., (2013) demonstraram que o E2 pode ter ação ansiolítica. Nesse sentido, nossos resultados estão em

consonância com a literatura, pois a deprivação hormonal e os tratamentos com FXT e E2 não alteraram, em animais adultos, os parâmetros analisados no LCE.

Concernente ao teste do *splash*, este experimento evidenciou que a deprivação hormonal diminuiu o tempo de *grooming* em relação ao grupo controle, sugerindo um comportamento semelhante ao apático nos animais ooforectomizados. Na análise do teste de *splash*, estudos evidenciaram que diversos modelos de depressão acarretam a diminuição no tempo de realização de *grooming* (Pesarico et al., 2016; Tchekalarova et al., 2018; Sasibhushana; Shankaranarayana; Srikumar, 2019). Por outro lado, sabe-se que a apatia é um excelente preditor de má cognição em diversas patologias, tendo sido evidenciada, na revisão publicada por Kos e colaboradores (2016), a hipótese de Levy e Dubois (2006) de que a apatia apresenta três componentes correlatos ao prejuízo nos processamentos emocional-afetivo, de autoativação e cognitivo, em que este último causa a perda das funções executivas (geração de ideias, coordenação e avaliação) necessárias para estabelecer um comportamento, podendo ter como causa estrutural, dentre outras, alterações no córtex pré-frontal dorso-lateral. Dessa forma, atrelando isso aos nossos resultados na EcoG e o que foi discutido acerca deles, é possível que o comportamento apático observado neste experimento seja devido a um componente cognitivo e/ou emocional, sendo necessário a realização de experimentos que avaliem a cognição e outros aspectos do comportamento semelhante ao depressivo para obter respostas mais consolidadas.

Ademais, os tratamentos com FXT e E2 não atenuaram o comportamento semelhante ao apático causado pela deprivação hormonal, apesar de terem acarretado respostas promissoras na EcoG, a exemplo da melhora do poder total de onda acarretado pela terapia de reposição hormonal com E2, da diminuição da atividade de onda delta pela administração da FXT, bem como da elevação, tanto pela administração de FXT quanto pela terapia de reposição hormonal com E2, do poder de onda teta, que está relacionada tanto à questão emocional quanto à cognitiva. Sabe-se que o E2 possui efeito sobre o sistema imunológico, desencadeando a produção de citocinas anti-inflamatórias, bem como induzindo a liberação de neurotrofinas como o BDNF, o que estimula a neurogênese, que é uma das principais atuações de antidepressivos (Santarelli et al., 2003; Takuma et al., 2007; Slowik et al., 2018). Além disso, Mahmoud et al. (2016) mostraram que três semanas de tratamento com FXT, em um modelo de ECI em ratas castradas a longo prazo, acarretaram efeito anti-inflamatório e estimularam a neurogênese e a neuroplasticidade, embora não tenham melhorado os comportamentos semelhante ao ansioso e ao de desespero e só tenham revertido a anedonia ao fim da terceira semana de administração. Nesse sentido, levando em conta o aumento de ondas teta na EcoG,

nossa hipótese é que a FXT e o E2 poderiam reverter o comportamento semelhante ao apático, seja este causado por um componente emocional ou cognitivo, possivelmente em condições com aumento do tempo de tratamento, pois os mecanismos de anti-inflamação e de estímulo de neurogênese e neuroplasticidade são essenciais tanto para a melhora do comportamento semelhante ao depressivo quanto para a redução do dano à cognição (Hötting, Röder, 2013; Mahmoud et al., 2016; Slowik et al., 2018; Scheffer, Latini, 2020; Culig; Chu; Bohr, 2022; Kim et al., 2022). Ademais, mais estudos são necessários para avaliar a ação deste modelo experimental sobre outros aspectos relacionados à depressão, a exemplo da anedonia e do comportamento de desespero, bem como para avaliar a cognição dos animais.

Tomados em conjunto, esses dados sugerem que a terapia de reposição hormonal possa ter gerado resistência à insulina devido à dose elevada de E2 utilizada, causando dislipidemia e aumento do índice hepático no grupo C + E2, sendo necessária a realização de mais testes para validar essa relação. Ainda, sugerimos que a ooforectomia foi efetiva em induzir apatia, mas não ansiedade, nos animais, simulando uma característica que pode estar associada tanto à depressão perimenopausa quanto à diminuição da cognição que ocorre neste período da vida feminina. Além disso, evidenciamos que os tratamentos com FXT e E2 não apresentaram ação ansiogênica e mostraram-se promissores na avaliação da ECoG, mas não na modulação do comportamento semelhante ao apático medido pelo TS.

## **6. CONCLUSÃO**

Dessa maneira, nosso modelo experimental evidenciou que a terapia de reposição hormonal com E2 gerou menor ganho de peso em relação aos demais grupos, mesmo sem haver diferença estatística entre a quantidade de ração ingerida, e isso foi associado à dislipidemia e aumento no índice hepático. Diante disso, hipotetizamos uma possível resistência à insulina gerada nos animais em terapia de reposição hormonal, talvez devido à dose de E2 utilizada, porém são necessários mais testes para confirmar essa relação.

Ainda, com os resultados obtidos, é possível sugerir fortemente que a diminuição do poder total de onda, o aumento de ondas delta e a diminuição de ondas teta e alfa estão associados à expressão do comportamento semelhante ao apático neste modelo de perimenopausa e que tal manifestação comportamental pode ter ocorrido por alteração no processamento emocional, mas principalmente por conta de mecanismos relacionados à cognição. Em relação aos tratamentos, a fluoxetina conseguiu abolir o efeito da ooforectomia nos padrões das ondas delta e teta e o tratamento com o E2 melhorou o padrão de oscilações

teta e impediu o prejuízo ao poder total de onda ocasionado pela deprivação hormonal, evidenciando que esses tratamentos têm efeitos positivos sobre a eletrofisiologia cerebral relacionado com o comportamento semelhante ao apático na perimenopausa.

Além disso, a ooforectomia e os tratamentos não geraram comportamento semelhante ao ansioso no LCE. Porém, a castração foi efetiva em causar comportamento semelhante à apatia no animal, verificada no TS, o que não foi revertido com os tratamentos, mesmo com a FXT e o E2 tendo exercido ações benéficas nos padrões de onda cerebrais. Nesse sentido, sugerimos que são necessários mais estudos para avaliar se o aumento da duração das terapias com FXT e E2 reverteriam o comportamento de apatia e para verificar o efeito deste modelo de perimenopausa e do tratamento com FXT e E2 em outros aspectos do comportamento depressivo e na cognição.

## REFERÊNCIAS

- AGACAYAK, E.; BASARANOGLU, S.; TUNC, S.Y.; ICEN, M.S.; FINDIK, F.M.; KAPLAN, I.; EVLIYAOGU, O.; GUL, T. Oxidant/antioxidant status, paraoxonase activity, and lipid profile in plasma of ovariectomized rats under the influence of estrogen, estrogen combined with progesterone, and genistein. **Drug Des Devel Ther.** 2015 Jun 10;9:2975-82. doi: 10.2147/DDDT.S82263. PMID: 26089646; PMCID: PMC4468937
- DE AGUIAR NETO, F.S.; ROSA, J.L.G. Depression biomarkers using non-invasive EEG: A review. **Neurosci Biobehav Rev.** 2019 Oct;105:83-93. doi: 10,1016/j.neubiorev.2019.07.021. Epub 2019 Aug 7. PMID: 31400570.
- AMERICAM PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorder. 5th ed. Washington: **APA**; 2014.
- ANAGNOSTIS, P.; BITZER, J.; CANO, A.; CEAUSU, I.; CHEDRAUI, P.; DURMUSOGLU, F.; ... REES, M. (2020). Menopause symptom management in women with dyslipidemias: an EMAS clinical guide. **Maturitas.** doi:10.1016/j.maturitas.2020.03.007
- ARMENI, E.; PASCHOU, S. A.; GOULIS, D. G.; LAMBRINOUDAKI, I. (2021). Hormone therapy regimens for managing the menopause and premature ovarian insufficiency. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism,** 101561. doi:10.1016/j.beem.2021.101561
- ARRANT, A.E.; COBURN, E.; JACOBSEN, J.; KUHN, C.M. Lower anxiogenic effects of serotonin agonists are associated with lower activation of amygdala and lateral orbital cortex in adolescent male rats. **Neuropharmacology.** 2013 Oct;73:359-67. doi: 10,1016/j.neuropharm.2013.05.030, Epub 2013 Jun 15. PMID: 23774134; PMCID: PMC3812685.
- BACON, J. L. (2017). The Menopausal Transition. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America,** 44(2), 285–296. doi:10.1016/j.ogc.2017.02.008
- BANSAL, S.; CHOPRA, K. Selective ER- $\beta$  agonists alleviate neuronal deficits in insulin-resistant estrogen-deficient rats. **Climacteric.** 2021 Aug;24(4):415-420. doi: 10.1080/13697137.2020.1857353. Epub 2021 Mar 10. PMID: 33719783.
- BECKER, M.; PINHASOV, A.; ORNOY, A. Animal Models of Depression: What Can They Teach Us about the Human Disease? **Diagnostics (Basel).** 2021 Jan 14;11(1):123. doi: 10,3390/diagnostics11010123. PMID: 33466814; PMCID: PMC7830961.

BHATTARAI, K.; ADHIKARI, S.; FUJITANI, M.; KISHIDA, T. (2017). Dietary daidzein, but not genistein, has a hypocholesterolemic effect in non-ovariectomized and ovariectomized female Sprague-Dawley rats on a cholesterol-free diet. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 81(9), 1805–1813. doi:10.1080/09168451.2017.1350562

BJORNSTAD, P.; ECKEL, R.H. (2018). Patogênese dos distúrbios lipídicos na resistência à insulina: uma breve revisão. **Current Diabetes Reports**, 18(12). doi:10.1007/s11892-018-1101-6

BOCHAROV, A.V.; SAVOSTYANOV, A.N.; TAMOZHNIKOV, S.S.; MERKULOVA, E.A.; SAPRIGYN, A.E.; PROSHINA, E.A.; KNYAZEV, G.G. Oscillatory dynamics of perception of emotional sentences in healthy subjects with different severity of depressive symptoms. **Neurosci Lett**. 2020 May 29;728:134888. doi: 10,1016/j.neulet.2020,134888. Epub 2020 Mar 6. PMID: 32151710,

BORRUTO, A.M.; STOPPONI, S.; LI, H.; WEISS, F.; ROBERTO, M.; CICCOCIOPPO, R. Genetically selected alcohol-preferring msP rats to study alcohol use disorder: Anything lost in translation? **Neuropharmacology**. 2021 Mar 15;186:108446. doi: 10,1016/j.neuropharm.2020,108446. Epub 2021 Jan 18. PMID: 33476639.

BORTOLON, C.; MACGREGOR A.; CAPDEVIELLE, D.; RAFFARD, S. Apathy in schizophrenia: A review of neuropsychological and neuroanatomical studies. **Neuropsychologia**. 2018 Sep;118(Pt B):22-33. doi: 10,1016/j.neuropsychologia.2017.09.033. Epub 2017 Sep 28. PMID: 28966139.

BOUTROS, N.N.; MUCCI, A.; DIWADKAR, V.; TANDON, R. Negative symptoms in schizophrenia. **Clin Schizophr Relat Psychoses**. 2014 Apr;8(1):28-35B. doi: 10,3371/CSRP.BOMU.012513. PMID: 23428787.

BRITES, D.; FERNANDES, A. (2015) Neuroinflammation and Depression: Microglia Activation, Extracellular Microvesicles and microRNA Dysregulation. **Front. Cell. Neurosci**. 9:476. doi: 10.3389/fncel.2015.00476

BROMBERGER, J.T.; EPPERSON, C.N. Depression During and After the Perimenopause: Impact of Hormones, Genetics, and Environmental Determinants of Disease. **Obstet Gynecol Clin North Am**. 2018 Dec;45(4):663-678. doi: 10.1016/j.ogc.2018.07.007. Epub 2018 Oct 25. PMID: 30401549; PMCID: PMC6226029.

BUHAGIAR, F.; FITZGERALD, M.; BELL, J.; ALLANSON, F.; PESTELL, C. Neuromodulation for Mild Traumatic Brain Injury Rehabilitation: A Systematic Review. **Front Hum Neurosci**. 2020 Dec 11;14:598208. doi: 10.3389/fnhum.2020.598208. PMID: 33362494; PMCID: PMC7759622.

BURGER, H.G.; HALE, G.E.; DENNERSTEIN, L.; et al. (2008) Cycle and hormone changes during perimenopause: the key role of ovarian function. **Menopause** 15: 603–612.

BUTERA, P.C. Estradiol and the control of food intake. **Physiol Behav**. 2010 Feb 9;99(2):175-80. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.06.010. Epub 2009 Jun 23. PMID: 19555704; PMCID: PMC2813989.

CHEN, Y.H.; STONE-HOWELL, B.; EDGAR, J.C.; HUANG, M.; WOOTTON, C.; HUNTER, M.A.; LU, B.Y.; SADEK, J.R.; MILLER, G.A.; CAÑIVE, J.M. Frontal slow-wave activity as a predictor of negative symptoms, cognition and functional capacity in schizophrenia. **Br J Psychiatry**. 2016 Feb;208(2):160-7. doi: 10.1192/bjp.bp.114.156075. Epub 2015 Jul 23. PMID: 26206861; PMCID: PMC4837382.

CHEN, KL E MADAK-ERDOGAN, Z. (2018). Estrogênios e saúde do fígado feminino. **Esteróides**, 133, 38–43. doi:10.1016/j.steroids.2017.10.015

CHEN, C.; SHAN, W. Pharmacological and non-pharmacological treatments for major depressive disorder in adults: A systematic review and network meta-analysis. **Psychiatry Res**. 2019 Nov;281:112595. doi: 10.1016/j.psychres.2019.112595. Epub 2019 Oct 2. PMID: 31627074.

CONCEA; **Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA**. [s.l: s.n.].

COPE, Z.A.; MURAI, T.; SUKOFF RIZZO, S.J. Emerging Electroencephalographic Biomarkers to Improve Preclinical to Clinical Translation in Alzheimer's Disease. **Front Aging Neurosci**. 2022 Feb 17;14:805063. doi: 10.3389/fnagi.2022.805063. PMID: 35250541; PMCID: PMC8891809.

CULIG, L.; CHU, X.; BOHR, V.A. Neurogenesis in aging and age-related neurodegenerative diseases. **Ageing Res Rev**. 2022 Jun;78:101636. doi: 10.1016/j.arr.2022.101636. Epub 2022 Apr 29. PMID: 35490966; PMCID: PMC9168971.

DELAMATER, L.; SANTORO, N. Management of the Perimenopause. **Clin Obstet Gynecol**. 2018 Sep;61(3):419-432. doi: 10.1097/GRF.0000000000000389. PMID: 29952797; PMCID: PMC6082400.

DELGADO, B.J.; LOPEZ-OJEDA, W. Estrogen. [Updated 2019 Oct 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; 2020 Jan-.

DELGOBO, M.; AGNES, J.P.; GONÇALVES, R.M.; DOS SANTOS, V.W.; PARISOTTO, E.B.; ZAMONER, A.; ZANOTTO-FILHO, A. N-acetylcysteine and alpha-lipoic acid improve antioxidant defenses and decrease oxidative stress, inflammation and serum lipid levels in ovariectomized rats via estrogen-independent mechanisms. **J Nutr Biochem**. 2019 May;67:190-200. doi: 10.1016/j.jnutbio.2019.02.012. Epub 2019 Mar 10. PMID: 30951973.

DJIOGUE, S.; DJIYOU DJEUDA, A.B.; SEKE ETET, P.F.; KETCHA WANDA, G.J.M.; DJIKEM TADAH, R.N.; NJAMEN, D. Memory and exploratory behavior impairment in ovariectomized Wistar rats. **Behav Brain Funct**. 2018 Jul 16;14(1):14. doi: 10.1186/s12993-018-0146-7. PMID: 30012162; PMCID: PMC6047120.

DESAI, R.; TAILOR, A.; BHATT, T. (2015). Effects of yoga on brain waves and structural activation: A review. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, 21(2), 112–118. doi:10.1016/j.ctcp.2015.02.002.

EL-GENDY, A.A.; ELSAED, W.M.; ABDALLAH, H.I. Potential role of estradiol in ovariectomy-induced derangement of renal endocrine functions. **Ren Fail**. 2019 Nov;41(1):507-520. doi: 10.1080/0886022X.2019.1625787. PMID: 31216906; PMCID: PMC6586115.

ESTUMANO, D.P.; FERREIRA, L.O.; BEZERRA, P.A.L.; DA SILVA, M.C.P.; JARDIM, G.C.; SANTOS, G.F.S.; GUSTAVO, K.S.; MATTOS, B.G.; RAMOS, J.A.B.; DE MELLO, V.J.; DA COSTA, E.T.; LOPES, D.C.F.; HAMOY, M. (2019) Alteration of Testosterone Levels Changes Brain Wave Activity Patterns and Induces Aggressive Behavior in Rats. **Front. Endocrinol**. 10:654. doi: 10.3389/fendo.2019.00654

FITZGERALD, P.J.; WATSON, B.O. In vivo electrophysiological recordings of the effects of antidepressant drugs. **Exp Brain Res**. 2019 Jul;237(7):1593-1614. doi: 10.1007/s00221-019-05556-5. Epub 2019 May 11. PMID: 31079238; PMCID: PMC6584243.

FREEMAN, E.W. Associations of depression with the transition to menopause. **Menopause** 2010;17:823–7.

FURUTA, M.; NUMAKAWA, T.; CHIBA, S.; NINOMIYA, M.; KAJIYAMA, Y.; ADACHI, N.; AKEMA, T.; KUNUGI, H. Estrogen, predominantly via estrogen receptor  $\alpha$ , attenuates

postpartum-induced anxiety- and depression-like behaviors in female rats. **Endocrinology**. 2013 Oct;154(10):3807-16. doi: 10.1210/en.2012-2136. Epub 2013 Aug 2. PMID: 23913447.

GALTS, C. P. C.; BETTIO, L. E. B.; JEWETT, D. C.; YANG, C. C.; BROCARD, P. S.; RODRIGUES, A. L. S.; ... GIL-MOHAPEL, J. (2019). Depression in Neurodegenerative Diseases: Common Mechanisms and Current Treatment Options. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.04.002

GARCÍA-RÍOS, R. I.; MORA-PÉREZ, A.; SORIA-FREGOZO, C. (2017). Depression and Serotonergic Changes during the Climacteric and Postmenopausal Stages: Hormonal Influences. **A Multidisciplinary Look at Menopause**. doi:10.5772/intechopen.69786

GE, F.; YANG, H.; LU, W.; SHI, H.; CHEN, Q.; LUO, Y.; LIU, L.; YAN, J. Ovariectomy Induces Microglial Cell Activation and Inflammatory Response in Rat Prefrontal Cortices to Accelerate the Chronic Unpredictable Stress-Mediated Anxiety and Depression. **Biomed Res Int**. 2020 May 16;2020:3609758. doi: 10.1155/2020/3609758. PMID: 32509856; PMCID: PMC7251427.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A.; SEEMAN, M. V. (2019). The association between hormones and antipsychotic use: a focus on postpartum and menopausal women. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, 9, 204512531985997. doi:10.1177/2045125319859973

GREENDALE, G.A.; DERBY, C.A.; MAKI, P.M. Perimenopause and cognition. **Obstet Gynecol Clin North Am**. 2011 Sep;38(3):519-35. doi: 10.1016/j.ogc.2011.05.007. PMID: 21961718; PMCID: PMC3185244.

GUO, J.Y.; RAGLAND, J.D.; CARTER, C.S. Memory and cognition in schizophrenia. **Mol Psychiatry**. 2019 May;24(5):633-642. doi: 10.1038/s41380-018-0231-1. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30242229; PMCID: PMC6428626.

HAMOY, M.; DOS SANTOS BATISTA, L.; DE MELLO, V.J.; GOMES-LEAL, W.; FARIAS, R.A.F.; DOS SANTOS BATISTA, P.; et al. Cunaniol-elicited seizures: behavior characterization and electroencephalographic analyses. **Toxicol Appl Pharmacol**. (2018) 360:193–200. doi: 10.1016/j.taap.2018.10.008

HAO, L.; WANG, Y.; DUAN, Y.; BU, S. (2010). Effects of treadmill exercise training on liver fat accumulation and estrogen receptor alpha expression in intact and ovariectomized rats with or without estrogen replacement treatment. **European Journal of Applied Physiology**, 109(5), 879–886. doi:10.1007/s00421-010-1426-6

- HÖTTING, K.; RÖDER, B. Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition. **Neurosci Biobehav Rev.** 2013 Nov;37(9 Pt B):2243-57. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.04.005. Epub 2013 Apr 25. PMID: 23623982.
- IZNAK, A.F.; IZNAK, E.V.; SOROKIN, S.A. Changes in EEG and reaction time in the treatment of apathic depression. **Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.** 2011;111(7):49-53. Russian. PMID: 21947072.
- JASIENSKA, G.; ZIOMKIEWICZ, A.; GÓRKIEWICZ, M.; PAJAŁ, A. (2005). Body mass, depressive symptoms and menopausal status: An examination of the “Jolly Fat” hypothesis. **Women’s Health Issues**, 15(3), 145–151. doi:10.1016/j.whi.2005.02.002
- JDIDI, H.; KOUBA, F. G.; AOIADNI, N.; ABDENNABI, R.; TURKI, M.; MAKNI-AYADI, F.; EL FEKI, A. (2019). Effects of estrogen deficiency on liver function and uterine development: assessments of *Medicago sativa*’s activities as estrogenic, anti-lipidemic, and antioxidant agents using an ovariectomized mouse model. **Archives of Physiology and Biochemistry**, 1–12. doi:10.1080/13813455.2019.1625927
- JEONG, M.; LEE, D.S.; SUH, H.J.; PARK, Y.. *Aspergillus oryzae* fermented germinated soybean extract alleviates perimenopausal symptoms in ovariectomised rats. **J Sci Food Agric.** 2016, 96(3), 979–987. doi:10.1002/jsfa.7174. Epub 2015 Apr 23. PMID: 25777819.
- JIA, H.; LI, Q.; ZHOU, C.; YU, M.; YANG, Y.; ZHANG, H.; ... ZOU, Z. (2016). Chronic unpredictable mild stress leads to altered hepatic metabolic profile and gene expression. **Scientific Reports**, 6(1). doi:10.1038/srep23441
- KANE, J.; CAVANAGH, J.F.; DILLON, D.G. Reduced Theta Power During Memory Retrieval in Depressed Adults. **Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging.** 2019 Jul;4(7):636-643. doi: 10.1016/j.bpsc.2019.03.004. Epub 2019 Mar 18. PMID: 31072759; PMCID: PMC6612457.
- KESEBIR, S.; YOSMAOĞLU, A. QEEG in affective disorder: about to be a biomarker, endophenotype and predictor of treatment response. **Heliyon.** 2018 Aug 22;4(8):e00741. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00741. PMID: 30148219; PMCID: PMC6106696.
- KHAYUM, M.A.; MORAGA-AMARO, R.; BUWALDA, B.; KOOLE, M.; DEN BOER, J.A.; DIERCKX, R.A.J.O.; DOORDUIN, J.; DE VRIES, E.F.J. Ovariectomy-induced depressive-like behavior and brain glucose metabolism changes in female rats are not affected by chronic

mild stress. **Psychoneuroendocrinology**. 2020 May;115:104610. doi: 10.1016/j.psyneuen.2020.104610. Epub 2020 Feb 14. PMID: 32088632.

KIM, E.Y.; BAEK, I.-H.; RHYU, M. R. (2011). Cardioprotective effects of aqueous Schizandra chinensis fruit extract on ovariectomized and balloon-induced carotid artery injury rat models: Effects on serum lipid profiles and blood pressure. **Journal of Ethnopharmacology**, 134(3), 668–675. doi:10.1016/j.jep.2011.01.019

KIM, T.-W.; KIM, C.-S.; KIM, J.-Y.; KIM, C.-J.; SEO, J.-H. (2016). O exercício combinado melhora o comprometimento cognitivo induzido pela ovariectomia, aumentando a proliferação celular e suprimindo a apoptose. **Menopausa**, 23(1), 18–26. doi:10.1097/gme.0000000000000486

KIM, T.A.; SYTY, M.D.; WU, K.; GE, S. Adult hippocampal neurogenesis and its impairment in Alzheimer's disease. **Zool Res**. 2022 May 18;43(3):481-496. doi: 10.24272/j.issn.2095-8137.2021.479. PMID: 35503338; PMCID: PMC9113964.

KISS, A.; DELATTRE, A.M.; PEREIRA, S.I.; CAROLINO, R.G.; SZAWKA, R.E.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; et al. 17 $\beta$ -estradiol replacement in young, adult and middle-aged female ovariectomized rats promotes improvement of spatial reference memory and an antidepressant effect and alters monoamines and BDNF levels in memory- and depression-related brain areas. **Behav Brain Res** 2012;227:100–8.

KNYAZEV, G. G. (2012). EEG delta oscillations as a correlate of basic homeostatic and motivational processes. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 36(1), 677–695. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.10.002>.

KOBER, S.E.; REICHERT, J.L.; NEUPER, C.; WOOD, G. Interactive effects of age and gender on EEG power and coherence during a short-term memory task in middle-aged adults. **Neurobiol Aging**. 2016 Apr;40:127-137. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.01.015. Epub 2016 Feb 1. PMID: 26973112.

KOMORI, T. Animal models for osteoporosis. **Eur J Pharmacol**. 2015 Jul 15;759:287-94. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.03.028. Epub 2015 Mar 24. PMID: 25814262.

KONISHI, K.; CHERKERZIAN, S.; JACOBS, E.G.; RICHARDS, C.; REMINGTON, A.; AIZLEY, H.; MISRA, M.; LASLEY, B.L.; GOLDSTEIN, J.M. Impact of adrenal hormones, reproductive aging, and major depression on memory circuitry decline in early midlife. **Brain**

**Res.** 2019 Oct 15;1721:146303. doi: 10.1016/j.brainres.2019.146303. Epub 2019 Jul 4. PMID: 31279842; PMCID: PMC6717665.

KOS, C.; VAN TOL, M.J.; MARSMAN, J.B.; KNEGTERING, H.; ALEMAN, A. Neural correlates of apathy in patients with neurodegenerative disorders, acquired brain injury, and psychiatric disorders. **Neurosci Biobehav Rev.** 2016 Oct;69:381-401. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.08.012. Epub 2016 Aug 12. PMID: 27527825.

LABAKA, A.; GOÑI-BALENTZIAGA, O.; LEBEÑA, A.; PÉREZ-TEJADA, J. (2018). Biological Sex Differences in Depression: A Systematic Review. **Biological Research For Nursing**, 20(4), 383–392. doi:10.1177/1099800418776082

LANG, U. E.; BEGLINGER, C.; SCHWEINFURTH, N.; WALTER, M.; BORGWARDT, S. (2015). Nutritional Aspects of Depression. **Cellular Physiology and Biochemistry**, 37(3), 1029– 1043. doi:10.1159/000430229

LEVY, R.; DUBOIS, B. Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. **Cereb Cortex.** 2006 Jul;16(7):916-28. doi: 10.1093/cercor/bhj043. Epub 2005 Oct 5. PMID: 16207933.

LIM, D.W.; KIM, J.G.; KIM, Y.T. Effects of dietary isoflavones from Puerariae radix on lipid and bone metabolism in ovariectomized rats. **Nutrients.** 2013 Jul 17;5(7):2734-46. doi: 10.3390/nu5072734. PMID: 23867712; PMCID: PMC3738997.

LIM, D.W.; LEE, Y.; KIM, Y.T. Preventive effects of Citrus unshiu peel extracts on bone and lipid metabolism in OVX rats. **Molecules.** 2014 Jan 9;19(1):783-94. doi: 10.3390/molecules19010783. PMID: 24413833; PMCID: PMC6271111.

LIU, M.-L.; XU, X.; RANG, W.-Q.; LI, Y.-J.; SONG, H.-P. (2004). Influence of ovariectomy and 17 $\beta$ -estradiol treatment on insulin sensitivity, lipid metabolism and post-ischemic cardiac function. **International Journal of Cardiology**, 97(3), 485–493. doi:10.1016/j.ijcard.2003.11.046

LIU, W.; ZHANG, R.; FENG, H.; ZHU, H. Fluoxetine tunes the abnormal hippocampal oscillations in association with cognitive impairments in 6-OHDA lesioned rats. **Behav Brain Res.** 2021 Jul 9;409:113314. doi: 10.1016/j.bbr.2021.113314. Epub 2021 Apr 21. PMID: 33894299.

LIZCANO, F.; GUZMÁN, G. (2014). Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause. **BioMed Research International**, 2014, 1–11. doi:10.1155/2014/757461

- LORENTZEN, R.; KJÆR, J. N.; ØSTERGAARD, S. D.; MADSEN, M. M. (2020). Thyroid hormone treatment in the management of treatment-resistant unipolar depression: A systematic review and meta-analysis. **Acta Psychiatrica Scandinavica**. doi:10.1111/acps.13154
- LTAIF, M.; GARGOURI, M.; MAGNÉ, C.; EL FEKI, A.; SOUSSI, A. (2020). Protective effects of *Avena sativa* against oxidative stress-induced kidney damage resulting from an estrogen deficiency in ovariectomized Swiss mice model. **Journal of Food Biochemistry**, e13205. doi:10.1111/jfbc.13205
- LUINE, V.N. Estradiol and cognitive function: past, present and future. **Horm Behav.** 2014 Sep;66(4):602-18. doi: 10.1016/j.yhbeh.2014.08.011. Epub 2014 Sep 7. PMID: 25205317; PMCID: PMC4318702.
- MAHMOUD, R.; WAINWRIGHT, S. R.; CHAITON, J. A.; LIEBLICH, S. E.; GALEA, L. A. M. (2016). Ovarian hormones, but not fluoxetine, impart resilience within a chronic unpredictable stress model in middle-aged female rats. **Neuropharmacology**, 107, 278–293. doi:10,1016/j.neuropharm.2016.01.033
- MALINSKÁ, H.; HÜTTL, M.; MIKLÁNKOVÁ, D.; TRNOVSKÁ, J.; ZAPLETALOVÁ, I.; PORUBA, M.; MARKOVÁ, I. Ovariectomy-Induced Hepatic Lipid and Cytochrome P450 Dysmetabolism Precedes Serum Dyslipidemia. **Int J Mol Sci.** 2021 Apr 26;22(9):4527. doi: 10.3390/ijms22094527. PMID: 33926097; PMCID: PMC8123580.
- MAUVAIS-JARVIS, F.; CLEGG, D.J.; HEVENER, A.L. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. **Endocr Rev.** 2013 Jun;34(3):309-38. doi: 10.1210/er.2012-1055. Epub 2013 Mar 4. PMID: 23460719; PMCID: PMC3660717.
- MARCHAND, G.B.; CARREAU, A.M.; WEISNAGEL, S.J.; BERGERON, J.; LABRIE, F.; LEMIEUX, S.; TCHERNOF, A. Increased body fat mass explains the positive association between circulating estradiol and insulin resistance in postmenopausal women. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 2018 May 1;314(5):E448- E456. doi: 10.1152/ajpendo.00293.2017. Epub 2017 Dec 5. PMID: 29208612.
- MARTINS, D. B.; MAZZANTI, C. M.; FRANÇA, R. T.; PAGNONCELLI, M.; COSTA, M. M.; DE SOUZA, E. M.; ... LOPES, S. T. DOS A. (2012). 17- $\beta$  estradiol in the acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain and blood of ovariectomized adult and middle-aged rats. **Life Sciences**, 90(9-10), 351–359. doi:10,1016/j.lfs.2011.12.00

MALHI, G.S.; MANN, J.J. Depression. **Lancet**. 2018;392(10161):2299–2312. doi:10.1016/S0140-6736(18)31948-2

MALULEKE, T.T.; MILLEN, A.M.E.; MICHEL, F.S. The effects of estrogen deficiency and aging on myocardial deformation and motion in normotensive female rats. **Menopause**. 2021 Dec 13;29(1):89-95. doi: 10.1097/GME.0000000000001884. PMID: 34905750.

MÉNARD, C.; HODES, G. E.; RUSSO, S. J. Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies, **Neuroscience** (2015), doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.053>

MERRHEIM, J.; VILLEGAS, J.; VAN WASSENHOVE, J.; KHANSA, R.; BERRIH-AKNIN, S.; LE PANSE, R.; DRAGIN, N. (2020). Estrogen, estrogen-like molecules and autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**, 102468. doi:10.1016/j.autrev.2020.102468

MOULTON, C. D., PICKUP, J. C., ISMAIL, K. (2015). The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, 3(6), 461–471. doi:10.1016/s2213-8587(15)00134-5

MUKA, T.; NANO, J.; JASPERS, L.; MEUN, C.; BRAMER, W.M.; HOFMAN, A.; DEGHAN, A.; KAVOUSI, M.; LAVEN, J.S.; FRANCO, O.H. Associations of steroid sex hormones and sex hormone-binding globulin with the risk of type 2 diabetes in women: a population-based cohort study and meta-analysis. **Diabetes** 66: 577–586, 2017. doi:10.2337/db16-0473.

NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL. Depressão afeta mais de 300 milhões de pessoas e é doença que mais Incapacitam Pacientes, diz OMS. **Centro de Imprensa**. Brasília: Casa ONU Brasil, 2017. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/76220-depress%C3%A3o-afeta-mais-de-300-milh%C3%B5es-de-pessoas-e-%C3%A9-doen%C3%A7a-que-mais-incapacita-pacientes-diz>>.

NAIR, A.R.; PILLAI, A.J.; NAIR, N. Cardiovascular Changes in Menopause. **Curr Cardiol Rev**. 2021;17(4):e230421187681. doi: 10.2174/1573403X16666201106141811. PMID: 33155924; PMCID: PMC8762155.

NANASHIMA, N.; HORIE, K.; YAMANOUCHI, K.; TOMISAWA, T.; KITAJIMA, M.; OEY, I.; MAEDA, H. Blackcurrant (*Ribes nigrum*) Extract Prevents Dyslipidemia and Hepatic Steatosis in Ovariectomized Rats. **Nutrients**. 2020 May 25;12(5):1541. doi: 10.3390/nu12051541. PMID: 32466275; PMCID: PMC7284623.

NAMJOU, A.; HEIDARIAN, E.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Effects of *Urtica dioica* hydro-alcoholic extract on blood serum glucose and lipid profiles of female Wistar rats with long-term estrogen deficiency. **Vet Res Forum**. 2018 Fall;9(4):349-355. doi: 10.30466/vrf.2018.33079. Epub 2018 Dec 15. PMID: 30713614; PMCID: PMC6346492.

NISHIMURA, Y.; MABUCHI, K.; OMURA, N.; IGARASHI, A.; MIURA, M.; MIMA, N.; NEGISHI, H.; MORIMOTO, K.; TAKAMATA, A. Fluoxetine Mimics the Anorectic Action of Estrogen and Its Regulation of Circadian Feeding in Ovariectomized Female Rats. **Nutrients**. 2020 Mar 22;12(3):849. doi: 10.3390/nu12030849. PMID: 32235766; PMCID: PMC7146435.

NEIS V.B.; BETTIO L.E.B.; MORETTI, M.; ROSA, P.B.; RIBEIRO, C.M.; FREITAS, A.A E.; GONÇALVES, F.M.; LEAL, R.B.; RODRIGUES, A.L. S. Acute agmatine administration, similar to ketamine, reverses depressive- like behavior induced by chronic unpredictable stress in mice, **Pharmacology, Biochemistry and Behavior** (2016), doi:10.1016/j.pbb.2016.10.00

NOWACKA-CHMIELEWSKA, M.M.; KASPROWSKA, D.; PAUL-SAMOJEDNY, M.; et al. The effects of desipramine, fluoxetine, or tianeptine on changes in bulbar BDNF levels induced by chronic social instability stress and inflammation. **Pharmacol Rep**. 2017;69(3):520-525. doi:10.1016/j.pharep.2017.01.004

NOWAKOWSKA, E.; KUS, K. Antidepressant and Memory Affecting Influence of Estrogen and Venlafaxine in Ovariectomized Rats *Arzneim.-Forsch./Drug Res*. 55, No. 3, 153–159 (2005).

OLBRICH, S.; ARNS, M. (2013). Biomarcadores EEG no transtorno depressivo maior: poder discriminativo e previsão da resposta ao tratamento. **Revisão Internacional de Psiquiatria**, 25(5), 604–618. doi:10.3109/09540261.2013.816269

OLIVEIRA, M.; CAMPOS-SHIMADA, L.; MARÇAL-NATALI, M.; ISHII-IWAMOTO, E.; SALGUEIRO-PAGADIGORRIA, C. (2018). A Long-term Estrogen Deficiency in Ovariectomized Mice is Associated with Disturbances in Fatty Acid Oxidation and Oxidative Stress. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia / RBGO Gynecology and Obstetrics**, 40(05), 251–259. doi:10.1055/s-0038-1666856

DE PAOLI, M.; ZAKHARIA, A.; WERSTUCK, G.H. The Role of Estrogen in Insulin Resistance: A Review of Clinical and Preclinical Data. **Am J Pathol**. 2021 Sep;191(9):1490-1498. doi: 10.1016/j.ajpath.2021.05.011. Epub 2021 Jun 5. PMID: 34102108.

- PARDINI, D. (2014). Terapia de reposição hormonal na menopausa. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 58(2), 172–181. doi:10.1590/0004-2730000003044
- PEREZ-CABALLERO, L., TORRES-SANCHEZ, S., ROMERO-LÓPEZ-ALBERCA, C., GONZÁLEZ- SAIZ, F., MICO, J. A., & BERROCOSO, E. (2019). Monoaminergic system and depression. **Cell and Tissue Research**. doi:10.1007/s00441-018-2978-8
- PESARICO, A.P.; SARTORI, G.; BRÜNING, C.A.; MANTOVANI, A.C.; DUARTE, T.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C.W. A novel isoquinoline compound abolishes chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behavior in mice. **Behav Brain Res**. 2016 Jul 1;307:73-83. doi: 10.1016/j.bbr.2016.03.049. Epub 2016 Mar 29. PMID: 27036647.
- PUGA-OLGUÍN, A.; RODRÍGUEZ-LANDA, J.F.; ROVIROSA-HERNÁNDEZ, M.J.; GERMÁN-PONCIANO, L.J.; CABA, M.; MEZA, E.; GUILLÉN-RUIZ, G.; OLMOS-VÁZQUEZ, O.J. Long-term ovariectomy increases anxiety- and despair-like behaviors associated with lower Fos immunoreactivity in the lateral septal nucleus in rats. **Behav Brain Res**. 2019 Mar 15;360:185-195. doi: 10.1016/j.bbr.2018.12.017. Epub 2018 Dec 7. PMID: 30529405.
- POTTER, B.; SCHRAGER, S.; DALBY, J.; TORELL, E.; HAMPTON, A. Menopause. **Prim Care**. 2018 Dec;45(4):625-641. doi: 10.1016/j.pop.2018.08.001. Epub 2018 Oct 5. PMID: 30401346.
- QU, N.; WANG, L.; LIU, Z.C.; TIAN, Q.; ZHANG, Q. Oestrogen receptor  $\alpha$  agonist improved long-term ovariectomy-induced spatial cognition deficit in young rats. **Int J Neuropsychopharmacol**. 2013 Jun;16(5):1071-82. doi: 10.1017/S1461145712000958. Epub 2012 Sep 24. PMID: 22999489.
- RATAJCZAK, P.; KUS, K.; ZAPRUTKO, T.; SZCZEPAŃSKI, M.; RUSOWICZ, S.; NOWAKOWSKA, E. Antidepressant and anxiolytic efficacy of single, chronic and concomitant use of vortioxetine, dapoxetine and fluoxetine in prenatally stressed rats. **Acta Neurobiol Exp** 2019, 79: 13–24 DOI: 10.21307/ane-2019-002
- REN, T.; YOU, Y.; LUO, Y.; WANG, Y.; LIU, X. (2018). Hypocholesterolemic Effects of Capsaicinoids and Lactobacillus plantarum Swun5815 Combined by Inhibiting Cholesterol Synthesis and Increasing Bile Acid and Sterols Excretion on Ovariectomized Rats. **Journal of Food Science**, 83(8), 2247–2256. doi:10.1111/1750-3841.14285

ROBERT, G.; DRAPIER, D.; BENTUÉ-FERRER, D.; RENAULT, A.; REYMANN, J.M. Acute and chronic anxiogenic-like response to fluoxetine in rats in the elevated plus-maze: modulation by stressful handling. *Behav Brain Res.* 2011;220(2):344-348. doi:10.1016/j.bbr.2011.01.051

ROOHI-AZIZI, M.; AZIMI, L.; HEYSIEATTALAB, S.; AAMIDFAR, M. Changes of the brain's bioelectrical activity in cognition, consciousness, and some mental disorders. *Med J Islam Repub Iran.* 2017 Sep 3;31:53. doi: 10.14196/mjiri.31.53. PMID: 29445682; PMCID: PMC5804435.

RUSSELL, J. K.; JONES, C. K.; NEWHOUSE, P. A. The Role of Estrogen in Brain and Cognitive Aging. *Neurotherapeutics*, 2019. doi:10.1007/s13311-019-00766-9

SADEGHI, M.; PEERI, M.; HOSSEINI, M. Adolescent voluntary exercise attenuated hippocampal innate immunity responses and depressive-like behaviors following maternal separation stress in male rats, *Physiology & Behavior* (2016), doi: 10.1016/j.physbeh.2016.05.01

SANTARELLI, L.; SAXE, M.; GROSS, C.; SURGET, A.; BATTAGLIA, F.; DULAWA, S.; et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301, 808—809, 2003.

SANTOS, M.A.; FLORENCIO-SILVA, R.; TEIXEIRA, C.P.; SASSO, G.R.; MARINHO, D.S.; SIMÕES, R.S.; SIMÕES, M.J.; CARBONEL, A.F. Effects of early and late treatment with soy isoflavones in the mammary gland of ovariectomized rats. *Climacteric.* 2016;19(1):77-84. doi: 10.3109/13697137.2015.1094783. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26606166.

SANTORO, N. Perimenopause: From Research to Practice. *J Womens Health (Larchmt).* 2016 Apr;25(4):332-9. doi: 10.1089/jwh.2015.5556. Epub 2015 Dec 10. PMID: 26653408; PMCID: PMC4834516.

SANTORO, N.; ROECA, C.; PETERS, B. A.; NEAL-PERRY, G. (2020). The Menopause Transition: Signs, Symptoms, and Management Options. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* doi:10.1210/clinem/dgaa764

SASIBHUSHANA, R.B.; SHANKARANARAYANA RAO, B.S.; SRIKUMAR, B.N. Repeated finasteride administration induces depression-like behavior in adult male rats. *Behav*

**Brain Res.** 2019 Jun 3;365:185-189. doi: 10.1016/j.bbr.2019.03.006. Epub 2019 Mar 2. PMID: 30836157.

SCHEFFER, D.D.L.; LATINI, A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.** 2020 Oct 1;1866(10):165823. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165823. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32360589; PMCID: PMC7188661.

SCOTT, E.L.; ZHANG, Q.G.; HAN, D.; DESAI, B.N.; BRANN, D.W. Long-term estrogen deprivation leads to elevation of Dickkopf-1 and dysregulation of Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling in hippocampal CA1 neurons. **Steroids.** 2013 Jun;78(6):624-32. doi: 10.1016/j.steroids.2012.11.004. Epub 2012 Nov 22. PMID: 23178162; PMCID: PMC3593754.

SLOWIK, A.; LAMMERDING, L.; HOFFMANN, S.; BEYER, C. Brain inflammasomes in stroke and depressive disorders: Regulation by oestrogen. **Journal of Neuroendocrinology**, 30(2), e12482, 2018. doi:10.1111/jne.12482

SOARES, C. N. Depression and Menopause. **Medical Clinics of North America**, 103(4), 651–667, 2019. doi:10.1016/j.mcna.2019.03.001

SOLTANI ZANGBAR, H.; GHADIRI, T.; SEYEDI VAFAEE, M.; EBRAHIMI KALAN, A.; FALLAHI, S.; GHORBANI, M.; SHAHABI, P. Theta Oscillations Through Hippocampal/Prefrontal Pathway: Importance in Cognitive Performances. **Brain Connect.** 2020 May;10(4):157-169. doi: 10.1089/brain.2019.0733. Epub 2020 May 7. PMID: 32264690.

STARČEVIĆ, K.; FILIPOVIĆ, N.; ŠPERANDA, M.; ĐIDARA, M.; MAŠEK, T. The influence of sex and gonadectomy on hepatic and brain fatty acid composition, lipogenesis and  $\beta$ -oxidation. **J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).** 2017 Aug;101(4):649-657. doi: 10.1111/jpn.12575. Epub 2016 Nov 21. PMID: 27868245.

TAKUMA, K.; MATSUO, A.; HIMENO, Y.; HOSHINA, Y.; OHNO, Y.; FUNATSU, Y.; ARAI, S.; KAMEI, H.; MIZOGUCHI, H.; NAGAI, T.; KOINE, K.; INOUE, M.; YAMADA, K. 17 $\beta$ -estradiol attenuates hippocampal neuronal loss and cognitive dysfunction induced by chronic restraint stress in ovariectomized rats. **Neuroscience** 146 (2007) 60 – 68. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.01.017

TANG, Z.-R.; ZHANG, R.; LIAN, Z.-X.; DENG, S.-L.; YU, K.. Estrogen- Receptor Expression and Function in Female Reproductive Disease. **Cells**, 8(10), 1123, 2019. doi: 10.3390/cells8101123

TCHEKALAROVA, J.; STOYNOVA, T.; ILIEVA, K.; MITREVA, R.; Atanasova, M. Agomelatine treatment corrects symptoms of depression and anxiety by restoring the disrupted melatonin circadian rhythms of rats exposed to chronic constant light. **Pharmacol Biochem Behav.** 2018 Aug;171:1-9. doi: 10.1016/j.pbb.2018.05.016. Epub 2018 May 26. PMID: 29807067

TEIXEIRA, R. K. C.; FEIJÓ, D. H.; VALENTE, A. L.; CARVALHO, L.T. F.; DE GRANHEN, H. D.; PETROIANU, A.; BOTELHO, N. M. Influence of oophorectomy on glycemia and lipidogram. **Acta Cirurgica Brasileira**, 33(5), 415–419, 2018. doi: 10.1590/s0102-865020180050000003

TSUJIMOTO, T.; SHIMAZU, H.; ISOMURA, Y. Direct recording of theta oscillations in primate prefrontal and anterior cingulate cortices. **J Neurophysiol.** 2006 May;95(5):2987-3000. doi: 10.1152/jn.00730.2005. Epub 2006 Feb 8. PMID: 16467430.

TYNAN, R. J.; BEYNON, S. B.; HINWOOD, M.; JOHNSON, S. J.; NILSSON, M.; WOODS, J.J., et al. Chronic stress-induced disruption of the astrocyte network is driven by structural atrophy and not loss of astrocytes. **Acta Neuropathol.** 126, 75–91, 2013. doi: 10.1007/s00401-013-1102-0

VANCAMPFORT, D.; STUBBS, B.; MITCHELL, A. J.; DE HERT, M.; WAMPERS, M.; WARD, P.B., et al. Risk of metabolic syndrome and its components in people with schizophrenia and related psychotic disorders, bipolar disorder and major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **World Psychiatry.** 2015;14:339–47.

WEI, Y.-G.; CAI, D.-B.; LIU, J.; LIU, R.-X.; WANG, S.-B.; TANG, Y.-Q.; WANG, F. Cholesterol and triglyceride levels in first-episode patients with major depressive disorder: A meta-analysis of case-control studies. **Journal of Affective Disorders**, 266, 465–472, 2020. doi:10.1016/j.jad.2020.01.114

WILLI, J.; EHLERT, U. Assessment of perimenopausal depression: A review. **Journal of Affective Disorders.** 2019. doi:10.1016/j.jad.2019.02.029

XU, Y., et al. Inflammation and increased IDO in hippocampus contribute to depression-like behavior induced by estrogen deficiency. **Behav Brain Res** (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2015.04.017>

XU, H.; LI, W.; ZHANG, B.; HUANG, S.; LIU, X. Long-term estrogen deprivation changes the response to antianxiety drugs in mice in the elevated plus maze test. **Gynecol Endocrinol.**

2019 Dec;35(12):1054-1058. doi: 10.1080/09513590,2019.1617266. Epub 2019 Jun 13. PMID: 31192745.

YE, Y.; YAO, S.; WANG, R.; FANG, Z.; ZHONG, K.; NIE, L.; ZHANG, Q. (2019). PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B signaling pathway regulates behaviors in adolescent female rats following with neonatal maternal deprivation and chronic mild stress. **Behavioural Brain Research**. doi:10.1016/j.bbr.2019.01.008

YEUM, T.S.; KANG, U.G. Reduction in Alfa Peak Frequency and Coherence on Quantitative Electroencephalography in Patients with Schizophrenia. **J Korean Med Sci**. 2018 May 17;33(26):e179. doi: 10.3346/jkms.2018.33.e179. PMID: 29930490; PMCID: PMC6010743.

YOUNAN, N.; ELATTAR, S.; FAROUK, M.; RASHED, L.; ESTAPHAN, S. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and aerobic exercise synergistically protect against liver injury in ovariectomized rats. **Physiol Rep**. 2019 Sep;7(17):e14191. doi: 10.14814/phy2.14191. PMID: 31496048; PMCID: PMC6732505.

YUASA, T.; TAKATA, Y.; AKI, N.; KUNIMI, K.; SATOH, M.; NII, M.; IZUMI, Y.; OTODA, T.; HASHIDA, S.; OSAWA, H.; AIHARA, K.I. Insulin receptor cleavage induced by estrogen impairs insulin signaling. **BMJ Open Diabetes Res Care**. 2021 Dec;9(2):e002467. doi: 10.1136/bmjdr-2021-002467. PMID: 34969688; PMCID: PMC8719150.

ZHANG, X.; GE, Y.; BUKHARI, A.A.; ZHU, Q.; SHEN, Y.; LI, M.; SUN, H.; SU, D.; LIANG, X. Estrogen negatively regulates the renal epithelial sodium channel (ENaC) by promoting Derlin-1 expression and AMPK activation. **Exp Mol Med**. 2019 May 21;51(5):1-12. doi: 10.1038/s12276-019-0253-z. PMID: 31113930; PMCID: PMC6529463.

ZHU, M.; HAJIHOSSEINI, A.; BAUMEISTER, T.R.; GARG, S.; APPEL-CRESSWELL, S.; MCKEOWN, M.J. Altered EEG alpha and theta oscillations characterize apathy in Parkinson's disease during incentivized movement. **Neuroimage Clin**. 2019;23:101922. doi: 10.1016/j.nicl.2019.101922. Epub 2019 Jul 2. PMID: 31284232; PMCID: PMC6614604.

ZHU, Y.X.; HU, H.Q.; ZUO, M.L.; MAO, L.; SONG, G.L.; LI, T.M.; DONG, L.C.; YANG, Z.B.; ALI SHEIKH, M.S. Effect of oxymatine on liver gluconeogenesis is associated with the regulation of PEPCK and G6Pase expression and AKT phosphorylation. **Biomed Rep**. 2021 Jul;15(1):56. doi: 10.3892/br.2021.1432. Epub 2021 Apr 27. PMID: 34007449; PMCID: PMC8120346.

ZIMMERMAN, M.A.; OGOLA, B.O.; WILKINSON, M.M.; VISNIAUSKAS, B.; DE MIGUEL, C.; DANIEL, J.M.; LINDSEY, S.H. Medroxyprogesterone opposes estradiol-induced renal damage in midlife ovariectomized Long Evans rats. **Menopause**. 2020 Dec;27(12):1411-1419. doi: 10.1097/GME.0000000000001675. PMID: 33109993; PMCID: PMC7946153.