

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE MEDICINA**

LUANNA KAREN CHAGAS FERNANDES

**ANÁLISE DO EFEITO DA NOZ PERSA (*Juglans regia*) SOBRE A MEMÓRIA EM
MODELO COMPORTAMENTAL MURINO**

JOÃO PESSOA

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE MEDICINA

LUANNA KAREN CHAGAS FERNANDES

**ANÁLISE DO EFEITO DA NOZ PERSA (*Juglans regia*) SOBRE A MEMÓRIA EM
MODELO COMPORTAMENTAL MURINO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientadora: Prof. Me. Manuella de Sousa Toledo Matias

Coorientadora: Prof. Dra. Mirian Graciele da Silva Stiebbe Salvadori

JOÃO PESSOA
2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F363a Fernandes, Luanna Karen Chagas.

Análise do efeito da Noz Persa (*Juglans regia*) sobre a memória em modelo comportamental murino / Luanna Karen Chagas Fernandes. - João Pessoa, 2022.

55 f. : il.

Orientação: Manuella de Sousa Toledo Matias Matias.

Coorientação: Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori Salvadori.

TCC (Graduação) - UFPB/CCM.

1. Doença de Alzheimer. 2. Memória de Trabalho. 3. Noz Persa. 4. Modelo Animal. I. Matias, Manuella de Sousa Toledo. II. Salvadori, Mirian Graciela da Silva Stiebbe. III. Título.

UFPB/CCM

CDU 616.894(043.2)

LUANNA KAREN CHAGAS FERNANDES

ANÁLISE DO EFEITO DA NOZ PERSA (*Juglans regia*) SOBRE A MEMÓRIA EM
MODELO COMPORTAMENTAL MURINO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina pela Universidade
Federal da Paraíba.

Aprovado em 10 de novembro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Manuella de Sousa Toledo Matias.

Prof. Me. Manuella Toledo Matias (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. Dra. Mirian Stiebbe Salvadori
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Isabella A. Mota Fernandes,

Prof. Me. Isabella Araújo Mota Fernandes
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por me proporcionar perseverança durante a caminhada acadêmica.

Aos meus pais Francisco Fernandes e Zuleide Fernandes pelo apoio e incentivo e por sempre serem alicerce para as minhas realizações.

À minha irmã Yasmin Fernandes pela amizade e atenção dedicadas quando sempre precisei.

Ao meu namorado Vinícius Jorge por amor e apoio em todos os momentos.

Às professoras Manuella Toledo e Mirian Stiebbe pelo acolhimento e pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo.

Às colegas Beatriz Macedo e Amanda Arantes, pela amizade e apoio na caminhada da realização deste projeto.

À Universidade Federal da Paraíba, aos funcionários do Centro de Ciências Médicas e aos meus professores do curso de medicina, por todo o comprometimento com a qualidade e excelência do ensino.

Ao professor Rui Macêdo, ao Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos e ao Laboratório de Psicofarmacologia da Universidade Federal da Paraíba, pelo acolhimento e por ter sido essencial para a concretização desta pesquisa.

A todos os meus amigos do curso de graduação que compartilharam dos inúmeros desafios que enfrentamos, sempre com o espírito colaborativo.

Por fim, a todos que de alguma maneira fizeram parte desta etapa tão importante em minha vida.

“A gente tem a ilusão de que é a primeira impressão a que fica, mas não. É a última. Porque no final da vida, as pessoas colocam para fora a essência do ser humano. A generosidade com que essas pessoas distribuem sabedoria, conhecimento e gratidão, para quem trabalha com isso com dedicação, é algo que não dá para descrever.”

Ana Claudia Quintana Arantes

RESUMO

A Doença de Alzheimer (DA) é a principal causa de demência na atualidade, e nenhum tratamento foi estabelecido como capaz de diminuir ou impedir a progressão desta condição e os danos nela presentes. Na busca de novas opções terapêuticas, a Noz Persa (*Juglans regia*) vem demonstrando diversos efeitos benéficos na função neuronal. A presente investigação buscou induzir o déficit na memória de trabalho por meio da administração da Dizocilpina (MK-801) e avaliou se a suspensão com Noz Persa previne esse déficit em modelo murino, por meio do teste do Labirinto em Y, além de ter avaliado a presença de efeito desta suplementação na atividade locomotora dos animais. O estudo utilizou 18 camundongos Swiss, machos com idade aproximada de 06 semanas. Os diferentes grupos receberam suplementação com suspensão da Noz Persa (2g/kg v.o.), Souvenaid® (0,1ml/g v.o.), ou solução salina 0,9% (0,1ml/g v.o.) por 5 dias. No 6º dia do estudo, os animais receberam MK-801 (0,15mg/kg i.p.) ou Solução Salina (i.p.), e foram submetidos aos testes do Labirinto em Y e Rota Rod. Os dados foram tabulados e analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e teste *post hoc* de Tukey. Na análise dos resultados obtidos no teste de Labirinto em Y, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao Número de Entradas ($p=0,075$), Número de Alternâncias ($p=0,337$) ou Porcentagem de Alternâncias ($p=0,173$). No teste Rota Rod, nos tempos de 30, 60 e 120 minutos após o Labirinto em Y, não se evidenciou diferença significativa entre os grupos quanto ao Número de Quedas ($p=0,862$; $p=0,845$; $p=0,879$) e Tempo de Permanência ($p=0,711$; $p=0,573$; $p=0,623$). O presente estudo não demonstrou benefício sobre a memória de trabalho com o uso da suspensão de Noz Persa administrada por 5 dias. Além disso, o estudo não demonstrou efeito locomotor secundário à suplementação. Vale ressaltar a importância desta etapa pré-clínica para o norteamento dos experimentos futuros visando aprimorar as limitações evidenciadas neste estudo e permitir melhor avaliação dos efeitos da suplementação e a elucidação do tempo de administração e dose de suplementação adequada.

Palavras-Chave: Doença de Alzheimer. Memória de Trabalho. Noz Persa. Modelo Animal.

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD) is the main cause of dementia today, and no treatment has been established as capable of reducing or preventing the progression of this condition and the damage present in it. In the search for new therapeutic options, the Persian walnut (*Juglans regia*) has shown several beneficial effects on neuronal function. The present investigation project sought to induce the deficit in working memory through the administration of Dizocilpine (MK-801) and evaluated whether the Persian walnut suspension prevents this deficit in a murine model, using the Y-maze test, in addition, evaluating the presence of an effect on the locomotor activity of the animals. The present study used 18 male *Swiss* mice aged approximately 6 weeks. The different groups received supplementation with Persian walnut suspension (2g/kg), Souvenaid® (0.1ml/g), or 0.9% saline solution (0.1ml/g) for 5 days. On the 6th day of the study, the animals received MK-801 (0.15mg/kg) or Saline Solution (control groups) and were submitted to the Y Maze and *Rota Rod* tests. Data were tabulated and analyzed using analysis of variance (ANOVA) and Tukey's *post hoc* test. In the analysis of the results obtained in the Y-maze test, there was no statistically significant difference between the groups regarding the Number of Total Entries ($p=0.075$), Number of Alternations ($p=0.337$) or Percent Spontaneous Alternations ($p=0.173$). In the *Rota Rod* test, at 30, 60 and 120 minutes, after Y-maze test there was no significant difference between the groups regarding the Number of Falls ($p=0.862$; $p=0.845$; $p=0.879$) and Latency ($p=0.711$; $p=0.573$; $p=0.623$). The present study showed no benefit on working memory with the use of Persian Nut suspension for 5 days. In addition, the study showed no locomotor effect secondary to supplementation. It is worth emphasizing the importance of this pre-clinical stage to guide future experiments in order to improve the limitations evidenced in this study and allow a better evaluation of the supplementation effects of Persian walnut and elucidate the adequate administration time and dose of supplementation.

Keywords: Alzheimer's Disease. Working Memory. Persian Walnut. Animal Model.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Relação entre a Memória de Trabalho e a Porcentagem de Alternância.....	29
Figura 2- Labirinto em Y para camundongos.....	29
Figura 3- Equipamento para Teste Rota Rod.....	30
Figura 4- Teste do Labirinto em Y: Número de Entradas.....	35
Figura 5- Teste do Labirinto em Y: Número de Alternâncias.....	36
Figura 6- Teste do Labirinto em Y: Porcentagem de Alternâncias.....	36
Figura 7- Teste do <i>Rota Rod</i> : Tempo de Permanência	37
Figura 8- Teste do <i>Rota Rod</i> : Número de Quedas.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Amostragem e grupos por intervenção.....	32
Tabela 2- Peso dos animais no início do estudo.....	34
Tabela 3- Peso médio por grupo ao longo do estudo.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

AGEs	Produtos Finais De Glicação Avançada
ALA	Ácido α -linolenico
ANOVA	Análise de Variância
A β	β -amiloide
CCL	Comprometimento Cognitivo Leve
CDK5	Proteína Quinase 5
CEUA	Comitê de Ética do Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX2	Ciclo-oxigenase-2
DA	Doença de Alzheimer
DHA	Docosahexaenoico
EPA	Eicosapentaenoico
ERK	Quinase de Sinalizacao Extracelular
GSK3	Glicogénio Sintetase Quinase
i.p.	Intraperitoneal
IPeFarm	Instituto de Pesquisa de Fármacos e Medicamentos
LRP1	Proteína-1 Relacionada a Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade
LXR	Receptores X do Fígado
MEEM	Mini Exame do Estado Mental
MK-801	Dizocilpina
MOCA	Avaliação Cognitiva de Montreal
NFTs	Emaranhados Neurofibrilares
NMDA	N-metil-D-aspartato
NQ	número de quedas
PPA	Proteína Precursora β -Amiloide
PUFAs	Ácidos graxos poli-insaturados
r.p.m.	Rotações por minuto
RAGE	Receptor dos Produtos Finais da Glicação Avançada
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SNC	Sistema Nervoso Central
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
TOC	Transtorno Obsessivo-Compulsivo
TP	Tempo de permanência

UFPB Universidade Federal da Paraíba
UPA Unidade Produção Animal
v.o. Via oral

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
α	Alfa
γ	Gama
δ	Delta
%	Porcentagem
®	Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Geral	16
2.2	Específicos	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	Memória de Trabalho	17
3.2	Síndromes Demenciais e a Doença de Alzheimer	18
3.3	Patogênese da Doença de Alzheimer	21
3.4	Noz Persa e Neuroatividade	23
3.5	Souvenaid®	25
3.6	Modelos Animais	26
4	METODOLOGIA	28
4.1	Animais	28
4.2	Equipamentos	28
4.2.1	Labirinto em Y	28
4.2.2	Rota-Rod	30
4.3	Substâncias utilizadas	30
4.3.1	Indução do déficit de Memória de Trabalho	31
4.3.2	Suspensão da Noz Persa	31
4.4	Condições do Experimento	31
4.5	Experimento	31
4.5.1	Amostra e grupos de estudo	31
4.5.2	Tratamento e suplementações	32
4.5.3	Testes	32
4.6	Análise Estatística	33
4.7	Eutanásia e Descarte dos Animais	33

5	RESULTADOS.....	34
5.1	Animais	34
5.2	Teste do Labirinto em Y	34
5.3	Teste de coordenação motora – Rota Rod.....	36
6	DISCUSSÃO	38
7	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXO A	54

1 INTRODUÇÃO

A *Alzheimer's Disease International* (ADI) estima em 46,8 milhões o número de pessoas com demência no mundo em 2015, que quase duplicará para 74,5 milhões em 2030, e novamente, para 131,5 milhões em 2050. Dados globais de 2016 apontaram a demência como a 2ª maior causa de morte em indivíduos maiores de 70 anos, e 23ª maior causa de anos de vida perdidos ajustados por incapacidade no mundo, refletindo o impacto social e funcional das demências em seus portadores (NICHOLS, 2019).

A principal e mais comum causa de demência é a Doença de Alzheimer (DA), uma condição neurodegenerativa e progressiva, que carrega um grande impacto no cenário mundial (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017). Atualmente, nenhum tratamento para a DA foi estabelecido como capaz de diminuir ou impedir a progressão da doença e os danos nela presente. Em termos farmacológicos, as drogas atualmente utilizadas na condução desta doença agem apenas no controle das manifestações clínicas (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017; KHOURY, 2017).

Uma diversidade de compostos presentes nas nozes tem sido estudados e vem demonstrando potencial terapêutico na proteção contra dano por estresse oxidativo, atenuação de fenômeno neurodegenerativo, controle de atividade da acetilcolinesterase, e redução de formação β -amiloide ($A\beta$) e de hiperfosforilação da tau, por diversos mecanismos (GORJI, 2018; SADHUKAN, 2018). Dentre os compostos associados a esses efeitos estão os ácidos graxos insaturados, fitosteróis, vitaminas B e E, compostos fenólicos, e proteínas, podendo ser encontrados em diferentes nozes como noz persa, amêndoa e avelã (GORJI, 2018).

A Noz Persa, possui composição rica em ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), como ácido linoleico e α -linolênico, ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oleico, além de fenóis, tocoferóis e fitoesteróis (GHARIBZAHEDI, 2011) e por isso esta noz, de forma isolada ou em conjunto com outras nozes, vem sendo utilizada em diversos estudos relacionados à melhora da função cognitiva dos indivíduos (LIU, 2021; SALA-VILA, 2020; PRIBIS, 2011; KNIGHT, 2016; ZOU, 2016).

Em estudo *in vitro*, o extrato da noz persa demonstrou controlar e reduzir estresse oxidativo e morte celular mediada por β -amiloide (MUTHAIYAH, 2011).

Estudos *in vivo* em animais demonstraram melhora em déficit cognitivo, de memória, e aprendizagem, relacionados à suplementação com a noz persa (MUTHAIYAH, 2014; HARANDI, 2015; LIOU, 2020; ESSELUN, 2021; MOON, 2022), ou com peptídeos extraídos desta (ZOU, 2016), em ratos modelos de DA ou com déficit cognitivo induzido. Além disso,

Fernandez-Fernandez et al. (2012), intervindo com dieta rica em polifenóis e ácidos graxos poli-insaturados, demonstraram que não houve efeito da suplementação em ratos com placas amiloides já formadas, enquanto os que possuíam idade anterior a formação da placa, no momento da intervenção, tiveram atraso da formação desta por redução dos níveis A β no hipocampo.

Quanto aos ensaios clínicos, o estudo de Sala-Vila et al. (2020) sugeriu que a suplementação da noz pode desacelerar o declínio cognitivo no subgrupo de maior risco. Por outro lado, Pribis et al. (2011), não obteve melhora de humor, raciocínio e de memória em indivíduos jovens saudáveis após suplementação com a noz persa.

Stavrinou et al. (2020) encontrou que uma suplementação com fórmula rica em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa se relacionaram à melhora de capacidade funcional e função cognitiva em idosos. Quinn et al. (2010), Phillips et al. (2015) e Andrieu et al. (2017), entretanto, com suplementação dos ácidos graxos ômega 3, como o Eicosapentaenoico (EPA) e Docosahexaenoico (DHA), produtos dos ácidos linoleico e alfa-linolênico, não encontraram benefício cognitivo e funcional significativo nos pacientes que receberam a intervenção.

Com esta mesma intervenção Kulzow et al. (2016) encontrou melhora significativa de memória em indivíduos saudáveis, de 50-75 anos, e em Shinto et al. (2014) a combinação de ômega-3 com ácido lipóico mostrou desacelerar declínio cognitivo e funcional em indivíduos com Alzheimer.

Considerando a necessidade de novas opções terapêuticas para o tratamento da demência de Alzheimer e outras demências, devido às poucas alternativas futuras, com alto custo financeiro e social, em uma projeção exponencial de crescimento de casos de uma condição com desfechos bastante negativos, a comunidade científica vislumbra novos tratamentos para esta condição. Conforme apresentado, o efeito da suplementação da noz persa, ainda é controverso na literatura, apesar dos benefícios dos seus componentes lipídicos e proteicos. Assim, esse projeto justifica-se dentro da importância da busca de uma terapêutica acessível e com mínimos efeitos colaterais esperados.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Investigar o efeito da suplementação da Noz Persa (*Juglans regia*) sobre os parâmetros de memória em camundongos machos.

2.2 Específicos

- Induzir o déficit de memória de trabalho nos animais e avaliar o efeito da suplementação da Noz Persa;
- Avaliar se a suplementação da Noz Persa pode causar um efeito miorrelaxante nos animais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Memória de Trabalho

O conceito de memória é uma questão cujo debate persiste há séculos, havendo diversas definições sob diferentes perspectivas. Para um neurobiologista, a memória é a aquisição, o armazenamento e a evocação de informações (QUEVEDO e IZQUIERDO, 2020). Para um psicólogo, a memória consiste na aprendizagem que persiste através do tempo, ou seja, informações armazenadas que podem ser recuperadas posteriormente (MYERS e DEWALL, 2017). Ou mesmo, em uma visão mais ampla, um físico poderia definir a memória como a informação armazenada ao se organizar a matéria contra sua tendência natural à desordem, assim gastando energia no processo (HAWKING, 2015).

Nas neurociências, o conceito de memória é classicamente dividido quanto ao conteúdo: memórias não declarativas (procedural, emocional e de musculatura esquelética) e memórias declarativas (semânticas e episódicas); e quanto à sua duração: na qual as memórias declarativas podem ser divididas em memória de trabalho, de curto prazo e de longo prazo (BEAR, CONNORS e PARADISO, 2017).

A memória de trabalho, também chamada de memória operacional, faz parte das funções executivas de alta ordem (CLARK e BECK, 2010). Seu papel é manter a informação “online” por alguns segundos ou poucos minutos, permitindo que nossas ações tenham uma noção de continuidade temporal e realizando um monitoramento das informações que estão sendo captadas, regulando assim a aquisição de novas memórias. Apesar de ser processada pelo córtex pré-frontal, a memória de trabalho está intrinsecamente envolvida com conexões em outras áreas cerebrais, como a amígdala, que identifica valências emocionais, e hipocampo, que averigua se as informações monitoradas são novas ou não (IZQUIERDO, 2018).

Dentre os prejuízos apresentados na CCL e DA, encontram-se os déficits de memória, incluindo a memória de trabalho, que pode aparecer nos estágios iniciais da doença e podendo prever seus níveis de declínio cognitivo ao longo do tempo (GILMOUR, 2019; ZOKAEI, 2019, 2020). Estudos recentes da neuropsicologia demonstram evidências do papel do lobo médio temporal e do hipocampo, na integração e coordenação das informações de alta resolução que pertencem a memória de longo prazo e que também serão importantes no domínio da percepção e da memória de trabalho (YONELINAS, 2013). Porém há evidências de estudos na qual estruturas do hipocampo e lobo médio temporal desempenham papel semelhante na ligação de informações em períodos muito mais curtos na memória de trabalho (OLSON, 2006;

HANNULA, 2006). Em consistência com esse modelo, uma importante linha de pesquisa forneceu evidências de que a capacidade de reter características ligadas a memória de trabalho também é criticamente afetada na DA (ZOKAEI, 2019, 2020; KIROVA, 2015).

Outros diversos transtornos mentais estão relacionados com déficits da memória de trabalho, o que acarreta dificuldades no aprendizado e na realização de tarefas, prejudicando ainda mais a qualidade de vida desses pacientes (IZQUIERDO, 2018). Entre os quais, podemos citar a depressão (NIKOLIN et al., 2021), o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (MILLAN et al., 2012), a esquizofrenia (MILLAN et al., 2012), o transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) (MERAM et al., 2021), e os transtornos do espectro autista (TEA) (RABIEE et al., 2018).

3.2 Síndromes Demenciais e a Doença de Alzheimer

A Síndrome Demencial trata-se de uma condição que engloba diversas possíveis etiologias e que possui algumas características em comum. É característico o comprometimento de habilidades cognitivas como de memória, aprendizado, linguagem, e solução de problemas, causando prejuízo importante nas atividades diárias do indivíduo (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017).

Existem diferentes causas para o quadro de Síndrome Demencial, a depender da fisiopatologia e do processo que levou ao consequente dano cerebral responsável pelo quadro. Dentre as principais formas de demência estão a Demência de Alzheimer, a Demência Vascular, a Demência Frontotemporal, e a Demência por Corpos de Lewy. Além disso, uma forma comum em indivíduos de idade mais avançada, é a Demência Mista, que engloba fatores etiológicos de tipos diferentes de demências, sendo mais comum a associação Demência Vascular e Demência de Alzheimer (RAZ, 2015).

Na Demência por Corpos de Lewy ocorre a deposição de agregados anormais, os “Corpos de Lewy”, da proteína sináptica alfa-sinucleína, levando a processo de degeneração neuronal e morte celular, associado a atrofia cerebral (MCKEITH, 2004; RAZ, 2015). Já a Demência Frontotemporal é uma importante forma de síndrome demencial no período pré-senil, na qual 60% dos casos são de origem esporádica e apresentam achado característico de atrofia por perda neuronal e processo degenerativo em lobos frontal e temporal, progredindo com afasia, distúrbio de comportamento e personalidade, prejuízo importante na memória e déficits de linguagem (PAN, 2013; RAZ, 2015).

O Comprometimento Cognitivo Vascular compreende um grupo mais heterogêneo de distúrbios cognitivos de causa vascular, incluindo a própria Demência Vascular, ou o comprometimento cognitivo sem demência. A Demência Vascular tem sua fisiopatologia associada à diminuição do fluxo sanguíneo cerebral, e aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, levando a hipóxia e efeitos prolongados de neurotoxicidade, resultando em inflamação tecidual, degeneração, perda sináptica e atrofia cerebral (MOORHOUSE, 2008; RAZ, 2015).

Atualmente a principal e mais comum causa de demência é a Doença de Alzheimer, uma condição neurodegenerativa e progressiva, que carrega um grande impacto no cenário mundial atualmente (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017).

A DA possui uma manifestação bastante variável. Inicialmente o sintoma mais comum é a perda gradual e insidiosa da capacidade de lembrar informações, resultado da destruição inicial de neurônios responsáveis por esta função. Com a progressão da doença, neurônios de outras áreas vão sendo afetados e levam a outros sintomas como desorientação em tempo e espaço, agitação, sonolência, delírios, e por fim, perda de capacidade para desempenhar atividades diárias como tomar banho e usar o banheiro (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017; HANE, 2017). Em quadros mais severos podem ocorrer complicações como imobilidade e dificuldade para controlar a deglutição, que tornam o indivíduo vulnerável a condições relacionadas à má nutrição e desidratação e infecções, importantes causas de morte nesta patologia (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017).

Na evolução fisiopatológica e clínica da doença, existe uma fase pré-clínica, que inicia anos ou até décadas antes da manifestação de sintomas da DA, na qual ocorre o acúmulo de proteína β -amiloide nas superfícies neuronais e nas sinapses. Nesta fase, alterações de biomarcadores podem já aparecer, apesar da ausência de sintomatologia (HANE, 2017). É importante salientar a possibilidade de indivíduo em fase pré-clínica com a patologia de acúmulo amiloide nunca chegar a desenvolver a manifestação clínica da doença de Alzheimer, como bem estabelecido por Elman et al., em 2014.

No Comprometimento Cognitivo Leve (CCL), há redução leve da cognição, que é notada pela pessoa e pelos familiares, mas que não afeta a execução das atividades diárias daquele indivíduo. Esta fase pode preceder a manifestação da DA, e pode até ser considerado uma fase inicial da doença (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017; HANE, 2017). Uma revisão sistemática de 32 estudos, por Ward et al. em 2013, demonstrou uma média de 32% de indivíduos com CCL desenvolverem DA em 5 anos. Apesar dos avanços nos métodos diagnósticos, o CCL causado pela patologia da DA ainda apresenta diagnóstico orientado pela

determinação clínica, com importante auxílio de testes cognitivos funcionais. Nesta fase, os testes cognitivos podem se mostrar 1-1.5 derivações abaixo do esperado para idade e escolaridade.

A demência é diagnosticada ao se evidenciar um gradual comprometimento cognitivo e comportamental que compromete habilidade ou interfere no funcionamento do indivíduo em suas atividades diárias, por meio da história clínica e pelo auxílio dos testes cognitivos, como a Avaliação Cognitiva de Montreal (MOCA) e o Mini Exame do Estado Mental (MEEM), bem estabelecidos para o uso clínico (KAHLE-WROBLESKI, 2007; NASREDDINE, 2005). Clinicamente, o diagnóstico de demência inclui comprometimento em pelo menos dois dos seguintes aspectos: memória de informações recentes, linguagem, raciocínio, habilidades visuais e espaciais, comportamento e personalidade (HANE, 2017).

A diferenciação da DA como etiologia da demência pode ser difícil em estágios iniciais. Na DA o comprometimento de memória costuma ser a primeira apresentação, possui início insidioso e progressão dos sintomas ao longo do tempo. Além disso, um importante passo neste diagnóstico, realizado ainda na fase de CCL, é a exclusão de outras causas de demência como infecções, tumores e outras lesões estruturais, álcool, medicamentos, causas vasculares cerebrais, deficiências de folato e vitamina B12, causas endócrino-metabólicas, além de causas emocionais e as patologias psiquiátricas.

Atualmente, nenhum tratamento para a DA foi estabelecido como capaz de diminuir ou impedir a progressão da doença e os danos nela presente. Em termos farmacológicos, as drogas atualmente utilizadas na condução desta doença agem apenas no controle das manifestações clínicas (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017; KHOURY, 2017).

O primeiro grupo de drogas, os Inibidores da Acetilcolinesterase, potencializam e melhoram a transmissão colinérgica, por inibir as enzimas que degradam a Acetilcolina. A ação destas drogas se justifica na ideia de que a maioria dos sintomas neurocognitivos da DA se originam de disfunção colinérgica (DUMAS e NEWHOUSE, 2011). Os medicamentos inibidores da acetilcolinesterase usados para este propósito são a Donepezila, Rivastigmina e a Galantamina. Evidências demonstraram efetividade destas drogas no controle sintomático de casos leves a moderados de DA, melhorando a função cognitiva e a realização de atividades diárias (BIRKS, 2006; BLANCO-SILVENTE, 2017). Além disso, Blanco-Silvente et al. (2017) demonstrou redução da mortalidade associada ao uso destas drogas.

Outra via que algumas drogas agem atualmente é a da inibição dos receptores de glutamato, N-metil-D-aspartato (NMDA). Evidenciou-se que o acúmulo amiloide no hipocampo pode resultar em uma hiperativação deste receptor, induzindo citotoxicidade, com

formação de radicais livre e morte celular. Assim sendo, o medicamento que age nesse contexto é um Antagonista do Receptor NMDA, a Memantina (REISBERG, 2003). Esta droga mostrou ação clínica e foi aprovada para uso em tratamento sintomático de casos moderados a severos de DA (REISBERG, 2003), e utilizada de maneira adicional às drogas inibidoras da acetilcolinesterase obtiveram melhores resultado (THIBAUT, 2015; DANYSZ, 2012).

Tratando-se de terapia não farmacológica, até o momento nenhuma estratégia se mostrou capaz de alterar o curso da doença (KHOURY, 2017). Alguns métodos terapêuticos demonstraram benefícios para portadores da DA, em termos de melhora de função cognitiva e melhora de bem-estar. Dentre essas estratégias podemos citar exercício físico (GROOT, 2016), e atividades de estímulo cognitivo (AGUIRRE, 2013).

3.3 Patogênese da Doença de Alzheimer

A fisiopatologia da Doença de Alzheimer mostrou-se bastante complexa e vem sendo bastante estudada ao longo dos anos (HANE, 2017). Uma via de patologia importante trata-se do acúmulo de placas de β -amiloide, estrutura resultante da clivagem da Proteína Precursora β -Amiloide (PPA) pelas enzimas β -secretase e γ -secretase, nesta sequência (HASS, 2007; HANE, 2017). A clivagem da PPA por uma terceira enzima, a α -secretase, restringiria a formação desses peptídeos $A\beta$ (YAN, 2014; GOEDERT, 2015; QUERFURTH, 2010).

Nesta via, diferentes mecanismos podem ser responsáveis pela patologia da DA, tanto a superprodução ou clivagem anormal da PPA, por alterações de ordem genética das enzimas de clivagem, como também anormalidade na eliminação do excesso e captura dos produtos tóxicos desta clivagem, por alteração da Proteína-1 Relacionada a Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade (LRP1), que na barreira hematoencefálica media o transporte destes peptídeos para a circulação (MAWUENYEGA, 2010; BRAMBILLA, 2012).

Os depósitos $A\beta$ possuem diversas formas de neurotoxicidade, incluindo resposta inflamatória celular (VERDIER, 2004), competição por receptores de membrana (WANG, 2004), formação e alteração de canais iônicos (LIN, 2001), aumento de permeabilidade de membrana celular podendo levar a hiperexcitação de neurônios receptores (SOKOLOV, 2006).

Outra consequência importante do depósito $A\beta$ é o desencadeamento de estresse oxidativo por formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS). Este processo ocorre por disfunção mitocondrial, resultante do bloqueio de canais mitocondriais pelo acúmulo de PPA e $A\beta$, reduzindo a entrada e a ação de enzimas como Citocromo C Oxidase, com importante

função redutora. Somado a isso, a alteração morfológica e funcional da mitocôndria resulta em uma maior produção de ROS (MUTISYA, 2002; ECKERT, 2014).

Outra causa de estresse oxidativo relacionado a essa via é a desregulação de homeostase de metais como cobre, zinco e ferro (ESKICI, 2012; FREDERICKSON, 2005). Estudos demonstraram alterações histopatológicas intensas nas regiões de hipocampo e amígdala de portadores de DA, por acúmulo anormal de metais (LEE, 2014). Além disso, o cobre apresentou papel importante no aumento do estresse oxidativo nos pacientes com DA (PAL, 2015).

Além de consequência do depósito anormal de A β , o estresse oxidativo pode também ser desencadeador desta via, por diversos motivos. Por exemplo, muitos fatores de transcrição, em meio ao estresse oxidativo, aumentam a expressão do gene da PPA (KAUR, 2015; KO, 2010). Além disso, o estresse oxidativo diminui a atividade da α -secretase e aumenta a atividade da β -secretase 1 e γ -secretase (GHOSH, 2014; CHEN, 2013; SUN, 2016), o que teria como resultado aumento da formação e redução da clivagem de A β .

Outro problema presente no estresse oxidativo é o prejuízo na eliminação dos peptídeos A β (SADHUKHAN, 2018), primeiramente, por está associado à ocorrência de oxidação da membrana de ligação da LRP1 (MA, 2017), responsável pelo transporte da A β para circulação periférica, além de romper a ligação da LRP1 sérica com a A β , aumentando sua quantidade sérica (MARTISKAINEN, 2013). O retorno desses peptídeos para o SNC ocorre, então, por meio do Receptor dos Produtos Finais da Glicação Avançada (RAGE), e a expressão deste receptor demonstrou-se elevada em portadores da DA (XU, 2016; WALKER, 2015)

Todos esses processos, somados a Hiperfosforilação e a Agregação da proteína tau (GUO, 2011; HANE, 2017), resultam na degradação axonal, disfunção das sinapses, desequilíbrio das funções neuronais, e contribuem para inflamação e morte celular no cérebro de pacientes com DA (MARTIN, 2013; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017).

A proteína Tau é a proteína solúvel responsável pela formação dos microtúbulos celulares, estabilizando o citoesqueleto, presente principalmente no axônio das células neuronais. Somada à via patológica dos peptídeos A β , alterações da proteína Tau estão implicadas na fisiopatologia da DA por meio de dois a Hiperfosforilação e a Agregação (GUO, 2011; HANE, 2017).

A hiperfosforilação da proteína Tau resulta do desequilíbrio entre a ativação das quinases e das fosfatases. Na presença de estresse oxidativo, a atividade da quinases como Glicogênio Sintetase Quinase 3 (GSK3), a Proteína Quinase 5 (CDK5) aumenta e leva a hiperfosforilação da proteína tau (MARTIN, 2013). Além disso, Lloret et al. (2015) demonstrou que os peptídeos amiloides podem induzir a hiperfosforilação da tau, tanto pelo envolvimento

do estresse oxidativo, como também por meio da ativação da Quinase p38 na presença da A β . Por outro lado, as fosfatases são capazes de desfosforilar a tau, e, no estresse oxidativo estas enzimas diminuem sua atividade, o que intensifica o acúmulo dos produtos da tau hiperfosforilada (MARTIN, 2013).

O balanço anormal da fosforilação da tau resulta na formação de agregados desta proteína, formando fragmentos helicoidais ou, e principalmente, os emaranhados neurofibrilares (NFTs – *neurofibrillary tangles*). Todos esses processos resultam na degradação axonal, disfunção das sinapses, desequilíbrio das funções neuronais, e contribuem para inflamação e morte celular no cérebro de pacientes com DA (MARTIN, 2013; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017).

3.4 Noz Persa e Neuroatividade

Também conhecida como noz inglesa, a Noz Persa (*Juglans regia*) tem aumentado sua importância relacionada à possibilidade de seu uso medicinal, ou como parte de uma dieta saudável (GORJI, 2018). Estudos têm demonstrado efeito de proteção de memória e cognição, redução de morte celular e redução de processo neuroinflamatório, relacionados aos componentes desta noz (GORJI, 2018; RAJARAM, 2017).

A Noz Persa contém cerca de 50-70% de óleo em sua composição. Dentre os principais constituintes destacam-se os triglicerídeos, com grande quantidade de ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oleico, e de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), como ácido linoleico e α -linolênico (GORJI, 2018; GHARIBZAHEDI, 2011). Gharibzahedi et al. (2011) mostrou que a maior quantidade de ácido graxo encontrada no óleo deste grão foi de ácido linoleico (50-51%), seguido de ácido oleico e linolênico, enquanto os ácidos graxos saturados foram minoria nesta composição, como os ácidos esterático, palmítico e mirístico.

O ácido oleico se comporta como um fator de crescimento de neurônios e promove crescimento axonal e dendrítico (POLO-HERNÁNDEZ, 2014), e apresentou atividade inibitória da enzima β -secretase 1 (YOUN, 2014). Como efeito desses mecanismos, a suplementação com ácido oleico demonstrou redução nos níveis de A β em ratos (YOUN, 2014), além de reportada desregulação no metabolismo desse ácido graxo no cérebro de pacientes que tinham DA (SNOWDEN, 2017).

Os PUFAs, além da sabida importância no desenvolvimento do cérebro humano, demonstraram outros mecanismos de ação no sistema nervoso central que se relacionam a efeitos benéficos cerebrais (GORJI, 2018). O ácido linoleico mostrou atividade inibitória na

oligomerização da A β e formação da placa amiloide (LEE, 2013), além efeito inibitório contra a citotoxicidade destes peptídeos (LEE, 2011). Assim como o ácido oleico, também se mostrou como inibidor da enzima β -secretase 1 *in vitro* (YOUN, 2014). Este composto foi relacionado com a melhora de déficit de aprendizagem em ratos (YAGUCHI, 2006), e sua deficiência esta supostamente associada com a ocorrência de CCL e DA (LU, 2017).

O ácido α -linolênico (ALA) demonstrou mecanismos de ação como prevenção da disfunção de fator de transcrição como a inibição da atividade da β -secretase, reduzindo amiloidogênese, e supressão da fosforilação da Tau por inibir a via da GSK3 β (GAO, 2016). Além disso, relacionou-se a suplementação de ALA com a ativação da quinase de sinalização extracelular (ERK) do hipocampo, que seria responsável por efeito de aumento da plasticidade sináptica por alterações na estrutura e número de sinapses desta região cerebral. Logo, relacionou-se à melhora da memória e efeitos benéficos em déficits cognitivos do envelhecimento natural. (GAO, 2015; GAO, 2016)

Outros componentes importantes e também presentes nesta noz são os fenóis, tocoferóis e fitoesteróis. Entre os diferentes tipos de nozes, a noz persa é a que mais apresenta fenóis, com cerca de 1602mg/100g. Além disso, a presença de Flavonóides foi também detectada em noz persa, em menor quantidade, com cerca de 0,54mg/100g (BOLLING, 2011).

Os fitosteróis apresentaram ação reguladora de sistema glutamatérgico e colinérgico no hipocampo de ratos com déficits de memória (PARK, 2012). Além disso, estudos *in vitro* e *in vivo* tem indicado ação moduladora na DA, como controle na formação A β por alterar expressão e atividade das enzimas secretases. Mostraram, também, poder ativar os Receptores X do Fígado (LXR- *liver x receptor*) que são importantes na expressão de apolipoproteína E, mediadora da degradação β -amiloide (VANMIERLO, 2015).

Das diferentes isoformas da Vitamina E, o γ -tocoferol é o mais prevalente na noz persa, seguido do α -tocoferol e δ -tocoferol (GORJI, 2018; GHARIBZAHEDI, 2011). A vitamina E tem mostrado importante atividade antioxidante, e prevenção da formação A β e da tau hiperfosforilada, associada a produção de ROS (BOCCARDI, 2016). Dentre os mecanismos de ação implicados está a inibição da COX2 por este composto, e a modulação de fatores de transcrição de expressão do gene da PPA (GRIMM, 2016).

Os fenóis são considerados importante origem da ação antioxidante atribuída às nozes e vem demonstrando importantes propriedades neurocognitivas (GORJI, 2018). Dentre os ácidos fenólicos, o ácido caféico mostrou ação reguladora da toxicidade induzida por A β , por redução de influxo intracelular de cálcio, e diminuição de tau fosforilada por redução de

atividade da GSK3 (SUL, 2009). Esteve, então, relacionado com melhora de memória e de cognição de ratos com excesso de A β (KIM, 2015).

Ainda dentro dos compostos fenólicos, o ácido gálico apresentou mecanismos de ação como inibição da expressão de citocinas inflamatórias cerebrais e redução de morte neuronal, obtendo melhora da disfunção cognitiva relacionada à β -amiloide (KIM, 2011). Já o ácido elágico mostrou como importante inibidor da formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs- *advanced glycation endproducts*), compostos capazes de alterar bioquímica que diversos produtos biológicos, como a glicação da A β e levar à sua agregação (XIA, 2016). Além disso, apresentou ação inibidora da β -secretase 1 e efeito de melhora na memória de modelos animais com DA (AHMED, 2016).

Os flavonoides, presentes em menor quantidade, também apresentaram efeitos relacionados à melhora de danos neurodegenerativos nos diversos estudos, dentre eles a redução da produção e da agregação A β , atividade antioxidante, além de melhora de déficit cognitivo e de memória (GORJI, 2018).

Apesar de um número de estudos limitado, evidências indicaram que estes compostos ativos presentes nas nozes possuem boa biodisponibilidade em humano (GHARIBZAHEDI, 2011), justificando e corroborando o crescimento no interesse do uso dessa noz como fonte terapêutica para doenças que promovem neuroinflamação e degeneração, com importante influência de estresse oxidativo, como é o caso da DA (GORJI, 2018).

3.5 Souvenaid[®]

O metabolismo dos fosfolipídios cerebrais, principais integrantes das membranas neuronais, tem importante influência na manutenção das funções cognitivas. A síntese desses fosfolipídios depende da presença de nutrientes precursores e de cofatores para essa formação, e estes, tem sua disponibilidade diminuída nas demências, em especial na DA (VAN WIJK, 2013; RIJPMA, 2017).

A combinação de nutrientes da Fortasyn Connect, combinação patenteada presente no suplemento alimentar Souvenaid[®], contem muitos dos precursores e cofatores citados anteriormente, e foi formulado com o intuito de promover melhor formação e funcionalidade das membranas neuronais. Dentre os componentes estão: ácido docosahexaenóico, ácido eicosapentaenóico, monofosfato de uridina, colina, vitaminas B12, B6, C, E e ácido fólico, fosfolipídios e selênio (VAN WIJK, 2013; RIJPMA, 2017).

Estudo com o Souvenaid® em animais, demonstrou efeito positivo na memória e na atitude exploratória (WIESMANN, 2013), além de ter sido demonstrado em estudos pré-clínicos que a composição afetou positivamente o metabolismo dos fosfolipídios cerebrais, e demonstrou eficácia ser capaz de melhorar os processos de manutenção e reparo neuronal, e aumento da transmissão colinérgica hipocampal em ratos idosos mediado pela formação de membrana sináptica (JANSEN, 2013; CANSEV, 2015).

Entretanto, o benefício em humanos ainda não é bem elucidado. Rijpma et al. em 2017, revelou que o Souvenaid® teve efeitos positivos no metabolismo dos fosfolipídios cerebrais, em ensaio clínico com pacientes portadores de DA leve. Por outro lado, resultados de outros ensaios clínicos sugeriram que este suplemento alimentar em questão não teve efeitos benéficos na habilidade funcional, comportamento ou outras mudanças clínicas globais (BURCKHARDT, 2020; SHIM, 2021), mas que pode haver benefícios na atenção e memória em fases precoces da demência (SHIM, 2021).

3.6 Modelos Animais

Os modelos animais na pesquisa científica ainda consistem em uma das melhores formas de se estudar dinâmicas complexas inerentes à organismos biológicos, contanto que o modelo animal utilizado cumpra com pré-requisitos básicos, como os estabelecidos por Mckinney e Bunney (1969). Para tanto, deve ser considerado os seguintes itens: a) o modelo deve contemplar sintomas análogos a patologia humana; b) as alterações comportamentais geradas pelo modelo devem ser revertidas pelos mesmos tratamentos usados em humanos; c) o modelo deve causar modificações comportamentais possíveis de serem monitoradas e; d) deve possibilitar a reprodução do mesmo por outros pesquisadores.

Atualmente, os padrões éticos acerca do uso de animais em pesquisa são baseados no princípio dos 3Rs de Russel e Burch (1959), que se traduzem como: substituição (*replacement*), redução (*reduction*) e refinamento (*refinement*) (MANCIOCCO, 2009). Dessa forma, a partir de um uso consciente e responsável, os modelos animais permitiram grandes avanços no desenvolvimento de vacinas, antibióticos e no entendimento dos mecanismos fisiológicos das mais diversas patologias (ROBINSON, 2019).

No estudo da memória, o uso de modelos animais culminou em um grande avanço na compreensão das bases neuronais da memória humana, principalmente através dos estudos com modelos de primatas não-humanos e modelos murinos (WINTERS, SAKSIDA e BUSSEY,

2010). Na memória de trabalho, os modelos animais permitem a investigação mais detalhada dos mecanismos neurais envolvidos em seus processos. Em roedores, os testes de labirinto em Y são amplamente utilizados para o estudo comportamental da memória de trabalho, normalmente analisado sob influência de substâncias bioativas (STAVROULAKI, GIAKOUMAKI e SIDIROPOULOU, 2021).

4 METODOLOGIA

O presente projeto trata-se de etapa inicial, de um estudo pré-clínico para análise do efeito da suspensão da noz persa em modelo animal e elaboração de curva de suplementação (curva dose-resposta), a ser realizada em outra etapa, essencial para estabelecer o melhor tempo (dias) de suplementação para a melhora nos parâmetros de memória, permitindo orientar melhor os protocolos para estudos futuros.

4.1 Animais

Na realização do estudo, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*), machos, de linhagem *Swiss*, de idade aproximada de 6 semanas, provenientes da Unidade Produção Animal (UPA) do Instituto de Pesquisa de Fármacos e Medicamentos (IPeFarM).

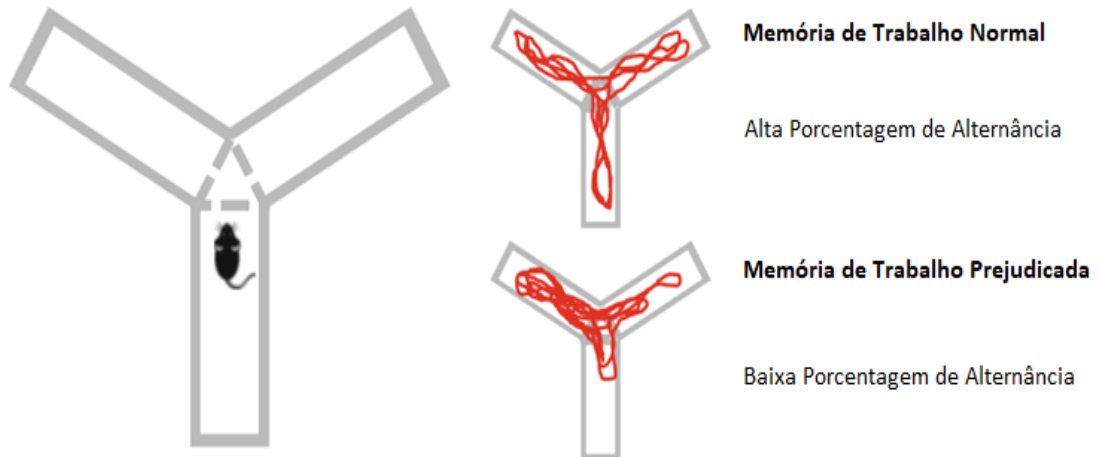
A obtenção dos animais e todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UFPB, sob a certidão nº 9709250222 (Anexo A).

4.2 Equipamentos

4.2.1 Labirinto em Y

O labirinto em Y pode ser utilizado para avaliar a memória de trabalho em camundongos a partir da análise da alternância espontânea, que se baseia no fato de que camundongos são naturalmente curiosos e tendem a explorar ambientes novos. Dessa forma, o animal com a memória de trabalho intacta lembrará dos braços mais recentemente visitados, e tenderá a visitar de forma uniforme todos os três braços (alternância espontânea), enquanto uma disfunção na memória de trabalho acarretará na redução da alternância espontânea (KRAEUTER et al., 2019), conforme representado na Figura 1.

Figura 1 – Relação entre a Memória de Trabalho e a Porcentagem de Alternância.

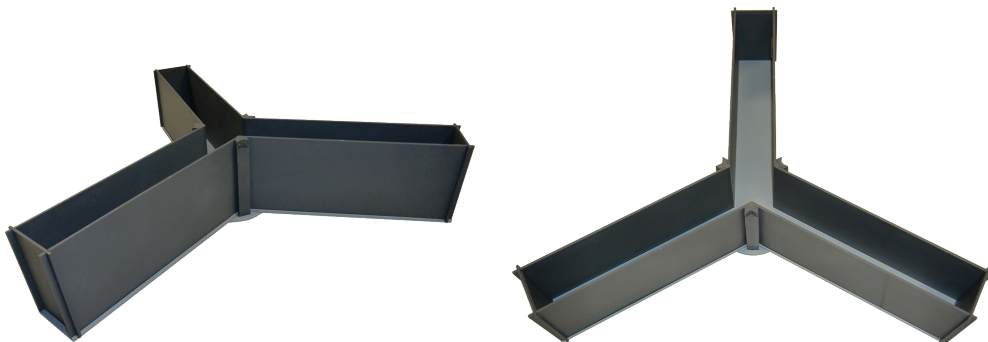


Fonte: Adaptado de Ann-Katrin Kraeuter et al. (2019).

Uma alternância espontânea é definida como três entradas consecutivas em braços diferentes. Dessa forma, o número máximo de alternâncias é o número de entradas menos dois. Portanto, o cálculo da porcentagem de alternância é calculado como: $(\text{número de alternância} / \text{número de entradas} - 2) \times 100$ (CROUZIER et al., 2018; WONG et al, 2020; KRAEUTER et al., 2019).

O equipamento utilizado para a realização deste teste pertence ao Laboratório de Psicofarmacologia – IPeFarM, composto de placas de acrílico, com 3 braços de aproximadamente 16 cm de altura, 5 cm de largura e 40cm de comprimento, conforme Figura 2.

Figura 2 – Labirinto em Y para camundongos



Fonte: Ugo Basile®, 2022

4.2.2 Rota-Rod

O teste de *Rota-Rod* é um dos mais usados na avaliação dos efeitos de tratamentos na coordenação motora do animal. O teste consiste em uma haste circular girando a uma velocidade constante. Os animais colocados na haste rotativa tentam permanecer nela, em vez de cair em uma plataforma a cerca de 30 cm abaixo. Neste teste, os animais são colocados na barra para avaliar o número de quedas (NQ) e o tempo de permanência (TP) durante 5 min (DUNHAM; MIYA, 1957).

Para esta avaliação, foi utilizado equipamento da marca Insight Equipamentos, modelo EFF412, com 450mm de altura e 540mm de largura, dividido em 4 compartimentos, com presença de barra giratória suspensa com velocidade regulável em rotações por minuto (r.p.m.). O equipamento utilizado pertencente ao Laboratório de Psicofarmacologia – IpeFarM (Imagem 2).

Figura 3 – Equipamento para Teste Rota Rod



Fonte: Humberto, 2018. Disponível em: plone.ufpb.br/psicofarmaco/contents/imagens/img_3456.jpg/view. Acesso em Out. 2022.

4.3 Substâncias utilizadas

- Dizocilpina (MK-801)
- Suspensão da Noz Persa
- Souvenaid®
- Solução Salina 0,9%

4.3.1 Indução do déficit de Memória de Trabalho

O MK-801 (Dizocilpina) é um antagonista não competitivo dos canais NMDA de glutamato (ZEMANOVA et al., 2013). Vários estudos utilizam o MK-801 para induzir uma situação de déficit na memória de trabalho, em muitos casos buscando analisar se tal situação poderia ou não ser revertida pelas drogas-teste (BROWN et al., 2013; LAINIOLA, PROCACCINI E LINDEN, 2014; ZEMANOVA et al., 2013; OHNO e WATANABE, 1995; CHINO et al., 2019; SHIRAIISHI et al., 2016; ROSENBROCK et al., 2019).

4.3.2 Suspensão da Noz Persa

A noz Persa foi adquirida no comércio local, em seguida, foi triturada e suspensa em goma xantana. A suspensão foi preparada na proporção de 2g/kg.

4.4 Condições do Experimento

Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), com livre acesso a ração do tipo *pellets* (Purina®) e água disponível em garrafas de polietileno. Os animais foram previamente pesados e alojados em gaiolas de polietileno, contendo 4 animais cada, com pelo menos 2 horas de antecedência à execução dos testes, visando minimizar as possíveis alterações comportamentais do animal, bem como permitir uma adaptação à sala de experimentação.

As administrações foram realizadas no Laboratório de Psicofarmacologia - IPeFarM/UFPB, durante 5 dias e os testes realizados no mesmo local, no período entre 8h e 14 horas.

A bancada e os aparelhos utilizados ao longo do estudo eram higienizados com álcool 70% previamente ao início do experimento, e higienizados com álcool a 10% entre o manuseio e observação de cada animal, objetivando reduzir odores que pudesse interferir no comportamento.

4.5 Experimento

4.5.1 Amostra e grupos de estudo

Conforme explicado anteriormente, o presente projeto corresponde a etapa inicial para um estudo pré-clínico objetivando elaborar a curva de suplementação, avaliando a resposta comportamental (curva dose-resposta), com maior número de dias de aplicação em próximas etapas, por isso, reduzimos o número de animais por grupo para um n=3.

A amostra deste estudo foi composta por 6 grupos de 03 animais, com suplementações e testes descritos abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 – Amostragem e grupos por intervenção.

Grupos	Número de animais
Controle	03
MK-801	03
Souvenaid® + MK-801	03
Noz Persa + MK-801	03
Souvenaid® + Veículo	03
Noz Persa + Veículo	03
Tempo de exposição/ repetições:	Souvenid®, Noz Persa, Salina: 05 dias de tratamento/suplementação MK-801: 01 dia de tratamento
Total:	18

4.5.2 Tratamento e suplementações

A Noz Persa foi ofertada aos animais na forma farmacêutica de suspensão e os animais receberam por gavagem (via oral - v.o.), 2g/kg em um volume de 0,1ml/kg de peso, por 5 dias. O suplemento comercial Souvenaid® foi o controle positivo e administrado nos animais por gavagem (via oral - v.o.) o volume de 0,1ml/g de peso, por 5 dias. Os grupos controles receberam Água Destilada, em mesmo volume (0,1ml/g de peso).

Após 1 dia da última administração por gavagem, os animais receberam MK-801 na dose 0.15 mg/kg (via intraperitoneal - i.p.) 30 minutos antes da entrada no teste de Labirinto em Y (PRABHAKAR et al., 2011).

4.5.3 Testes

Os animais foram divididos em grupos e avaliados no teste de alternância espontânea, Labirinto em Y, realizado 24 horas após a última gavagem, e 30 minutos após a administração do MK-801 por via intraperitoneal. Na etapa experimental, cada braço foi identificado como A, B ou C; os animais foram colocados na extremidade do braço A e foram gravados enquanto o exploravam livremente por 8 minutos. Na etapa de avaliação dos parâmetros, os vídeos foram analisados e as entradas do animal em cada braço foram contabilizadas. Uma entrada foi considerada quando os quatro membros do animal estiveram dentro do braço explorado.

Para avaliação da e possível efeito miorrelaxante, os animais foram submetidos ao Teste Rota Rod, 30, 60 e 120 minutos após o término do Labirinto em Y, e para cada animal foram registrados Número de Quedas (NQ) e Tempo de Permanência (TP) em 5 minutos.

4.6 Análise Estatística

Para a análise comportamental foram utilizados os parâmetros experimentais de cada teste a ser aplicado. A análise estatística foi realizada empregando o teste de Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste *post hoc* de Tukey. Os valores foram representados pela média \pm desvio padrão, sendo as diferenças consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$, intervalo de confiança a 95%.

4.7 Eutanásia e Descarte dos Animais

Após o período experimental, os animais foram eutanasiados por overdose da associação de anestésicos dissociativos (Xilazina 20 a 30mg/kg + cetamina 200 a 300 mg/kg) diluída em solução salina (NaCl 0,9%) administrada via intraperitoneal (IP), em dose suficiente para eliminar o reflexo corneal. Após a ausência do reflexo corneal, administrou 2 mmol/kg de cloreto de potássio, seguida de deslocamento cervical (Resolução CONCEA N° 37/2018).

5 RESULTADOS

5.1 Animais

Um total de 18 camundongos (*Mus musculus*), machos, de linhagem *Swiss*, de idade aproximada de 6 semanas, entraram no estudo e foram submetidos às administrações enterais, por gavagem, por 5 dias, seguida de administração intraperitoneal no 6º dia do estudo. O peso dos animais no início do estudo e o peso médio dos animais ao longo do estudo estão demonstrados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 – Peso dos animais no início do estudo.

CONTROLE	MK-801	NOZ + VEÍCULO	NOZ + MK-801	SOUVENAID® + VEÍCULO	SOUVENAID® + MK-801
36,9	37,3	35,1	36,6	34,7	36,7
36,9	35,2	35,6	37,0	36,7	36,4
36,8	36,6	37,2	37,2	35,3	38,3

Legenda: Valor do peso expresso em gramas.

Tabela 3– Peso médio por grupo ao longo do estudo.

	1º DIA	2º DIA	3º DIA	4º DIA	5º DIA	DIA DO TESTE
CONTROLE	36,9	36,7	36,4	37,9	37,4	39,1
MK-801	36,4	36,6	37,2	37,3	37,5	38,5
NOZ + VEÍCULO	36	36,4	36,8	37,1	36,7	37,4
NOZ + MK-801	36,9	37,1	37,6	37,7	37,7	38,8
SOUVENAID® + VEÍCULO	35,6	35,4	35,7	36,5	36,8	37,7
SOUVENAID® + MK-801	37,1	37,2	37,9	38,3	38,9	39

Legenda: Valor do peso expresso em gramas.

5.2 Teste do Labirinto em Y

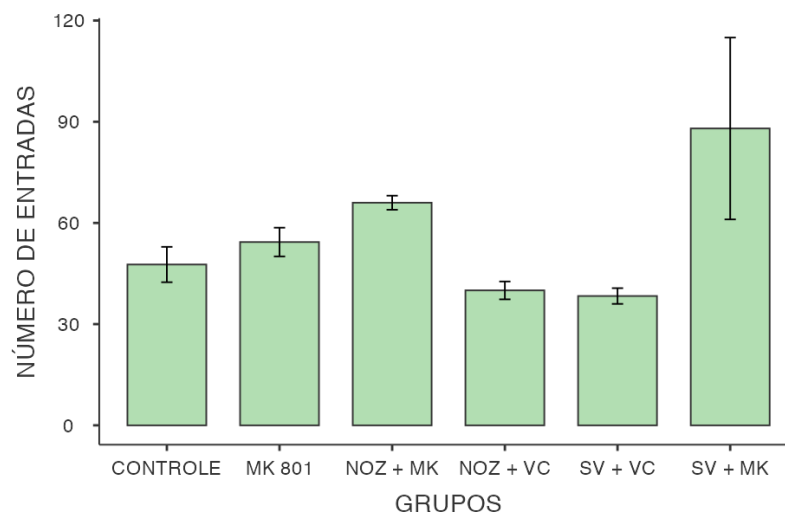
Com relação ao Número total de Entradas, os grupos que receberam administração de MK-801 (i.p) apresentaram maiores médias, sendo eles os grupos Souvenaid® + MK-801 ($88,0 \pm 46,68$), Noz Persa + MK-801 ($66,0 \pm 3,61$), e MK-801 isoladamente ($54,3 \pm 7,37$). Já o grupo com menor média de entradas foi o Souvenaid® + Veículo ($38,3 \pm 4,04$), seguido dos grupos

Noz + Veículo ($40,0 \pm 4,58$) e grupo Controle ($47,7 \pm 9,07$). Entretanto, o teste de variância (ANOVA de uma via) para dados paramétricos não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,075$), assim como o teste *post hoc* de Tukey para este desfecho. Os dados referentes ao número de entradas estão representados na Figura 4.

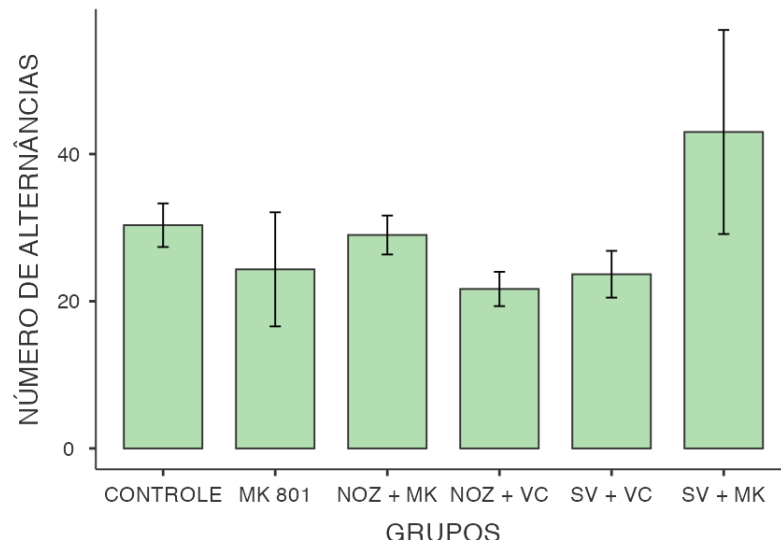
Os grupos que apresentaram maiores valores médios de Número de Alternância foram os grupos Souvenaid® + MK-801 ($43,0 \pm 24,02$), Controle ($30,3 \pm 5,13$), e Noz + MK-801 ($29,0 \pm 4,58$). Por outro lado, os grupos Noz + Veículo, Souvenaid® + Veículo, e MK-801 apresentaram as menores médias ($21,7 \pm 4,04$, $23,7 \pm 5,51$ e $24,3 \pm 13,43$ respectivamente). Não houve diferença com significância estatística entre os grupos no teste de variância seguido de teste *post hoc* ($p=0,337$). Resultados representados na Figura 5.

Quanto à Porcentagem de Alternância dos animais nos braços do Labirinto em Y, os grupos que apresentaram valor médio com melhor desempenho foi o grupo Controle e o grupo Souvenaid® + Veículo ($67,5 \pm 12,62$ e $65,5 \pm 15,5$ respectivamente). Os grupos Noz + MK-801 ($45,3 \pm 10,39$) e o grupo controle positivo Souvenaid® + MK-801 ($49,6 \pm 2,29$), apresentaram valor médio superior ao grupo MK-801 isoladamente ($44,5 \pm 20,97$), porém inferior ao grupo Noz + Veículo ($56,7 \pm 3,75$). Apesar da descrição apresentada, a análise de variância entre os grupos por meio do ANOVA de uma via ($p=0,173$), assim como o teste *post hoc*, também não demonstrou presença de diferença estatística entre os grupos para este parâmetro (Figura 6).

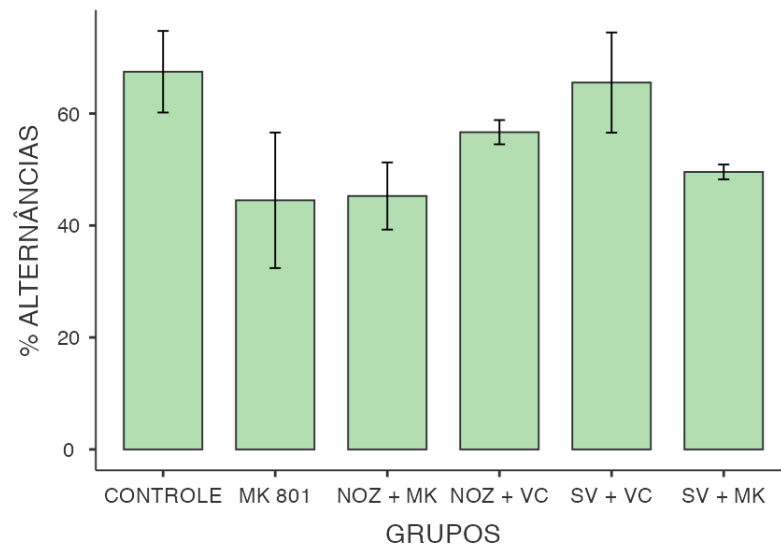
Figura 4 –Teste do Labirinto em Y: Número de Entradas.



Legenda: MK: MK-801; VC: Veículo; NOZ: Suspensão de Noz Persa; SV: Souvenaid®. Valores representados por Média ± Desvio Padrão (n=3). ANOVA de uma via ($p=0,075$).

Figura 5 –Teste do Labirinto em Y: Número de Alternâncias.

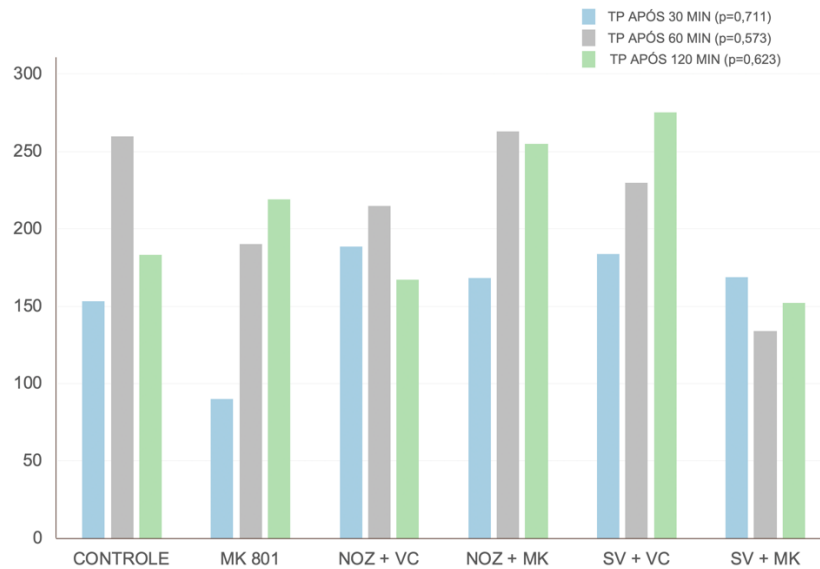
Legenda: MK: MK-801; VC: Veículo; NOZ: Suspensão de Noz Persa; SV: Souvenaid®. Valores representados por Média ± Desvio Padrão (n=3). ANOVA de uma via (p=0,337).

Figura 6 –Teste do Labirinto em Y: Porcentagem de Alternâncias.

Legenda: MK: MK-801; VC: Veículo; NOZ: Suspensão de Noz Persa; SV: Souvenaid®. Valores representados por Média ± Desvio Padrão (n=3). ANOVA de uma via (p=0,173).

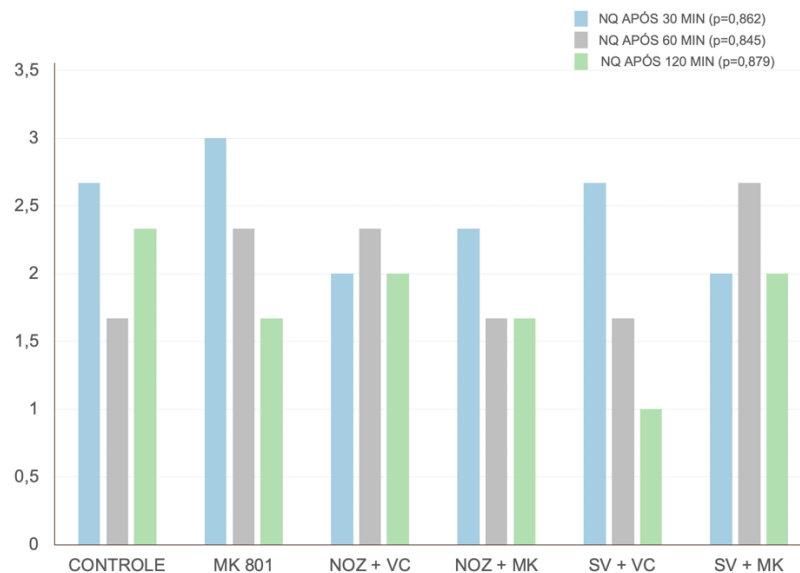
5.3 Teste de coordenação motora – *Rota Rod*

No teste do *Rota Rod*, os grupos que apresentaram menor Tempo de Permanência (em segundos) na barra giratória, considerando os dados descritivos, foi o grupo MK-801 isolado, após 30 minutos do Labirinto em Y ($90 \pm 5,2$). Porém, à análise de variância pelo ANOVA, não se evidenciou diferença significativa entre os grupos após 30, 60 e 120 minutos (p=0,711; p=0,573; p=0,623). Valores médios representados na Figura 7.

Figura 7 –Teste do *Rota Rod*: Tempo de Permanência.

Legenda: TP: Tempo de Permanência (em segundos); MK: MK-801; VC: Veículo; NOZ: Suspensão de Noz Persa; SV: Souvenaid®. Valores representados por Média (n=3). ANOVA de uma via (p=0,711; p=0,573; p=0,623).

Quanto ao Número de Quedas (Figura 8), o grupo MK-801 após 30 minutos do Labirinto em Y apresentou maior número de quedas (3 quedas), seguido dos grupos Controle, após 30 minutos Souvenaid® + Veículo após 30 minutos e Souvenaid®+ MK-801 após 60 minutos ($2,67 \pm 0,58$). Entretanto, a análise de variância pelo ANOVA não revelou diferença com significância entre os grupos quanto a este parâmetro após 30, 60 e 120 minutos (p=0,862; p=0,845; p=0,879 respectivamente).

Figura 8 –Teste do *Rota Rod*: Número de Quedas.

Legenda: TP: Tempo de Permanência (em segundos); MK: MK-801; VC: Veículo; NOZ: Suspensão de Noz Persa; SV: Souvenaid®. Valores representados por Média (n=3). ANOVA de uma via (p=0,862; p=0,845; p=0,879).

6 DISCUSSÃO

A Doença de Alzheimer tem sua patogênese associada a diversos fenômenos como, depósito de agregado de proteínas, disfunção mitocondrial, neuroinflamação, estresse oxidativo, e distúrbios associados a neurotransmissores (HANE, 2017; BONDA, 2010; CAMERON E LANDRETH, 2012). Buscando ação em um ou mais desses eventos, muitos compostos vêm sendo testados como alternativas para melhora da cognição dos pacientes portadores de tal patologia, em especial no aspecto da memória. A memória de trabalho, aspecto avaliado neste estudo, tem-se demonstrado como um dos sintomas iniciais do comprometimento cognitivo, e uma queixa importante nos portadores de síndromes demenciais (GILMOUR, 2019; ZOKAEI, 2019, 2020)).

No presente estudo, a análise da memória de trabalho se deu pelo Labirinto em Y, teste padronizado para esta análise, utilizado em diversos estudos onde os modelos animais de memória apresentaram redução da alternância espontânea entre os braços (FRASER, 1996; BASSANI, 2017; RYCHTYK, 2019; ESSELUN, 2021; MOON, 2022), resultado este, esperado após indução de déficit cognitivo.

Para estudos em memória, diversos modelos animais são utilizados, dentre eles, modelos animais transgênicos (FERNANDEZ-FERNANDEZ, 2011; SABOGAL-GUAQUETÁ, 2017; ZHANG, 2017; ESSELUN, 2021), ou modelos de alteração cognitiva induzida por substâncias como Escopolamina (HARANDI, 2015; LIOU, 2020; SHANNON, 2004), Estreptozotocina (BASSANI, 2017), ou Dizozilpina, também conhecido como MK-801 (FRASER, 1996; RYCHTYK, 2019; LIM, 2011; SVALBE, 2019), entre outros.

O MK-801, utilizado neste estudo, é um antagonista não competitivo do receptor de glutamato, NMDA. Esta substância induz alterações cognitivas semelhantes àquelas encontradas nas demências (ELLISON, 1995). Em estudos, o uso de doses entre 0,1 mg/kg e 0,2 mg/kg via intraperitoneal (i.p.) demonstrou efeitos de hiperlocomoção e comprometimento de memória de curto prazo (LIM, 2011; SVALBE, 2019), que, considerando o teste utilizado no presente estudo, seriam expressos por aumento significativo do número de entradas e redução da porcentagem de alternância. Porém, este não foi um desfecho observado em nossos resultados, visto que, apesar de todos os grupos em uso de MK-801 (i.p.) ter apresentado número médio de entradas maior e porcentagem média de alternância menor que os grupos Veículo, não houve diferença estatisticamente significativa.

Diversos autores estudaram a suplementação de Noz Persa ou de componentes presentes na mesma, e avaliaram a memória de curto prazo. Nesses estudos, o tempo de suplementação variou de 1 a 6 meses, com suplementação que variou de 20 mg/kg a 90 g/kg, tendo todos eles

demonstrado efeito de melhora cognitiva relacionada a memória espacial (FERNANDEZ-FERNANDEZ, 2011; HARANDI, 2015; LIOU, 2020; ESSELUN, 2021; MOON, 2022; ZOU, 2016). Dentre os estudos citados, Moon et al. (2022) e Esselun et al. (2021) utilizaram o *Y-maze* como teste para avaliar a memória espacial, e demonstraram uma melhora significativa na alternância espontânea dos grupos tratados com a Noz Persa. Este resultado não foi encontrado pelo presente estudo, dado que não houve melhor desempenho estatisticamente significativo nos grupos que receberam a suplementação.

Harandi et al. (2015) e Esselun et al. (2021) avaliaram também o efeito da suplementação da Noz na coordenação motora, por meio do *Rota Rod*, no qual ambos não encontraram diferença no efeito locomotor entre o grupo suplementado com noz persa e o controle. O mesmo resultado foi encontrado no nosso estudo, não demonstrando efeito miorrelaxante ou demais alterações de locomoção atribuídos à suplementação realizada por 5 dias.

Visto isso, uma limitação evidenciada no presente estudo foi o pequeno tamanho amostral (3 animais por grupo), que pode ter sido fator desfavorável na análise comparativa entre os grupos. Faz-se necessário reavaliar o aumento amostral dentro das perspectivas futuras da pesquisa.

Além disso, o tempo de administração realizado neste estudo foi de 5 dias e pode ser considerado pequeno em comparação aos demais estudos presentes na literatura. Esse tempo foi dado considerando o objetivo de elaboração de curva dose-resposta composto também por outras futuras etapas do ensaio pré-clínico. Porém, analisando os resultados apresentados, este fator pode ter sido limitador quanto a evidência de resposta da suplementação nos grupos intervenção.

É importante ressaltar que este estudo corresponde ao ensaio piloto do projeto, tendo permitido, por meio da análise dos resultados, a realização de recomendações e reorientações metodológicas para o desenvolvimento das novas etapas pré-clínicas.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo não demonstrou benefício sobre a memória de trabalho com o uso da suspensão de Noz Persa administrada por 5 dias. Além disso, não houve indução do déficit de memória com diferença significativa estatisticamente entre os grupos que receberam a indução e os grupos controle, apesar do uso do indutor conforme protocolo, utilizado previamente em outros estudos. Quanto a coordenação motora, a administração da suplementação com Noz Persa por 5 dias não demonstrou diferença quanto ao efeito locomotor em relação aos demais grupos.

É importante considerar que limitações existentes no presente estudo podem ter sido fatores desfavoráveis para a análise, dentre elas o número amostral e o tempo de administração. Vale ressaltar a importância desta etapa pré-clínica inicial para o norteamento dos experimentos futuros visando aprimorar as limitações presentes e elucidar o tempo de administração e dose de suplementação adequados para possível resposta à suplementação.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, Elisa et al. Cognitive stimulation for dementia: a systematic review of the evidence of effectiveness from randomised controlled trials. **Ageing Research Reviews**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 253-262, jan. 2013.
- AHMED, Touqeer et al. Insights Into Effects of Ellagic Acid on the Nervous System: a mini review. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 22, n. 10, p. 1350-1360, 4 mar. 2016.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2017 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer'S & Dementia**, [v. 13, n. 4, p. 325-373, abr. 2017.
- ANDRIEU, Sandrine et al. Effect of long-term omega 3 polyunsaturated fatty acid supplementation with or without multidomain intervention on cognitive function in elderly adults with memory complaints (MAPT): a randomised, placebo-controlled trial. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 16, n. 5, p. 377-389, maio 2017.
- AUGUSTIN, Katrin et al. Mechanisms of action for the medium-chain triglyceride ketogenic diet in neurological and metabolic disorders. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 84-93, jan. 2018.
- BARBOSA, Mayara Queiroga et al. Effect of diets with goat milk fat supplemented with exercise on anxiety and oxidative stress in the brains of adult rats. **Food & Function**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 2891-2901, 2018.
- BASSANI, Taysa B. et al. Effects of curcumin on short-term spatial and recognition memory, adult neurogenesis and neuroinflammation in a streptozotocin-induced rat model of dementia of Alzheimer's type. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 335, p. 41-54, set. 2017.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. Linguagem em Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso. 4a edição. **Porto Alegre: Artmed**, 2017.
- BIRKS, Jacqueline s. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [S.L.], v. 2016, n. 3, p. 1-69, 25 jan. 2006.
- BLANCO-SILVENTE, Lúdia et al. Discontinuation, Efficacy, and Safety of Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease: a meta-analysis and meta-regression of 43 randomized clinical trials enrolling 16 106 patients. **International Journal Of Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 20, n. 7, p. 519-528, 13 fev. 2017.
- BOCCARDI, Virginia et al. Vitamin E family: role in the pathogenesis and treatment of alzheimer's disease. **Alzheimer'S & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, [S.L.], v. 2, n. 3, p. 182-191, 30 ago. 2016.
- BOLLING, Bradley W. et al. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. a systematic review of almonds, brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. **Nutrition Research Reviews**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 244-275, dez. 2011.

BONDA, David J. et al. Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention. **Neuropharmacology**, [S.L.], v. 59, n. 4-5, p. 290-294, set. 2010.

BRAMBILLA, D et al. PEGylated Nanoparticles Bind to and Alter Amyloid-Beta Peptide Conformation: toward engineering of functional nanomedicines for alzheimer's disease. **ACS Nano**, [S.L.], v. 6, n. 7, p. 5897-5908, 19 jun. 2012.

BROWN, Jordan W. et al. Preclinical evaluation of non-imidazole histamine H3 receptor antagonists in comparison to atypical antipsychotics for the treatment of cognitive deficits associated with schizophrenia. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 16, n. 4, p. 889-904, 2013.

BURCKHARDT, Marion et al. Souvenaid for Alzheimer's disease. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [S.L.], v. 2020, n. 12, p. 1-61, 15 dez. 2020.

CAMERON, Brent; LANDRETH, Gary E.. Inflammation, microglia, and alzheimer's disease. **Neurobiology Of Disease**, [S.L.], v. 37, n. 3, p. 503-509, mar. 2010.

CANSEV, Mehmet et al. A specific multi-nutrient enriched diet enhances hippocampal cholinergic transmission in aged rats. **Neurobiology Of Aging**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 344-351, jan. 2015.

CHEN, Xiao-Fen et al. Transcriptional regulation and its misregulation in Alzheimer's disease. **Molecular Brain**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 44, 2013.

CHINO, Ayaka et al. Synthesis, SAR study, and biological evaluation of novel 2, 3-dihydro-1H-imidazo [1, 2-a] benzimidazole derivatives as phosphodiesterase 10A inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 27, n. 16, p. 3692-3706, 2019.

CLARK, David A.; BECK, Aaron T. Cognitive theory and therapy of anxiety and depression: Convergence with neurobiological findings. **Trends in cognitive sciences**, v. 14, n. 9, p. 418-424, 2010.

CROUZIER, Lucie et al. Topographical memory analyzed in mice using the Hamlet test, a novel complex maze. **Neurobiology of learning and memory**, v. 149, p. 118-134, 2018.

DANYSZ, Wojciech; PARSONS, Chris G. Alzheimer's disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - searching for the connections. **British Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 167, n. 2, p. 324-352, 22 ago. 2012.

DUMAS, Julie A.; NEWHOUSE, Paul A.. The cholinergic hypothesis of cognitive aging revisited again: cholinergic functional compensation. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 99, n. 2, p. 254-261, ago. 2011.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A Note on a Simple Apparatus for Detecting Neurological Deficit in Rats and Mice**College of Pharmacy, University of Nebraska, Lincoln 8. **Journal Of The American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 208-209, mar. 1957.

- ECKERT, Anne et al. Role of phosphorylated TAU in mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Basis Of Disease**, [S.L.], v. 1842, n. 8, p. 1258-1266, ago. 2014.
- ELLISON, Gaylord. The NMDA antagonist phenciclidine, ketamine and dizocilpine as both behavioral and anatomical models of the dementias. **Brain Res. Reviews**, v. 20, p. 250-267, 1995.
- ELMAN, Jeremy et al. Neural compensation in older people with brain amyloid- β deposition. **Nature Neuroscience**, [S.L.], v. 17, n. 10, p. 1316-1318, 14 set. 2014.
- ESKICI, Gözde; AXELSEN, Paul H.. Copper and Oxidative Stress in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Biochemistry**, [S.L.], v. 51, n. 32, p. 6289-6311, 31 jul. 2012.
- ESSELUN, Carsten et al. A Walnut Diet in Combination with Enriched Environment Improves Cognitive Function and Affects Lipid Metabolites in Brain and Liver of Aged NMRI Mice. **Neuromolecular Medicine**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 140-160, 26 dez. 2020.
- FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, Laura et al. LMN diet, rich in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, improves mouse cognitive decline associated with aging and Alzheimer's disease. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 228, n. 2, p. 261-271, mar. 2012.
- FRASER C. M. et al. Interactions between ifenprodil and dizocilpine on mouse behaviour in models of anxiety and working memory. *European Neuropsychopharmacology*, UK, v. 6, p. 311-316, 1996
- FREDERICKSON, Christopher J.; KOH, Jae-Young; BUSH, Ashley I.. The neurobiology of zinc in health and disease. **Nature Reviews Neuroscience**, [S.L.], v. 6, n. 6, p. 449-462, 13 maio 2005.
- GAO, Hui et al. Chronic alpha-linolenic acid treatment alleviates age-associated neuropathology: roles of perk/eif2 α signaling pathway. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 57, p. 314-325, out. 2016.
- GAO, Hui et al. Long-Term Dietary Alpha-Linolenic Acid Supplement Alleviates Cognitive Impairment Correlate with Activating Hippocampal CREB Signaling in Natural Aging Rats. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 53, n. 7, p. 4772-4786, 2 set. 2015.
- GHARIBZAHEDI, Seyed Mohammad Taghi et al. Determination and characterization of kernel biochemical composition and functional compounds of Persian walnut oil. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 34-42, 12 ago. 2011.
- GHOSH, Arun K. *et al.* BACE1 (β -secretase) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. **Chem. Soc. Rev.**, [S.L.], v. 43, n. 19, p. 6765-6813, 2 abr. 2014.
- GILMOUR, Gary et al. Relating constructs of attention and working memory to social withdrawal in Alzheimer's disease and schizophrenia: issues regarding paradigm selection. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 97, p. 47-69, 2019.

- GOBBA, Cristian et al. Antioxidant peptides from goat milk protein fractions hydrolysed by two commercial proteases. **International Dairy Journal**, [S.L.], v. 39, n. 1, p. 28-40, nov. 2014.
- GOEDERT, M.. Alzheimer's and Parkinson's diseases: the prion concept in relation to assembled α , tau, and α -synuclein. **Science**, [S.L.], v. 349, n. 6248, p. 125, 6 ago. 2015.
- GORJI, Narjes; MOEINI, Reihaneh; MEMARIANI, Zahra. Almond, hazelnut and walnut, three nuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: a neuropharmacological review of their bioactive constituents. **Pharmacological Research**, [S.L.], v. 129, p. 115-127, mar. 2018.
- GRIMM, Marcus; METT, Janine; HARTMANN, Tobias. The Impact of Vitamin E and Other Fat-Soluble Vitamins on Alzheimer's Disease. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 17, n. 11, p. 1785, 26 out. 2016.
- GROOT, C. et al. The effect of physical activity on cognitive function in patients with dementia: a meta-analysis of randomized control trials. **Ageing Research Reviews**, [S.L.], v. 25, p. 13-23, jan. 2016.
- GUO, Jing L.; LEE, Virginia M.-Y. Seeding of Normal Tau by Pathological Tau Conformers Drives Pathogenesis of Alzheimer-like Tangles. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 286, n. 17, p. 15317-15331, abr. 2011.
- HANE, Francis T et al. Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: diagnosis and treatment. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 645-665, 10 abr. 2017.
- HANE, Francis T.; LEE, Brenda Y.; LEONENKO, Zoya. Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 1: pathology. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 57, n. 1, p. 1-28, 4 mar. 2017.
- HANNULA, D. E.; TRANEL, D.; COHEN, N. J.. The Long and the Short of It: relational memory impairments in amnesia, even at short lags. **Journal Of Neuroscience**, [S.L.], v. 26, n. 32, p. 8352-8359, 9 ago. 2006.
- HARANDI, Shaahin et al. Antiamnesic Effects of Walnuts Consumption on Scopolamine Induced Memory Impairments in Rats. **Basic Clin Neurosci**, v.6, n. 2, p. 91-99, abr. 2015
- HASS, C.; SELKOE, D. J.. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the alzheimer's amyloid β -peptide. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 101-112, fev. 2007.
- HAWKING, S. Uma breve história do tempo. **Editora Intrínseca**, 2015.
- IZQUIERDO, Ivan. Memória. **Artmed Editora**, 3ª edição, 20 abril 2018.
- JANSEN, Diane et al. Effects of Specific Multi-Nutrient Enriched Diets on Cerebral Metabolism, Cognition and Neuropathology in A β PPswe-PS1dE9 Mice. **Plos One**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 1-20, 24 set. 2013.

KAHLE-WROBLESKI, Kristin et al. Sensitivity and Specificity of the Mini-Mental State Examination for Identifying Dementia in the Oldest-Old: the 90+ study. **Journal Of The American Geriatrics Society**, [S.L.], v. 55, n. 2, p. 284-289, fev. 2007.

KAUR, Upinder *et al.* Reactive Oxygen Species, Redox Signaling and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: the nf- κ b connection. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 15, n. 5, p. 446-457, 23 fev. 2015.

KHOURY, Rita et al. Recent Progress in the Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease. **Drugs & Aging**, [S.L.], v. 34, n. 11, p. 811-820, nov. 2017.

KIM, Hye Yun et al. Taurine in drinking water recovers learning and memory in the adult APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-7, 12 dez. 2014.

KIM, Ji Hyun et al. Protective role of caffeic acid in an A β 25-35-induced Alzheimer's disease model. **Nutrition Research And Practice**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 480, 2015.

KIM, Mi-Jeong et al. Gallic acid, a histone acetyltransferase inhibitor, suppresses β -amyloid neurotoxicity by inhibiting microglial-mediated neuroinflammation. **Molecular Nutrition & Food Research**, [S.L.], v. 55, n. 12, p. 1798-1808, 31 out. 2011

KIROVA, Anna-Mariya; BAYS, Rebecca B.; LAGALWAR, Sarita. Working Memory and Executive Function Decline across Normal Aging, Mild Cognitive Impairment, and Alzheimer's Disease. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2015, p. 1-9, 2015.

KNIGHT, Alissa et al. The Mediterranean Diet and Cognitive Function among Healthy Older Adults in a 6-Month Randomised Controlled Trial: the medley study. **Nutrients**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 579, 20 set. 2016.

KO, Shun-Yao et al. Advanced glycation end products enhance amyloid precursor protein expression by inducing reactive oxygen species. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 474-480, 1 ago. 2010

KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltán. The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. In: **Pre-Clinical Models**. Humana Press, New York, NY. p. 105-111, 2019.

KÜLZOW, Nadine et al. Impact of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Memory Functions in Healthy Older Adults. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 713-725, 30 mar. 2016.

LAINIOLA, Mira; PROCACCINI, Chiara; LINDEN, Anni-Maija. mGluR3 knockout mice show a working memory defect and an enhanced response to MK-801 in the T-and Y-maze cognitive tests. **Behavioural brain research**, v. 266, p. 94-103, 2014.

LEE, Eunyoung et al. Effect of conjugated linoleic acid, μ -calpain inhibitor, on pathogenesis of Alzheimer's disease. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular And Cell Biology Of Lipids**, [S.L.], v. 1831, n. 4, p. 709-718, abr. 2013.

LEE, Hyuck Jin et al. Cholesterol and metal ions in Alzheimer's disease. **Chem. Soc. Rev.**, [S.L.], v. 43, n. 19, p. 6672-6682, 8 abr. 2014.

LEE, Min Jung et al. The effects of hempseed meal intake and linoleic acid on *Drosophila* models of neurodegenerative diseases and hypercholesterolemia. **Molecules And Cells**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 337-342, 10 fev. 2011.

LIAO, Jianqiao et al. Walnut Oil Prevents Scopolamine-Induced Memory Dysfunction in a Mouse Model. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 7, p. 1630, 2 abr. 2020.

LIM, Ann Li; TAYLOR, David Alan; MALONE, Daniel Thomas. Consequences of early life MK-801 administration: long-term behavioural effects and relevance to schizophrenia research. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 227, n. 1, p. 276-286, fev. 2012.

LIN, Hai; BHATIA, Rajinder; LAL, Ratneshwar. Amyloid β protein forms ion channels: implications for alzheimer's disease pathophysiology. **The FASEB Journal**, [S.L.], v. 15, n. 13, p. 2433-2444, nov. 2001.

LIU, Xiaoran et al. Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) study: rationale, design and baseline characteristics of a randomized control trial of the mind diet on cognitive decline. **Contemporary Clinical Trials**, [S.L.], v. 102, p. 106270, mar. 2021.

LLORET, A. et al. Molecular mechanisms linking amyloid β toxicity and Tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 83, p. 186-191, jun. 2015.

LU, Shengwen et al. Characterizing serum metabolic alterations of Alzheimer's disease and intervention of Shengmai-San by ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Food & Function**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 1660-1671, 2017.

MA, Lou-Yan *et al.* The Research on the Relationship of RAGE, LRP-1, and A β Accumulation in the Hippocampus, Prefrontal Lobe, and Amygdala of STZ-Induced Diabetic Rats. **Journal Of Molecular Neuroscience**, [S.L.], v. 62, n. 1, p. 1-10, 11 abr. 2017.

MANCIOCCO, Arianna et al. The application of Russell and Burch 3R principle in rodent models of neurodegenerative disease: the case of parkinson's disease. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 18-32, jan. 2009.

MARTIN, Ludovic et al. Tau protein kinases: involvement in alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 289-309, jan. 2013.

MARTISKAINEN, Henna et al. Targeting ApoE4/ApoE receptor LRP1 in Alzheimer's disease. **Expert Opinion On Therapeutic Targets**, [S.L.], v. 17, n. 7, p. 781-794, 11 abr. 2013.

MAWUENYEGA, K. G. et al. Decreased Clearance of CNS -Amyloid in Alzheimer's Disease. **Science**, [S.L.], v. 330, n. 6012, p. 1774-1774, 9 dez. 2010.

- MCKEITH, Ian et al. Dementia with Lewy bodies. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 19-28, jan. 2004.
- MCKINNEY, William T.; BUNNEY, William E. Animal model of depression: I. Review of evidence: Implications for research. **Archives of general psychiatry**, v. 21, n. 2, p. 240-248, 1969.
- MERAM, Thomas D. et al. Evoking network profiles of the dorsal anterior cingulate in youth with Obsessive-Compulsive Disorder during motor control and working memory. **Journal of Psychiatric Research**, v. 132, p. 72-83, 2021.
- MILLAN, Mark J. et al. Cognitive dysfunction in psychiatric disorders: characteristics, causes and the quest for improved therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 141-168, fev. 2012.
- MOON, Jong Hyun et al. Walnut Prevents Cognitive Impairment by Regulating the Synaptic and Mitochondrial Dysfunction via JNK Signaling and Apoptosis Pathway in High-Fat Diet-Induced C57BL/6 Mice. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 16, p. 5316, 20 ago. 2022.
- MOORHOUSE, Paige; ROCKWOOD, Kenneth. Vascular cognitive impairment: current concepts and clinical developments. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 246-255, mar. 2008.
- MUTHAIYAH, Balu et al. Dietary Supplementation of Walnuts Improves Memory Deficits and Learning Skills in Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 42, n. 4, p. 1397-1405, 10 out. 2014.
- MUTHAIYAH, Balu et al. Protective Effects of Walnut Extract Against Amyloid Beta Peptide-Induced Cell Death and Oxidative Stress in PC12 Cells. **Neurochemical Research**, [S.L.], v. 36, n. 11, p. 2096-2103, 25 jun. 2011.
- MUTISYA, Elizabeth M.; BOWLING, Allen C.; BEAL, M. Flint. Cortical Cytochrome Oxidase Activity Is Reduced in Alzheimer's Disease. **Journal Of Neurochemistry**, [S.L.], v. 63, n. 6, p. 2179-2184, 23 nov. 2002.
- MYERS, D. G.; DEWALL, C. N. Psicologia. 11ª edição. **Editora LTC**, 2017.
- NASREDDINE, Ziad S et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. **Journal Of The American Geriatrics Society**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 695-699, abr. 2005.
- NICHOLS, Emma et al. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. **The Lancet Neurology**, v. 18, n. 1, p. 88-106, jan. 2019.
- NICHOLS, Emma et al. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. **The Lancet Neurology**, v. 18, n. 1, p. 88-106, jan. 2019.

NIKOLIN, Stevan et al. An investigation of working memory deficits in depression using the n-back task: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, 2021.

OHNO, Masuo; WATANABE, Shigenori. Intrahippocampal administration of (+)-SKF 10,047, a σ ligand, reverses MK-801-induced impairment of working memory in rats. **Brain research**, v. 684, n. 2, p. 237-242, 1995.

OLSON, Ingrid R.; MOORE, Katherine Sledge; STARK, Marianna; CHATTERJEE, Anjan. Visual Working Memory Is Impaired when the Medial Temporal Lobe Is Damaged. **Journal Of Cognitive Neuroscience**, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 1087-1097, 1 jul. 2006.

OTA, Miho et al. Effects of a medium-chain triglyceride-based ketogenic formula on cognitive function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, [S.L.], v. 690, p. 232-236, jan. 2019

PAL, Amit et al. Towards a Unified Vision of Copper Involvement in Alzheimer's Disease: a review connecting basic, experimental, and clinical research. **Journal Of Alzheimer's Disease**, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 343-354, 22 jan. 2015.

PAN, Xiao-Dong; CHEN, Xiao-Chun. Clinic, neuropathology and molecular genetics of frontotemporal dementia: a mini-review. **Translational Neurodegeneration**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 1-9, 19 abr. 2013.

PARK, Se Jin et al. The ameliorating effects of stigmasterol on scopolamine-induced memory impairments in mice. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 676, n. 1-3, p. 64-70, fev. 2012.

PHILLIPS, Michelle et al. No Effect of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Cognition and Mood in Individuals with Cognitive Impairment and Probable Alzheimer's Disease: a randomised controlled trial. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 16, n. 10, p. 24600-24613, 16 out. 2015.

POLO-HERNÁNDEZ, Erica et al. Oleic acid synthesized by stearoyl-CoA desaturase (SCD-1) in the lateral periventricular zone of the developing rat brain mediates neuronal growth, migration and the arrangement of prospective synapses. **Brain Research**, [S.L.], v. 1570, p. 13-25, jun. 2014.

PRABHAKAR, Sudesh et al. Bacopa monniera selectively attenuates suppressed Superoxide dismutase activity in diazepam induced amnesic mice. **Annals Of Neurosciences**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 8-16, 2 jan. 2011

PRIBIS, Peter et al. Effects of walnut consumption on cognitive performance in young adults. **British Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 107, n. 9, p. 1393-1401, 19 set. 2011.

QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M.. Alzheimer's Disease. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 362, n. 4, p. 329-344, 28 jan. 2010.

QUEVEDO, João; IZQUIERDO, Ivan. Neurobiologia dos transtornos psiquiátricos. **Artmed Editora**, 2020.

QUINN, Joseph F. et al. Docosahexaenoic Acid Supplementation and Cognitive Decline in Alzheimer Disease. **Jama**, [S.L.], v. 304, n. 17, p. 1903, 3 nov. 2010.

RABIEE, Atusa et al. Impaired nonverbal working memory in high-functioning autism spectrum disorder. **Medical journal of the Islamic Republic of Iran**, v. 32, p. 107, 2018.

RAJARAM, Sujatha et al. The Walnuts and Healthy Aging Study (WAHA): protocol for a nutritional intervention trial with walnuts on brain aging. **Frontiers In Aging Neuroscience**, [S.L.], v. 8, n. 333, p. 1-12, 10 jan. 2017.

RAZ, Limor; KNOEFEL, Janice; BHASKAR, Kiran. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. **Journal Of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 172-186, 15 jul. 2015.

REBELLO, Candida J. et al. Pilot feasibility and safety study examining the effect of medium chain triglyceride supplementation in subjects with mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. **Bba Clinical**, [S.L.], v. 3, p. 123-125, jun. 2015

REGER, Mark A. et al. Effects of β -hydroxybutyrate on cognition in memory-impaired adults. **Neurobiology Of Aging**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 311-314, mar. 2004

REISBERG, Barry et al. Memantine in Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 348, n. 14, p. 1333-1341, 3 abr. 2003.

RIJPMA, Anne et al. The medical food Souvenaid affects brain phospholipid metabolism in mild Alzheimer's disease: results from a randomized controlled trial. **Alzheimer'S Research & Therapy**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-11, 26 jul. 2017.

ROBINSON, N. Bryce et al. The current state of animal models in research: A review. **International Journal of Surgery**, v. 72, p. 9-13, 2019.

ROSENBROCK, Holger et al. The Novel Phosphodiesterase 9A Inhibitor BI 409306 Increases Cyclic Guanosine Monophosphate Levels in the Brain, Promotes Synaptic Plasticity, and Enhances Memory Function in Rodents. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 371, n. 3, p. 633-641, 2019.

RYCHTYK, Joanna et al. 5-HT₆ receptor agonist and antagonist improve memory impairments and hippocampal BDNF signaling alterations induced by MK-801. **Brain Research**, [S.L.], v. 1722, p. 146375, nov. 2019.

SABOGAL-GUÁQUETA, Angélica Maria et al. Effects of biflavonoids from *Garcinia madruno* on a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **Pharmacological Research**, [S.L.], v. 129, p. 128-138, mar. 2018.

SADHUKHAN, Pritam et al. Nutraceuticals: an emerging therapeutic approach against the pathogenesis of alzheimer's disease. **Pharmacological Research**, [S.L.], v. 129, p. 100-114, mar. 2018.

SAFDAR, Afifa et al. Goat milk enhances memory of d-galactose-induced aging rats. **Journal Of Traditional And Complementary Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 117-122, mar. 2021.

SALA-VILA, Aleix et al. Effect of a 2-year diet intervention with walnuts on cognitive decline. The Walnuts And Healthy Aging (WAHA) study: a randomized controlled trial. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, [S.L.], v. 111, n. 3, p. 590-600, 7 jan. 2020.

SHANNON, Harlan E.; LOVE, Patrick L.. Within-session repeated acquisition behavior in rats as a potential model of executive function. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 498, n. 1-3, p. 125-134, set. 2004.

SHIM, Yongsoo *et al.* A systematic review and meta-analysis of the clinical effects of Souvenaid in patients with Alzheimer's disease. **Asia Pac J Clin Nutr**, Seoul, v. 1, n. 30, p. 30-41, 2021.

SHINTO, Lynne et al. A Randomized Placebo-Controlled Pilot Trial of Omega-3 Fatty Acids and Alpha Lipoic Acid in Alzheimer's Disease. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 111-120, jan. 2014.

SHIRAISHI, Eri et al. The phosphodiesterase 10A selective inhibitor TAK-063 improves cognitive functions associated with schizophrenia in rodent models. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 356, n. 3, p. 587-595, 2016.

SILANIKOVE, N. et al. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, [S.L.], v. 89, n. 2-3, p. 110-124, abr. 2010.

SILVA, Grazielly de Jesus et al. Perfil de ácidos graxos e frações proteicas do leite de cabra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.L.], v. 70, n. 6, p. 338, 3 fev. 2015.

SNOWDEN, Stuart G. et al. Association between fatty acid metabolism in the brain and Alzheimer disease neuropathology and cognitive performance: a nontargeted metabolomic study. **Plos Medicine**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 1-19, 21 mar. 2017.

SOARES, Juliana K.B et al. Anxiety behavior is reduced, and physical growth is improved in the progeny of rat dams that consumed lipids from goat milk: an elevated plus maze analysis. **Neuroscience Letters**, [S.L.], v. 552, p. 25-29, set. 2013.

SOKOLOV, Yuri et al. Soluble Amyloid Oligomers Increase Bilayer Conductance by Altering Dielectric Structure. **Journal Of General Physiology**, [S.L.], v. 128, n. 6, p. 637-647, 13 nov. 2006.

STAVRINO, Pinelopi S. et al. The Effects of a 6-Month High Dose Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids and Antioxidant Vitamins Supplementation on Cognitive Function and Functional Capacity in Older Adults with Mild Cognitive Impairment. **Nutrients**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 325, 26 jan. 2020.

STAVROULAKI, Vasiliki; GIAKOUMAKI, Stella G.; SIDIROPOULOU, Kyriaki. Working memory training effects across the lifespan: Evidence from human and experimental animal studies. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 194, p. 111415, 2021.

SUL, Donggeun et al. Protective effect of caffeic acid against beta-amyloid-induced neurotoxicity by the inhibition of calcium influx and tau phosphorylation. **Life Sciences**, [S.L.], v. 84, n. 9-10, p. 257-262, fev. 2009.

SUN, Linfeng et al. Analysis of 138 pathogenic mutations in presenilin-1 on the in vitro production of A β 42 and A β 40 peptides by γ -secretase. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 114, n. 4, p. 476-485, 5 dez. 2016.

SVALBE, Baiba et al. Effects of the N-methyl-d-aspartate receptor antagonist, MK-801, on spatial memory and influence of the route of administration. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 372, p. 112067, out. 2019.

THIBAUT, Catherine Saint-Laurent et al. Cost-utility analysis of memantine extended release added to cholinesterase inhibitors compared to cholinesterase inhibitor monotherapy for the treatment of moderate-to-severe dementia of the Alzheimer's type in the US. **Journal Of Medical Economics**, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 930-943, 26 ago. 2015.

VAN WIJK, Nick et al. Targeting Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease by Administering a Specific Nutrient Combination. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 38, n. 3, p. 459-479, 25 nov. 2013.

VANMIERLO, Tim et al. Plant sterols: friend or foe in cns disorders?. **Progress In Lipid Research**, [S.L.], v. 58, p. 26-39, abr. 2015.

VERDIER, Yann; PENKE, Botond. Binding Sites of Amyloid β -Peptide in Cell Plasma Membrane and Implications for Alzheimers Disease. **Current Protein & Peptide Science**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 19-31, 1 fev. 2004.

WALKER, Douglas *et al.* Receptor for advanced glycation endproduct modulators: a new therapeutic target in Alzheimer's disease. **Expert Opinion On Investigational Drugs**, [S.L.], v. 24, n. 3, p. 393-399, 14 jan. 2015.

WANG, Bing et al. Dietary sialic acid supplementation improves learning and memory in piglets. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, [S.L.], v. 85, n. 2, p. 561-569, 1 fev. 2007.

WANG, Dongmei; MITCHELL, Ellen S.. Cognition and Synaptic-Plasticity Related Changes in Aged Rats Supplemented with 8- and 10-Carbon Medium Chain Triglycerides. **Plos One**, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 1-16, 12 ago. 2016.

WANG, Q.. Block of Long-Term Potentiation by Naturally Secreted and Synthetic Amyloid - Peptide in Hippocampal Slices Is Mediated via Activation of the Kinases c-Jun N-Terminal Kinase, Cyclin-Dependent Kinase 5, and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase as well as Metabotropic Glutamate Receptor Type 5. **Journal Of Neuroscience**, [S.L.], v. 24, n. 13, p. 3370-3378, 31 mar. 2004.

- WARD, Alex et al. Rate of Conversion from Prodromal Alzheimer's Disease to Alzheimer's Dementia: a systematic review of the literature. **Dementia And Geriatric Cognitive Disorders Extra**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 320-332, 2013.
- WARD, Roberta J et al. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 1045-1060, out. 2014.
- WIESMANN, Maximilian et al. Improved Spatial Learning Strategy and Memory in Aged Alzheimer A β PPswe/PS1dE9 Mice on a Multi-Nutrient Diet. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 233-245, 20 ago. 2013.
- WINTERS, Boyer D.; SAKSIDA, Lisa M.; BUSSEY, Timothy J. Implications of animal object memory research for human amnesia. **Neuropsychologia**, v. 48, n. 8, p. 2251-2261, 2010.
- WONG, Peiyan et al. The vulnerability of motor and frontal cortex-dependent behaviors in mice expressing ALS-linked mutation in TDP-43. **Neurobiology of Aging**, v. 92, p. 43-60, 2020.
- XIA, Weiming; MO, Huanbiao. Potential of tocotrienols in the prevention and therapy of Alzheimer's disease. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [S.L.], v. 31, p. 1-9, maio 2016.
- XU, Xiao-Yan *et al.* Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products in Alzheimer's disease. **International Journal Of Neuroscience**, [S.L.], v. 127, n. 5, p. 454-458, 21 jun. 2016.
- YAGUCHI, Takahiro et al. Linoleic acid derivative DCP-LA improves learning impairment in SAMP8. **Neuroreport**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 105-108, 23 jan. 2006.
- YAN, Riqiang; VASSAR, Robert. Targeting the β secretase BACE1 for Alzheimer's disease therapy. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 319-329, mar. 2014.
- YONELINAS, Andrew P.. The hippocampus supports high-resolution binding in the service of perception, working memory and long-term memory. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 254, p. 34-44, out. 2013.
- YOUN, Kumju et al. Oleic Acid and Linoleic Acid from *Tenebrio molitor* Larvae Inhibit BACE1 Activity in vitro: molecular docking studies. **Journal Of Medicinal Food**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 284-289, fev. 2014.
- ZEMANOVA, Anna et al. Visuospatial working memory is impaired in an animal model of schizophrenia induced by acute MK-801: an effect of pretraining. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 106, p. 117-123, 2013.
- ZHANG, Qin et al. Citalopram restores short-term memory deficit and non-cognitive behaviors in APP/PS1 mice while halting the advance of Alzheimer's disease-like pathology. **Neuropharmacology**, [S.L.], v. 131, p. 475-486, mar. 2018.

ZOKAEI, Nahid; HUSAIN, Masud. Working Memory in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. **Processes Of Visuospatial Attention And Working Memory**, [S.L.], p. 325-344, 2019.

ZOKAEI, Nahid et al. Different patterns of short-term memory deficit in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and subjective cognitive impairment. **Cortex**, [S.L.], v. 132, p. 41-50, nov. 2020.

ZOU, Juan et al. Neuroprotective effect of peptides extracted from walnut (*Juglans Sigilata* Dode) proteins on A β 25-35-induced memory impairment in mice. **Journal Of Huazhong University Of Science And Technology [Medical Sciences]**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 21-30, fev. 2016.

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



**Universidade
Federal da
Paraíba**



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DA *Juglans regia* (NOZ INGLESA) E DA NATA DO LEITE DE CABRA SOBRE A MEMÓRIA EM MODELO COMPORTAMENTAL MURINO", protocolada sob o CEUA nº 9709250222 (ID 001670), sob a responsabilidade de **Mirian G. S. Stiebbe Salvadori e equipe; Luanna Karen Chagas Fernandes** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 01/06/2022.

We certify that the proposal "RESEARCH OF THE EFFECT OF *Juglans regia* (WALNUT) AND GOAT MILK CREAM ON MEMORY IN A MURINE BEHAVIORAL MODEL", utilizing 144 Heterogenics mice (144 males), protocol number CEUA 9709250222 (ID 001670), under the responsibility of **Mirian G. S. Stiebbe Salvadori and team; Luanna Karen Chagas Fernandes** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 06/01/2022.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [07/2022](#) a [12/2023](#) Área: [Psicologia](#)

Origem:	Centro de Bioterismo da Universidade Estadual da Paraíba		
Espécie:	Camundongos heterogênicos	sexo:	Machos
Linhagem:	Mus musculus - Swiss	idade:	2 a 3 meses
		Peso:	20 a 30 g
Origem:	Labetox		
Espécie:	Camundongos heterogênicos	sexo:	Machos
Linhagem:	Mus musculus - Swiss	idade:	2 a 3 meses
		Peso:	20 a 30 g

Local do experimento: Laboratório de Psicofarmacologia - UFPB.

João Pessoa, 02 de junho de 2022

Profa. Dra. Adriana Maria Fernandes de Oliveira Golzio
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ivia Carmem Talieri
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba