

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

BRUNA MATIAS SCUCUGLIA

Efeito neuroprotetor do resveratrol (3,4',5-trihidroxi-estilbeno) sobre comportamentos do tipo depressivos em filhotes fêmeas de mães tratadas com antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente

Uberlândia

2024

BRUNA MATIAS SCUCUGLIA

Efeito neuroprotetor do resveratrol (3,4',5-trihidroxi-estilbeno) sobre comportamentos do tipo depressivos em filhotes fêmeas de mães tratadas com antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini

Uberlândia

2024

BRUNA MATIAS SCUCUGLIA

Efeito neuroprotetor do resveratrol (3,4',5-trihidroxi-estilbeno) sobre comportamentos do tipo depressivos em filhotes fêmeas de mães tratadas com antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia, 16 de abril de 2024

Banca Examinadora:

Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini – Professora do Magistério Superior (UFU)

Alexandre Antônio Vieira – Professor do Magistério Superior (UFU)

Érika Renata Barbosa Neiro – Professora do Magistério Superior (UFU)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Dr. Vanessa Spini, por ter me dado a oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa e me acolhido. Obrigada por sempre ter sido atenciosa, paciente e por confiar em mim. Sou imensamente grata por todos os ensinamentos, apoio e incentivos;

À Prof. Dr. Erika Neiro e ao Prof. Dr. Alexandre Vieira por aceitarem contribuir com este trabalho e por me inspirarem por meio de suas aulas a trilhar o campo de estudo em fisiologia humana;

Aos meus pais, Sandra e Marcos por sempre apoiarem minhas decisões e por todo suporte. Agradeço também aos meus avós, Maria e José, por todo carinho e auxílio que sempre tiveram comigo;

Aos meus amigos de curso da turma 88, Ana Beatriz, Gabriela, Gabriel, Geovanni, Lorena, Melissa, Otávio, Suzanne e Thamara que tornaram minha graduação mais leve e repleta de risadas;

Ao meu companheiro Gustavo, por sempre estar ao meu lado me encorajando e me apoiando;

À minhas amigas, Amanda, Bruna, Giuliana, Júlia, Lara, Marcela, Maria Cecília e Maria Paula que tive o prazer de me aproximar e conviver durante minha formação. Agradeço profundamente pelos conselhos, suporte e carinho;

Aos meus colegas de laboratório pelos ensinamentos e colaboração durante a execução desta pesquisa.

Aos camundongos que por meio de suas vidas, tornaram possível a realização deste trabalho.

RESUMO

Dentre os distúrbios mentais a depressão representa um transtorno frequente e um importante problema de saúde pública. Considerada uma doença multifatorial, sua etiologia pode estar associada a fatores genéticos, psicossociais e biológicos. Tendo em vista a complexidade dos processos que ocorrem na gestação, perturbações ambientais durante esse período podem ativar o sistema imunológico materno e provocar alterações neuropsiquiátricas nos descendentes. Entre os compostos naturais, o resveratrol se destaca como um coadjuvante promissor ao tratamento farmacológico clássico de doenças como a depressão, devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Dessa forma, este estudo teve o objetivo de investigar se a indução da ativação imunológica maternal provocada pelos antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente, causa alterações comportamentais do tipo depressivas na prole de camundongos fêmeas da linhagem Balb/C. Além disso, essa pesquisa buscou também avaliar o efeito neuroprotetor do resveratrol sob tais prejuízos comportamentais por meio dos testes Nado Forçado e Consumo de Sacarose. Para isso, os animais foram divididos em quatro grupos, sendo: Metil-PBS (filhotes provenientes de mães que receberam carboximetilcelulose 0,5%, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de PBS em E16); Metil-VAC (filhotes provenientes de mães que receberam carboximetilcelulose 0,5%, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de vacina influenza tetravalente em E16); RESV-PBS (filhotes provenientes de mães que receberam resveratrol, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de PBS em E16); RESV-VAC (filhotes provenientes de mães que receberam resveratrol, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de vacina influenza tetravalente em E16). Os resultados apresentados nesse estudo demonstraram que não houve diferença significativa entre os grupos de animais em relação ao tempo de imobilidade no teste de NF. Já em relação ao teste CS, observou-se um aumento pela preferência de sacarose pelos grupos Metil-VAC e RESV-VAC. Além disso, houve também um significativo aumento da preferência pela solução de sacarose pelo grupo VCC em relação ao grupo RESV. Houve também um significativo aumento da preferência pela solução de sacarose pelo grupo Metil-VAC em relação ao grupo RESV-PBS. Diante disso, podemos concluir que a exposição aos antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente não provocou alterações comportamentais do tipo depressivas na prole de fêmeas adultas, assim como o resveratrol não demonstrou efeito neuroprotetor sob as condições deste experimento.

Palavras-chave: imunoativação maternal; vacina influenza tetravalente; depressão; resveratrol; nado forçado; consumo de sacarose.

ABSTRACT

Among mental disorders, depression represents a frequent disorder and an important public health problem. Considered a multifactorial disease, its etiology may be associated with genetic, psychosocial and biological factors. Given the complexity of the processes that occur during pregnancy, environmental disturbances during this period can activate the maternal immune system and cause neuropsychiatric changes in the offspring. Among natural compounds, resveratrol stands out as a promising adjunct to the classic pharmacological treatment of diseases such as depression, due to its antioxidant and anti-inflammatory properties. Therefore, this study aimed to investigate whether the induction of maternal immune activation caused by antigens suspended in the tetravalent influenza vaccine causes depressive-like behavioral changes in the offspring of female mice of the Balb/C lineage. Furthermore, this research also sought to evaluate the neuroprotective effect of resveratrol on such behavioral impairments through the Forced Swim and Sucrose Consumption tests. For this, the animals were divided into four groups, as follows: Methyl-PBS (pups from mothers who received 0.5% carboxymethylcellulose, from E0 to E21 + 1 intramuscular injection of PBS at E16); Methyl-VAC (pups from mothers who received 0.5% carboxymethylcellulose, from E0 to E21 + 1 intramuscular injection of tetravalent influenza vaccine at E16); RESV-PBS (pups from mothers that received resveratrol, from E0 to E21 + 1 intramuscular injection of PBS at E16); RESV-VAC (pups from mothers who received resveratrol, from E0 to E21 + 1 intramuscular injection of tetravalent influenza vaccine at E16). The results presented in this study demonstrated that there was no significant difference between the groups of animals in relation to the immobility time in the NF test. Regarding the CS test, an increase in sucrose preference was observed in the Methyl-VAC and RESV-VAC groups. Furthermore, there was also a significant increase in preference for the sucrose solution by the VCC group compared to the RESV group. There was also a significant increase in preference for the sucrose solution by the Methyl-VAC group in relation to the RESV-PBS group. Given this, we can conclude that exposure to antigens suspended in the tetravalent influenza vaccine did not cause depressive-type behavioral changes in the offspring of adult females, just as resveratrol did not demonstrate a neuroprotective effect under the conditions of this experiment.

Keywords: maternal immunoactivation; tetravalent influenza vaccine; depression; resveratrol; forced swimming; sucrose consumption.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização das principais áreas envolvidas na modulação do humor.	10
Figura 2. Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em resposta ao estresse.....	11
Figura 3. Representação das possíveis rotas de colonização da microbiota materna para o bebê.....	13
Figura 4. Estrutura química do resveratrol trans (a) e cis (b).....	15
Figura 5. Linha de tempo experimental.....	17
Figura 6. Rolha vaginal.	18
Figura 7. Procedimento de gavagem.	19
Figura 8. Teste Nado forçado (NF).....	20
Figura 9. Teste consumo de sacarose (CS).	21
Figura 10. Tempo de imobilidade em segundos dos grupos experimentais.	22
Figura 11. Preferência pela sacarose 2% entre os grupos experimentais.	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADT	Antidepressivos Tricíclicos
AIM	Ativação imune maternal
AP-1	Proteína ativadora-1
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CS	Consumo de sacarose
DA	Dopamina
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GC	Glicocorticóides
HPA	Hipotálamo-pituitária-adrenal
iMAO	Inibidores da Monoaminoxidase
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
LPS	Lipopolissacarídeo
NA	Noradrenalina
NF	Nado forçado
NF- κ β	Fator nuclear kaapa β
OMS	Organização Mundial da Saúde
PGE2	Prostaglandina E2
Poly(I:C)	Ácido poliriboinosínico-poliribocítidílico
RSV	Resveratrol
SIRT	Sirtuínas
SNC	Sistema nervoso central
TDM	Transtorno depressivo maior
TEA	Transtorno do espectro autista
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
UFU	Universidade Federal de Uberlândia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Alterações anatomofuncionais na depressão	9
1.2 Ativação Imune Maternal	13
1.3 Vacina Influenza Tetraivalente	14
1.4 Resveratrol	14
2. JUSTIFICATIVA	16
3. OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo geral	16
3.2 Objetivos Específicos	17
4. METODOLOGIA	17
4.1 Animais	17
4.2 Acasalamento	18
4.3 Desmame dos filhotes	18
4.4 Delineamento Experimental	18
4.5 Testes Comportamentais	19
4.5.1 Nado forçado	20
4.5.2 Consumo de Sacarose	20
4.7 Eutanásia	21
4.8 Análise Estatística	22
5. RESULTADOS	22
5.1 Teste Nado Forçado	22
5.2 Teste Consumo de Sacarose	22
6. DISCUSSÃO	23
7. CONCLUSÃO	25
8. REFERÊNCIAS	26

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 1 bilhão de pessoas no mundo são acometidas por algum tipo de transtorno mental. Tais psicopatologias são responsáveis por desencadear prejuízos de âmbito social e por afetarem o bem-estar do indivíduo. Dentre esses distúrbios, destacam-se os transtornos ansiosos e depressivos que se acentuaram principalmente durante a pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2. Neste cenário, observou-se um aumento de 25% na prevalência dessas doenças, incidindo principalmente entre jovens e mulheres (World Health Organization, 2022).

Conforme o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), os sintomas característicos dos transtornos depressivos incluem o estado de humor deprimido e a perda de prazer ou interesse em atividades que normalmente seriam consideradas habituais. Esses sintomas podem ser acompanhados por alterações cognitivas, comportamentais e neurovegetativas que afetam significativamente a capacidade funcional do indivíduo. Além disso, os distúrbios de humor podem ser classificados em oito subtipos, sendo o transtorno depressivo maior (TDM) a condição mais recorrente (American Psychiatric Association, 2014).

Em geral, a depressão atinge aproximadamente 300 milhões de pessoas no mundo, sendo considerada uma das principais causas de incapacidade global e um importante problema de saúde pública (World Health Organization, 2017). Por se tratar de uma doença multifatorial, a etiologia da depressão envolve a interação de fatores genéticos, psicossociais e biológicos (Lafer, 1996). Em alguns casos, os transtornos depressivos podem estar associados também a altas taxas de mortalidade e representa no Brasil, a terceira principal causa de morte em indivíduos de 15 a 30 anos (Associação Brasileira de Psiquiatria, 2014).

1.1 Alterações anatomofuncionais na depressão

Atualmente, diferentes mecanismos celulares, químicos e endócrinos têm sido usados para explicar os processos neurobiológicos relacionados aos transtornos depressivos. No entanto, para além dessas vias, pesquisas também têm evidenciado uma associação entre os aspectos neuroanatômicos com a etiologia da depressão. Tais mudanças anatômicas são observadas em áreas do sistema límbico, conhecidas por serem fundamentais no processamento das emoções (Lima-Ojeda, et al., 2017).

Em relação às áreas límbicas, estudos de neuroimagem por ressonância magnética têm demonstrado que pacientes depressivos apresentam uma diminuição do tamanho do hipocampo

quando comparados a indivíduos não deprimidos (Oakes, et al., 2016). Assim, o hipocampo pode ser considerado uma área importante para a patogênese da depressão, atuando no processamento da aprendizagem e memória. Além do hipocampo, pesquisas também observaram entre indivíduos deprimidos uma redução do volume do córtex pré-frontal, que regula o pensamento e comportamento, e da amígdala, essencial no controle do humor e emoções (Wang, et al., 2022; Liu, et al., 2017).

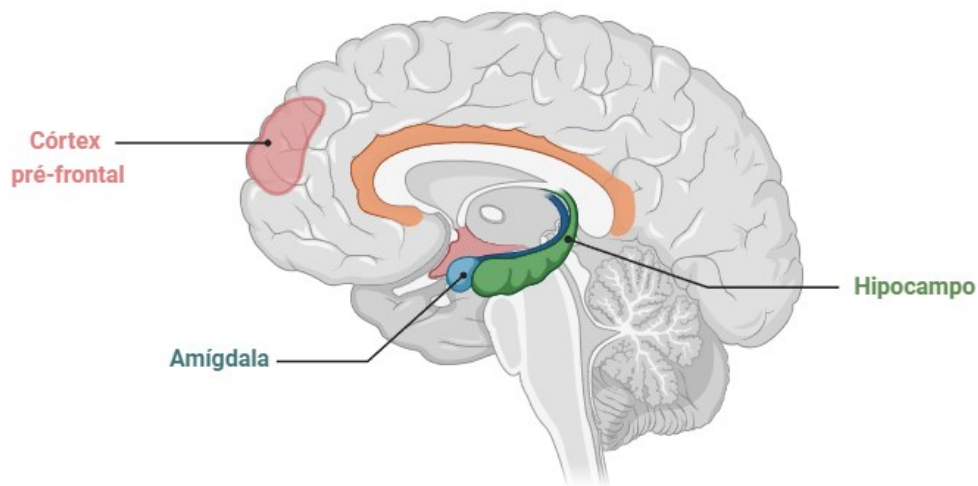


Figura 1. Localização das principais áreas envolvidas na modulação do humor.

Fonte: Elaborado pela autora através do Software Biorender.

Dentre as hipóteses que tentam explicar a neurobiologia da depressão, destaca-se a teoria monoaminérgica, associada à deficiência de neurotransmissores, tais como a serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e/ou dopamina (DA) na fenda sináptica. Essa teoria teve como base a observação dos mecanismos de ação dos primeiros fármacos antidepressivos como os inibidores da monoaminoxidase (IMAOs) e antidepressivos tricíclicos (ADTs) que atuavam inibindo a recaptação de neurotransmissores ou sua degradação. No entanto, outras vias também têm sido estudadas a fim de explicar a etiologia desse transtorno de humor (Vismari et al., 2008; Gupta & Mahesh, 2018).

Por outro lado, a hipótese neurotrófica também tem sido amplamente relacionada à fisiopatologia da depressão. De acordo com essa teoria, esse distúrbio de humor seria desencadeado pela redução dos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Carniel & da Rocha, 2021). Essa neurotrofina promove um importante papel no Sistema Nervoso Central (SNC), contribuindo para a neurogênese e sobrevivência neuronal, além de regular a plasticidade sináptica (Rana, et al., 2020). Entre os fatores que podem causar a redução

da expressão de BDNF, destaca-se a exposição ao estresse crônico ou agudo que podem colaborar para a atrofia e diminuição da neurogênese hipocampal, bem como para o aumento da morte neuronal (Galts, et al., 2019).

Já a hipótese neuroendócrina, sugere que a patogênese das perturbações do humor ocorreria em decorrência da hiperativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Essa desregulação do eixo HHA ocorre em resposta ao estresse, provocando a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) que estimula a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na hipófise anterior. Em consequência, o ACTH atua na síntese e liberação de glicocorticóides (GC), como o cortisol pela glândula adrenal (Li, et al., 2022). Sendo assim, o desequilíbrio do eixo HHA gera a liberação exacerbada de cortisol (hipercortisolemia) e pode favorecer o desenvolvimento de perturbações neuropsiquiátricas como a depressão (Ali & Nemeroff, 2020).

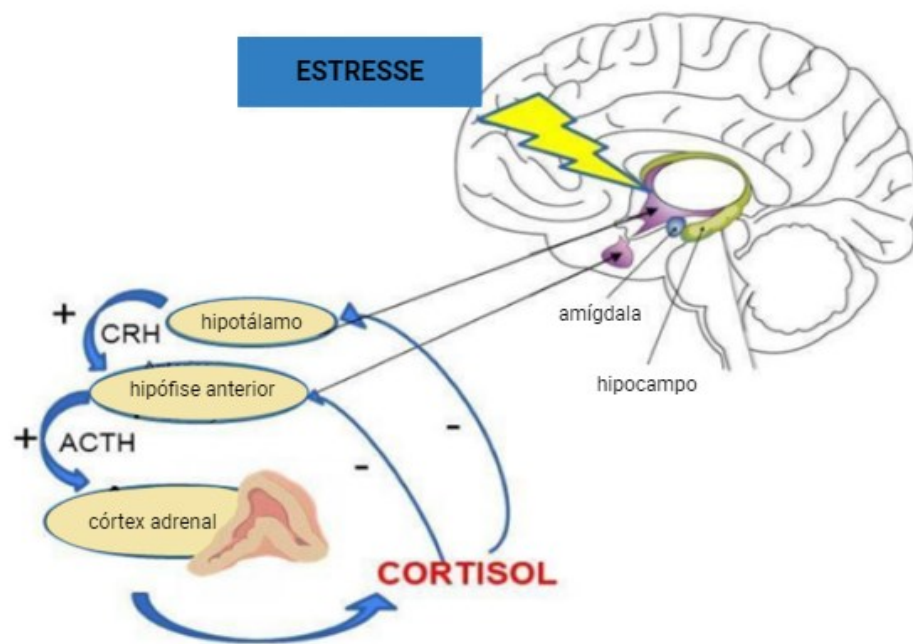


Figura 2. Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em resposta ao estresse.

Em condições normais, os níveis de glicocorticóides são regulados pelo eixo HHA, através de um mecanismo de feedback negativo. Entretanto, em condições de estresse, tal mecanismo é interrompido, o que leva a uma hipersecreção de glicocorticóides.

Fonte: Adaptado Mikulska, et al. (2021).

Evidências também sugerem que a produção exacerbada de radicais livres denominados, EROs (espécies reativas de oxigênio) e ERNs (espécies reativas de nitrogênio), está associada à patogênese de doenças neuropsiquiátricas (Pisoschi, et. al, 2021). Esses radicais livres são

formados por meio de processos metabólicos e em baixas concentrações desempenham importantes funções, pois participam de mecanismos de sinalização e resposta celular (Carocho & Ferreira, 2013; Valko, et al., 2006). No entanto, a produção excessiva dessas moléculas leva ao estresse oxidativo, ocasionando danos celulares e teciduais, o que contribui para a patogênese dos transtornos depressivos (Salim, 2017).

Em contrapartida, muito têm se discutido acerca da relação entre os processos neuroinflamatórios e a depressão (Shabab, et al., 2016). Tais processos inflamatórios podem ser desencadeados a partir de insultos físicos ou patogênicos e contribuir para a ativação microglial (Zhang, et al., 2010). No SNC, a microglia exerce uma importante função na reparação dos tecidos e defesa do organismo. Entretanto, ao serem ativadas, podem atuar na indução de mediadores pró-inflamatórios, como a interleucina-1 β (IL-1 β), prostaglandina E2 (PGE2) e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), além de estimular a expressão de enzimas como óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e a ciclo-oxigenase 2 (COX-2) que contribuem para a geração de espécies reativas (Huang, et al., 2021).

Outros estudos destacam a possível correlação entre o eixo cérebro-intestino e a etiologia da depressão, sugerindo que a disbiose, um desequilíbrio na microbiota intestinal, pode interferir na comunicação bidirecional entre o sistema digestivo e o SNC (Chang, et al., 2022). Essa interação entre o cérebro e intestino envolve vias metabólicas, endócrinas, neurais e imunológicas, se estabelecendo durante a vida intrauterina (Góralczyk-Bińkowska, et al., 2022). Nesse contexto, há fortes evidências de que o microbioma materno influencia diretamente a composição da microbiota do bebê (Figura 3) (Nyangahu & Jaspán, 2019). Porém, fatores como dieta, hábitos de vida, uso de antibióticos e a via de parto podem impactar a composição e diversidade da comunidade microbiana materna, bem como a infantil (Milani, et al., 2017).

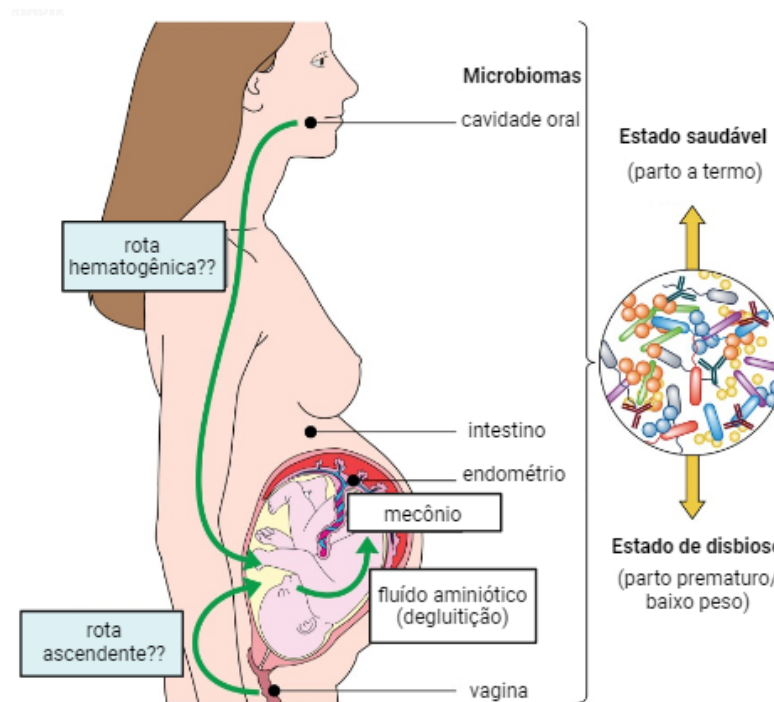


Figura 3. Representação das possíveis rotas de colonização da microbiota materna para o bebê.

Fonte: Adaptado Milani, et al. (2017).

1.2 Ativação Imune Maternal

Dada a complexidade dos processos que ocorrem no útero, perturbações ambientais durante o período pré-natal podem acarretar impactos duradouros na descendência. Nesse contexto, a ativação imune maternal (AIM) desencadeada por insultos imunogênicos virais ou bacterianos, está intimamente associada a alterações neuropsiquiátricas na prole (Meyer, 2019). Tais agentes infecciosos estimulam o aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-4, IL-5, IL-6 e $IFN\gamma$) no meio materno e consequentemente no fetal, interferindo assim, no refinamento de suas conexões sinápticas (Ozaki, et al., 2020 & Han, et al., 2021).

Modelos animais de imunização materna têm sido estudados a fim de compreender como os insultos imunogênicos são capazes de promover tais psicopatologias (Haddad, et al., 2020). Nesse contexto, uma grande variedade de imunógenos podem ser administrados experimentalmente para ativar o sistema imune materno, tais como o ácido poliribonucleotídico (Poly(I:C)) e o lipopolissacarídeo (LPS), responsáveis por desencadear efeitos virais e bacterianos respectivamente (Lu-Culligan & Iwasak, 2020).

Além de substâncias imunogênicas, patógenos vivos também podem ser usados como agentes indutores da AIM, como *Toxoplasma gondii*, vírus influenza e Citomegalovírus (Solek,

et al., 2017). Ainda, pesquisas em roedores têm demonstrado que os antígenos suspensos da vacina influenza trivalente (dados ainda não publicados), bem como o antígeno solúvel de *T. gondii* (STAg) poderiam desafiar o sistema imunológico materno, causando alterações comportamentais na prole em idade adulta do tipo ansiosos e depressivos, embora não causem a doença (Spini, et al., 2020).

1.3 Vacina Influenza Tetravalente

Estima-se que a cada ano 1 bilhão de pessoas no mundo são acometidas por infecções causadas pelo vírus da gripe (influenza), das quais 3 a 5 milhões são classificados como casos graves. Pacientes pertencentes ao grupo de risco, como idosos, mulheres grávidas, crianças e pessoas portadoras de doenças crônicas, podem ainda enfrentar uma gama de complicações que podem levar ao seu óbito. Diante disso, a vacinação representa um importante instrumento de saúde pública que permite a prevenção dos impactos causados pela doença (World Health Organization, 2019).

Em gestantes, o uso de vacinas contendo agentes atenuados são contraindicados, sendo administrados apenas em casos particulares. Nesse sentido, são recomendadas vacinas contendo organismos inativados, representando uma forma benéfica para incitar o sistema imunológico materno e proteger o feto/neonato, através da transferência transplacentária de anticorpos (Arora & Lakshmi, 2021). Dentre os imunizantes compostos por vírus não ativado, destaca-se a vacina influenza tetravalente, composta por quatro cepas virais, contendo dois subtipos do vírus Influenza A e dois subtipos do vírus Influenza B (Instituto Butantan, 2022).

De acordo com estudos epidemiológicos, a esquizofrenia e o transtorno do espectro autista (TEA) estão entre as perturbações mais frequentemente associadas a AIM. Entre os agentes imunogênicos, o Poly (I:C) e LPS são comumente usados experimentalmente para induzir a resposta imune materna, bem como investigar as alterações comportamentais na prole adulta (Bergdolt & Dunaevsky, 2018). Por outro lado, os efeitos da AIM induzida pelos antígenos suspensos da vacina influenza tetravalente e as possíveis correlações com os transtornos de humor na vida adulta ainda não foram totalmente elucidados.

1.4 Resveratrol

O tratamento medicamentoso e a psicoterapia representam as principais medidas terapêuticas usadas para controlar os sintomas dos distúrbios de humor (Wu, et al., 2022). Contudo, devido aos efeitos adversos, as taxas de adesão ao uso desses medicamentos muitas

vezes são baixas. Além disso, as terapias farmacológicas podem ter eficácia limitada, com poucos pacientes respondendo ao tratamento ou enfrentando um processo de melhora lento (Krystal, et al., 2019).

Diante disso, diversos compostos naturais vêm sendo estudados como coadjuvantes no tratamento e prevenção dos transtornos de humor, e entre eles, os polifenóis se destacam, pois desempenham importantes ações na manutenção e função do SNC (Chung et al., 2020; Krystal, et al., 2019). Dentre esses polifenóis, o resveratrol (RSV) (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) tem sido indicado como uma substância coadjuvante promissora para o tratamento de doenças neuropsiquiátricas, como a depressão, sendo observado efeitos positivos com a sua suplementação em doses diárias de 15 a 20mg (Leal, et al., 2017; Shayganfard, 2020).

O RSV pode ser encontrado em cerca de 72 espécies de plantas, incluindo amoras, amendoins, uvas e seus derivados. Trata-se de um composto produzido em resposta ao estresse, lesão, radiação UV ou infecção por patógenos. Estruturalmente, a substância apresenta isomeria geométrica de conformação “cis” e “trans” (Figura 4), sendo este último, considerado a forma biologicamente ativa associada aos efeitos terapêuticos, bem como altamente fotossensível (Meng, et al., 2021; Kiskova, et al., 2020; Shaito, et al., 2020).

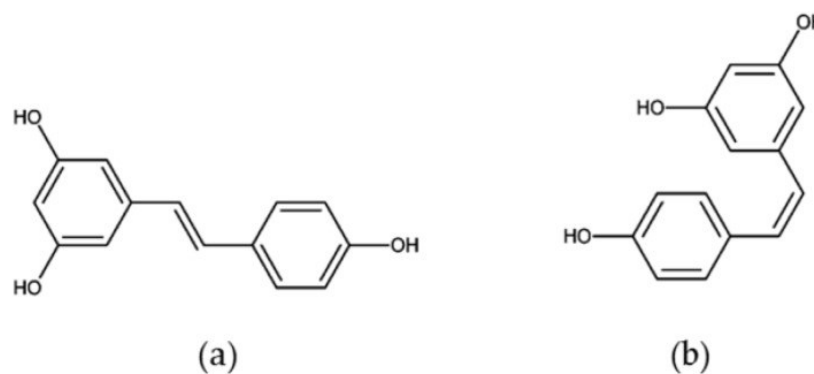


Figura 4. Estrutura química do resveratrol trans (a) e cis (b).

Fonte: Meng, et al., 2021.

O composto apresenta diferentes propriedades biológicas tal como cardioprotetoras, anticarcinogênicas, antibacterianas e antifúngicas (Alesci, et al., 2022; Vestergaard & Ingmer, 2019). Além das propriedades citadas, a substância demonstra um importante efeito neuroprotetor, decorrente de sua ação antioxidante e anti-inflamatória. Nesse contexto, o RSV atua na defesa contra a geração de EROs, além de modular a expressão de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase, glutatona peroxidase, catalase e heme oxigenase-1, responsáveis por manter a homeostase celular (Truong, 2018).

Da mesma forma, o RSV também demonstra a capacidade de proteger os neurônios hipocámpais contra danos oxidativos causados pelo óxido nítrico, bem como inibir a ação de enzimas associadas ao desequilíbrio oxidativo, como a quinona redutase 2 (Shayganfard, 2020). Adicionalmente, o composto exibe funções anti-inflamatórias, estimulando a ativação de sirtuínas (SIRT), especificamente a isoforma SIRT1, que atua na redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias através da inibição da via do fator nuclear kappa β (NF- $\kappa\beta$) e da proteína ativadora-1 (AP-1) (Moraes, et al., 2020; Manna, et al., 2000).

Ademais, o RSV também contribui para a diminuição da neuroinflamação, suprimindo a ativação microglial e modulando a expressão da atividade de COX-2 (Huang, 2020; Elshaer, et al., 2018). Além de tais funções, o composto pode ainda, desempenhar um papel como pré-biótico, inibindo a proliferação de bactérias nocivas como *Enterococcus faecalis* e estimulando o crescimento de bactérias benéficas pertencentes ao gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Chung, et al., 2020). Dessa forma, ao serem consumidos em quantidades adequadas, conferem uma série de benefícios ao organismo, de modo a contribuir para a saúde do trato gastrointestinal e assim fortalecendo o eixo intestino-cérebro (Zhou, et al., 2020).

2. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista que o estresse pré-natal vem sendo associado ao desenvolvimento de vários transtornos psiquiátricos, como os transtornos de humor, estudos nessa área podem auxiliar no desenvolvimento de estratégias terapêuticas capazes de minimizar os impactos neurológicos provenientes da ativação imune materna.

Ademais, dentre os possíveis avanços que tal estudo pode gerar, destaca-se o entendimento do papel do resveratrol, um composto fenólico presente principalmente na casca da uva roxa, como um composto coadjuvante potencialmente promissor para o tratamento e prevenção de comportamentos depressivos na prole, devido suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a hipótese de que a ativação imunológica materna induzida pelos antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente está associada ao desenvolvimento de alterações comportamentais da prole adulta do tipo depressivas e avaliar o efeito neuroprotetor do

resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) administrado durante a gestação contra tais prejuízos.

3.2 Objetivos Específicos

- Investigar se a exposição aos antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente em camundongos em idade gestacional E16 provoca alterações comportamentais na prole adulta do tipo depressivas por meio dos testes comportamentais nado forçado e consumo de sacarose.
- Avaliar a ação neuroprotetora do resveratrol administrado por gavagem durante a gestação, sob os comportamentos do tipo depressivos na prole de camundongos fêmeas em idade adulta.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram disponibilizados pela Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), camundongos da linhagem Balb/C, sendo um total de 12 machos e 24 fêmeas. Os animais foram alojados em caixas de polisulfona (31,6 x 21,5 x 20,7 cm) e mantidos em um regime de luz padrão (12h:12h, claro: escuro) com livre acesso à ração e água. Os procedimentos experimentais (Figura 5) foram realizados considerando o bem-estar dos animais com a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFU sob o protocolo 055/19.

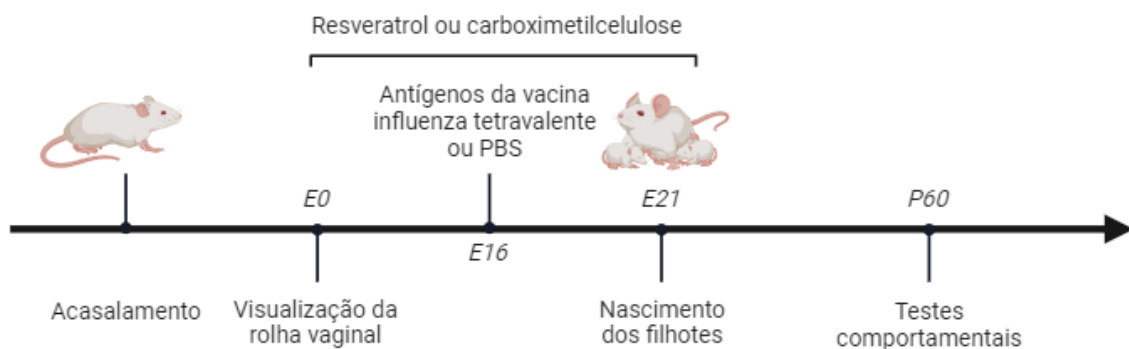


Figura 5. Linha de tempo experimental.

Fonte: Elaborado pela autora através do Software Biorender.

4.2 Acasalamento

Para obtenção dos filhotes, os camundongos foram colocados para acasalar, mantendo a proporção de duas fêmeas para um macho, observando diariamente a rolha vaginal (tampão vaginal formado pela mistura de secreção vaginal com sêmen) (Figura 6), sendo demarcado o dia de sua observação como o dia zero de gestação (E0).



Figura 6. Rolha vaginal.

Fonte: Imagem da autora.

4.3 Desmame dos filhotes

Os filhotes foram mantidos juntos à mãe para a amamentação e submetidos ao desmame após um período de 21 dias. Em seguida, realizou-se a sexagem de cada um dos grupos experimentais, sendo separados em machos e fêmeas, baseado na distância ano-genital (maior nos machos do que nas fêmeas). No entanto, para este estudo, foram utilizadas apenas as fêmeas, enquanto os filhotes machos oriundos dos tratamentos descritos acima, foram utilizados em outro projeto.

4.4 Delineamento Experimental

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, de acordo com o seguinte delineamento: Metil-PBS- fêmeas (n= 6) provenientes de mães que receberam carboximetilcelulose 0,5%, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de PBS em E16; Metil-VAC- fêmeas (n= 7) provenientes de mães que receberam carboximetilcelulose 0,5%, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de vacina da influenza tetravalente em E16; RESV-PBS- fêmeas (n= 8) provenientes de mães que receberam resveratrol, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de

PBS em E16; RESV-VAC- fêmeas (n= 6) provenientes de mães que receberam resveratrol, de E0 a E21 + 1 injeção intramuscular de vacina influenza tetravalente em E16.

O resveratrol ou a carboximetilcelulose 0,5% foram administrados durante a gestação uma vez ao dia, por gavagem (Figura 7), no volume de 100 μ L/g, sendo utilizado como veículo para a preparação do resveratrol (40 mg/kg) a carboximetilcelulose 0,5%. Já em E16 (período de potencial vulnerabilidade a desordens mediadas pela AIM), as fêmeas gestantes receberam via intramuscular os antígenos suspensos da vacina contra influenza tetravalente, Fluarix® Tetra (15 mcg/cepa/mL) ou PBS na concentração de 1mL/g por peso do animal.



Figura 7. Procedimento de gavagem.

Fonte: Imagem da autora.

4.5 Testes Comportamentais

Os testes comportamentais de NF e CS, usados para acessar comportamentos do tipo depressivos, foram realizados 60 dias após o nascimento da prole (P60) nas salas de comportamento animal da Rede de Biotérios da UFU. Além disso, para a realização das análises, os testes de nado forçado foram filmados.

4.5.1 Nado forçado

O Teste de Nado Forçado (NF) consiste em observar a imobilidade em roedores, o que corresponde a um estado de desespero comportamental (Yankelevitch-yahav et al., 2015). Para a realização do teste, os camundongos foram colocados em um recipiente cilíndrico (33 cm de diâmetro) (Figura 8) preenchido com uma coluna de água de 39 cm (25 - 27°C) e trocada entre cada animal. Os roedores foram colocados individualmente no recipiente e durante a fase de pré-teste foram mantidos em nado durante 15 minutos.

Na fase de teste, após um período de 24h, os camundongos foram colocados novamente no cilindro e seus comportamentos foram filmados por 5 minutos. Os vídeos foram analisados, buscando observar a imobilidade (quando o animal permanece flutuando, realizando movimentos apenas para manter sua cabeça acima da superfície). Além disso, após a exposição dos camundongos ao teste, eles foram secos com uma toalha antes de retornarem para suas caixas de criação.

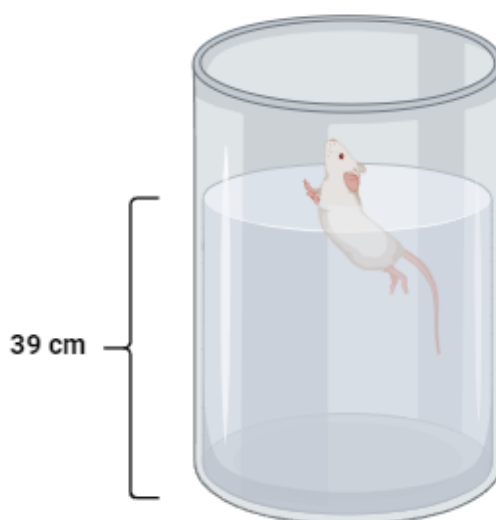


Figura 8. Teste Nado forçado (NF).

Fonte: Elaborado pela autora através do Software Biorender.

4.5.2 Consumo de Sacarose

O teste de consumo de sacarose (CS) (Figura 9) busca avaliar a anedonia em roedores (perda de interesse ou prazer), um comportamento indicativo de depressão, além de quantificar o percentual de consumo e preferência por sacarose (Primo et al., 2023). Durante o teste, os

animais foram acondicionados em caixas individuais em um período de quatro dias. No primeiro dia, foi oferecido aos camundongos um bebedouro contendo 300mL de solução sacarose 2% em água filtrada e, no dia seguinte, foram retirados, sendo ofertado apenas água pura por 24h. No terceiro dia, foram disponibilizados de forma simultânea dois bebedouros, um contendo 300mL de água e outro com 300mL de solução sacarose 2%. Para evitar um efeito de preferência por um dos lados da caixa, os bebedouros foram trocados de posição após um período de 2h e assim, no quarto dia, retirados e pesados.

Para avaliar o consumo de sacarose, calculou-se a diferença entre a quantidade disponibilizada e o total de líquido consumido. Os bebedouros foram pesados antes e depois de sua exposição aos camundongos, não sendo realizado a filmagem do teste.

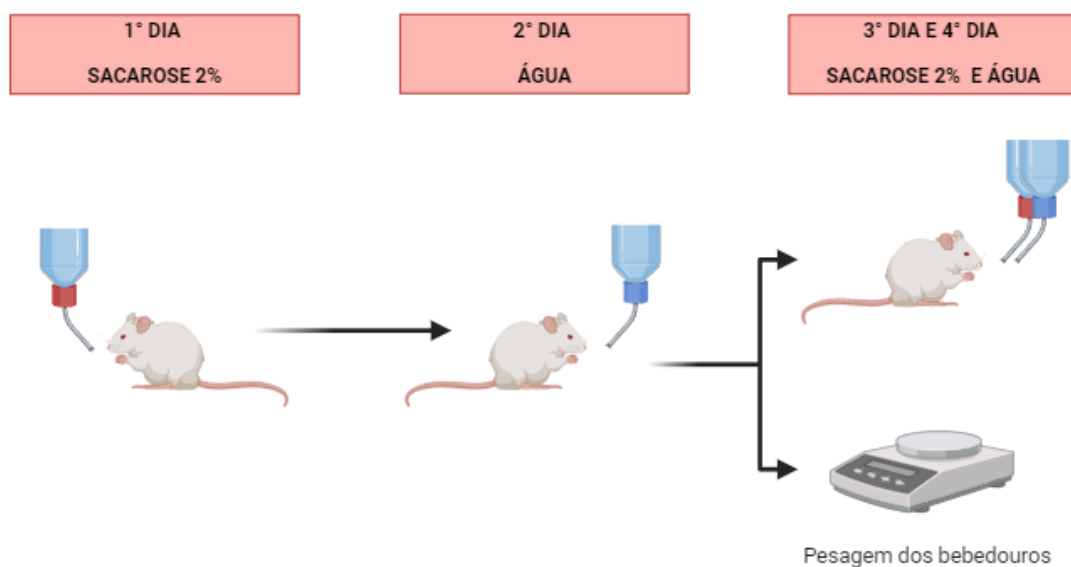


Figura 9. Teste consumo de sacarose (CS).

Fonte: Elaborado pela autora através do Software Biorender.

4.7 Eutanásia

Os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia, por administração via intraperitoneal de cetamina (0,20 ml) e xilazina (0,10 ml), seguida de deslocamento cervical. As mães foram eutanasiadas logo após o desmame, enquanto os filhotes foram eutanasiados após os testes comportamentais, garantindo o bem-estar animal.

4.8 Análise Estatística

Os resultados dos testes comportamentais foram expressos na forma de média \pm erro padrão da média (EPM) e analisados por ANOVA One-Way. Alterações significativas foram consideradas com $p < 0,05$ e quando ANOVA indicou diferenças significativas procedeu-se com o pós-teste de Newman Keuls para comparação entre os grupos de interesse.

5. RESULTADOS

5.1 Teste Nado Forçado

O teste NF demonstrou que não houve diferença em relação ao tempo de imobilidade significativa entre os grupos de animais (Metil-PBS: $49,62s \pm 7,60$; Metil-VAC: $40,78s \pm 3,36$; RESV-PBS: $31,62s \pm 3,66s$ e RESV-VAC: $32,91s \pm 4,06$), embora tenha sido observado um menor tempo de imobilidade nos grupos RESV-PBS e RESV-VAC (Figura 10).

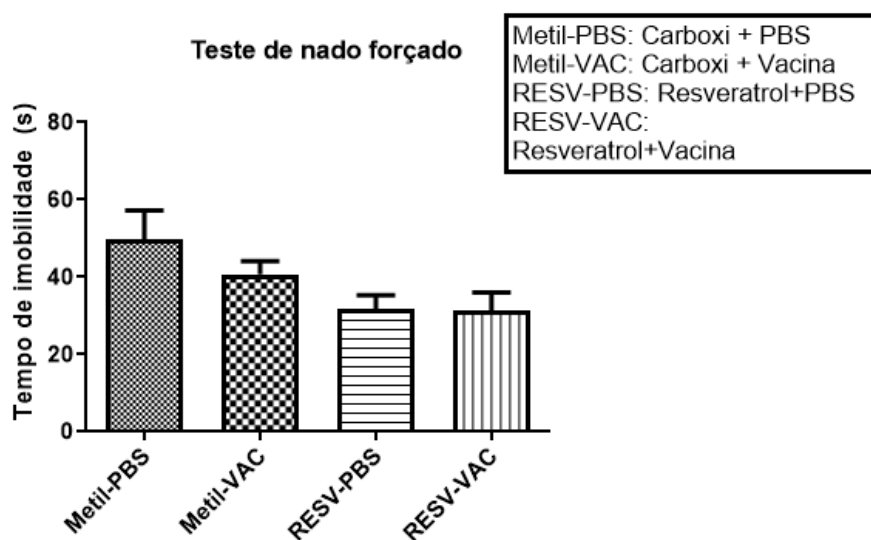


Figura 10. Tempo de imobilidade em segundos dos grupos experimentais.

Os dados foram expressos em média \pm EPM.

5.2 Teste Consumo de Sacarose

Em relação a preferência por sacarose, observou-se que os grupos Metil-VAC ($46,68g \pm 0,19$) e RESV-VAC ($44,91g \pm 0,71$) apresentaram uma maior preferência pela solução de sacarose em comparação com o grupo Metil-PBS ($42,00g \pm 0,08$), mostrando diferença significativa

($p < 0,05$). Por outro lado, houve também um significativo aumento pela preferência de sacarose pelo grupo Metil-VAC em relação ao grupo RESV-PBS ($43,63g \pm 0,82$) (Figura 11).

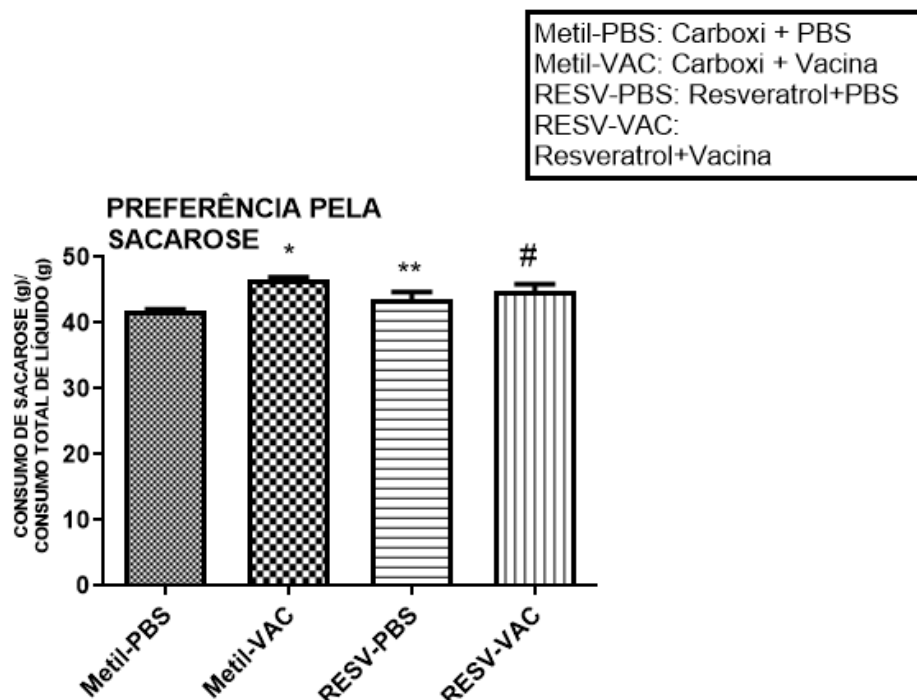


Figura 11. Preferência pela sacarose 2% entre os grupos experimentais.

Os dados foram expressos em média \pm EPM. Os asteriscos e hashtag representam os resultados que apresentaram diferença estatisticamente significativa, ($p < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

Neste trabalho os animais foram submetidos aos testes de NF e CS, buscando investigar se a exposição aos antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente predispõe a alterações comportamentais do tipo depressivas em camundongos fêmeas em idade adulta, além de avaliar a atividade neuroprotetora do RSV administrado por gavagem sob estes eventuais danos.

O teste de natação forçada representa um modelo muito usado para estudos de comportamentos do tipo depressivos em roedores, além de ser considerado uma importante ferramenta para a triagem de agentes antidepressivos (Ripoll, et al., 2003). No teste, os animais são colocados em um recipiente cilíndrico contendo água, onde são observados comportamentos passivos, como a imobilidade ou flutuação, bem como comportamentos ativos, como a natação. Assim, espera-se que a administração de compostos com atividade

antidepressiva diminua a duração de comportamentos passivos e aumentem a duração dos comportamentos ativos (Bogdanova, et al., 2013).

No presente estudo, esperávamos que o tratamento com antígenos suspensos na vacina tivesse um efeito de indução de comportamentos do tipo depressivos na prole, aumentando o tempo de imobilidade em Metil-VAC e que o tratamento das mães com resveratrol revertesse tais prejuízos, diminuindo o tempo de imobilidade em RESV-PBS e RESV-VAC. Em nossos resultados observamos de fato uma diminuição no tempo de imobilidade dos grupos RESV-PBS e RESV-VAC, mas a diferença não demonstrou ser estatisticamente significativa, assim como nos demais grupos.

Por outro lado, assim como o teste de natação forçada, o CS também é usado em modelos de depressão em roedores. O teste consiste na livre escolha dos animais entre dois bebedouros, um contendo água e outro contendo sacarose. Os roedores tendem a escolher naturalmente a solução de sacarose, no entanto, a redução do consumo por essa solução indica um estado de anedonia, o que pode ser interpretado como um comportamento do tipo depressivo (Hao, et al., 2019).

No CS, esperávamos que a prole proveniente de mães tratadas com os antígenos suspensos na vacina desenvolvessem comportamentos do tipo depressivos, apresentando uma menor ingestão por sacarose e que o resveratrol, devido seu efeito neuroprotetor, aumentasse essa preferência. No entanto, os resultados obtidos neste trabalho não demonstraram tais efeitos, embora em experimentos anteriores do nosso grupo de pesquisa (dados ainda não publicados) terem observado resultados favoráveis com o uso do RSV (via intradérmica) e com o uso dos antígenos na vacina.

Estudos prévios em nosso grupo, demonstraram que a administração dos antígenos presentes na vacina durante a gestação foi capaz de desencadear comportamentos do tipo ansiosos e depressivos em uma prole de machos da linhagem Balb/C através dos testes de NF e labirinto em cruz elevado (Spini, et al., 2020). De maneira similar, usando outro tipo de insulto imunológico, Depino (2015) constatou por meio dos testes de NF e de suspensão da cauda que a exposição pré-natal ao LPS em E9 promoveu efeitos semelhantes à ansiedade e depressão em camundongos machos da linhagem C57BL/6.

Por outro lado, diversos trabalhos têm verificado a ação do RSV nos comportamentos do tipo depressivos em roedores submetidos ao protocolo de indução do estresse crônico imprevisível e moderado (ECMI). Estudos de Liu e colaboradores (2014), demonstram que a exposição ao ECMI induziu comportamentos semelhantes à depressão em ratos machos da linhagem Wistar, além de promover a hiperatividade do eixo HHA, bem como a diminuição

dos níveis de BDNF na amígdala e hipocampo. Dessa maneira, a administração intraperitoneal de RSV reverteu as anormalidades associadas à depressão, diminuindo o tempo de imobilidade e aumentando a ingestão de sacarose por esses animais.

No trabalho realizado por Gu et al. (2019), fêmeas de camundongos C57BL/6 expostas ao ECMI, exibiram comportamentos do tipo depressivos, manifestados por meio do aumento no tempo de imobilidade e redução da preferência por sacarose. Adicionalmente, observou-se baixos níveis de DA e 5-HT no córtex pré-frontal desses animais quando comparados aos camundongos não expostos ao estresse. Dessa forma, o tratamento crônico com RSV via subcutânea demonstrou por meio dos testes comportamentais melhorar os prejuízos observados.

Neste experimento, administramos o RSV ou a carboximetilcelulose por gavagem, durante 21 dias, o que pode ter influenciado nos resultados observados, sendo uma fonte de estresse aos animais. Além disso, em experimentos anteriores, o RSV usado teria sido fornecido pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) com atividade antioxidante comprovada pelos testes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) e FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Entretanto, no presente estudo, optamos por usar o RSV manipulado pela farmácia Biopharma, situada em Uberlândia, não passando pelos testes mencionados.

Ademais, outro fator que pode ter influenciado nos resultados obtidos seria a fase do ciclo estral em que as fêmeas submetidas aos testes se encontravam. De acordo com Meziane et al. (2007), as flutuações hormonais que ocorrem durante as quatro fases do ciclo estral (proestro, estro, metaestro e diestro) podem impactar os comportamentos dos roedores e em consequência, interferir na interpretação dos resultados experimentais. Contudo, como uma das etapas do protocolo histológico para estadiamento do ciclo estral ficou comprometida em nossos experimentos, os resultados não puderam ser comparados entre os grupos, não sendo usado em nossas análises.

7. CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, podemos concluir que, sob as condições experimentais do atual estudo, a exposição aos antígenos suspensos na vacina influenza tetravalente de mães tratadas em E16 não provocou alterações comportamentais do tipo depressivas na prole de fêmeas adultas. Além disso, o resveratrol administrado via gavagem às fêmeas gestantes de E0 a E21 não demonstrou efeito neuroprotetor.

8. REFERÊNCIAS

- Alesci, A., Nicosia, N., Fumia, A., Giorgianni, F., Santini A., & Cicero, N. **Resveratrol and Immune Cells: A Link to Improve Human Health**. *Molecules*, 27(2):424, 2022.
- Ali, F., & Nemeroff, C. B. **Neuroendocrine Alterations in Major Depressive Disorder**. *Major Depressive Disorder*, 63–74, 2020.
- American Psychiatry Association. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais - DSM-V**. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- Arora, M., & Lakshmi, R. **Vaccines - safety in pregnancy**. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 76:23-40, 2021.
- Associação Brasileira De Psiquiatria. **Suicídio: informando para prevenir**, 2014.
- Bergdolt, L., & Dunaevsky, A. **Brain changes in a maternal Immune activation model of neurodevelopmental brain disorders**. *Progress in Neurobiology*, 2018.
- Bogdanova, O. V., Kanekar, S., D'Anci, K. E., & Renshaw, P. F. **Factors influencing behavior in the forced swim test**. *Physiology & Behavior*, 118(), 227–239, 2013.
- Carniel, B. P., & da Rocha, N. S. **Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inflammatory markers: Perspectives for the management of depression**. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 108:110151, 2021.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. **A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives**. *Food Chem Toxicol*, 51:15-25, 2013.
- Chang, L., Wei, Y., & Hashimoto, K. **Brain-gut-microbiota axis in depression: A historical overview and future directions**. *Brain Res Bull*, 182:44-56, 2022.
- Chung, J. Y., Jeong, J.-H., & Song, J. **Resveratrol Modulates the Gut-Brain Axis: Focus on Glucagon-Like Peptide-1, 5-HT, and Gut Microbiota**. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 2020.
- Depino, A. M. **Early prenatal exposure to LPS results in anxiety- and depression-related behaviors in adulthood**. *Neuroscience*, 2015.
- Elshaer, M., Chen, Y., Wang, X. J., & Tang, X. **Resveratrol: An overview of its anti-cancer mechanisms**. *Life Sci*: 15;207:340-349, 2018.
- Galts, C. P. C., Bettio, L. E. B., Jewett, D. C., Yang, C. C., Brocardo, P. S., Rodrigues, A. L. S., Thacker, J. S., & Gil-Mohapel, J. **Depression in neurodegenerative diseases: Common mechanisms and current treatment options**. *Neurosci Biobehav*, 102:56-84, 2019.
- Góralczyk-Bińkowska, A., Szmajda-Krygier, D., & Kozłowska, E. **The Microbiota–Gut–Brain Axis in Psychiatric Disorders**. *International Journal of Molecular Sciences*; 23(19):11245, 2022.

Gu, Z., Chu, L., & Han, Y. **Therapeutic effect of resveratrol on mice with depression.** *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2019.

Gupta, D., & Mahesh, R. **Antidepressant Therapy for Depression: An Update.** In: Kim, YK. (eds) *Understanding Depression*. Springer, Singapore, 2018.

Haddad, F. L., Patel, S. V., & Schmid, S. **Maternal Immune Activation by Poly I:C as a preclinical Model for Neurodevelopmental Disorders: A focus on Autism and Schizophrenia.** *Neurosci Biobehav*, 113:546-567, 2020.

Han, V. X., Patel, S., Jones, H. F., & Dale, R. C. **Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders.** *Nature Reviews Neurology*, 17(9), 564–579, 2021.

Hao, Y., Ge, H., Sun, Me., & Gao, Y. **Selecting an Appropriate Animal Model of Depression.** *International Journal of Molecular Sciences*, 4827, 2019.

Huang, J., Huang N., Xu, S., Luo, Y., Li, Y., Jin, H., Yu, C., Shi, J., & Jin F. **Signaling mechanisms underlying inhibition of neuroinflammation by resveratrol in neurodegenerative diseases.** *J Nutr Biochem*, 88:108552, 2021.

Instituto Butantan. **Vacina Influenza Tetravalente (fragmentada e inativada)**, 2022.

Kiskova, T., Kubatka, P., Büsselberg, D., & Kassayova, M. **The Plant-Derived Compound Resveratrol in Brain Cancer: A Review.** *Biomolecules*: 10, 161, 2020.

Krystal, J. H., Abdallah, C. G., Sanacora, G., Charney, D. S., & Duman, R. S. **Ketamine: A Paradigm Shift for Depression Research and Treatment.** *Neuron*, 101(5):774-778, 2019.

Lafer, B. **Transtornos do humor.** In: ALMEIDA, O. P. *Manual de psiquiatria*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

Leal, J. B., Carvalho, F. O., Gonçalves, D. C., Leal, J. B., SILVA, G. C. L., Carnevali Junior, L. C., Hoefel, A. L. **Resveratrol: composição química e seus benefícios à saúde.** *Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, v. 11, p. 620-629, 2017.

Li. B., Yang, W., Ge, T., Wang, Y., & Cui, R. **Stress induced microglial activation contributes to depression.** *Pharmacol*; 179:106145, 2022.

Lima-Ojeda, J. M., Rupprecht, R., & Baghai, T. C. **Neurobiology of depression: A neurodevelopmental approach.** *The World Journal of Biological Psychiatry*, 19(5), 349–359, 2017.

Liu, D., Xie, K., Yang, X., Gu, J., Ge, L., Wang, X., & Wang, Z. **Resveratrol reverses the effects of chronic unpredictable mild stress on behavior, serum corticosterone levels and BDNF expression in rats.** *Behavioural Brain Research*, 264, 9–16, 2014.

Liu, W., Ge, T., Leng, Y., Pan, Z., Fan, J., Yang, W., & Cui, R. **The Role of Neural Plasticity in Depression: From Hippocampus to Prefrontal Cortex.** *Neural Plasticity*, 1- 11, 2017.

Lu-Culligan, A. & Iwasaki, A. **The Role of Immune Factors in Shaping Fetal Neurodevelopment.** *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 36(1), annurev-cellbio-021120-033518-, 2020.

Manna, S. K., Mukhopadhyay, A., & Aggarwal, B. B. **Resveratrol Suppresses TNF-Induced Activation of Nuclear Transcription Factors NF- B, Activator Protein-1, and Apoptosis: Potential Role of Reactive Oxygen Intermediates and Lipid Peroxidation.** *The Journal of Immunology*, 164(12), 6509–6519, 2000.

Meng, T., Xiao, D., Muhammed, A., Deng, J., Chen, L., & He, J. **Anti-Inflammatory Action and Mechanisms of Resveratrol.** *Molecules*, v. 26 n. 1, p. 229, 2021.

Meyer, U. **Neurodevelopmental Resilience and Susceptibility to Maternal Immune Activation.** *Trends in Neurosciences*, 2019.

Meziane, H., Ouagazzal, A.-M., Aubert, L., Wietrzyk, M., & Krezel, W. **Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: implications for phenotyping strategies.** *Genes, Brain and Behavior*, 6(2), 192–200, 2007.

Mikulska, J., Juszczak G., Gawrońska-Grzywacz, M., & Herbet, M. **HPA Axis in the Pathomechanism of Depression and Schizophrenia: New Therapeutic Strategies Based on Its Participation.** *Brain Sciences*: 11(10):1298, 2021.

Milani, C., Duranti S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado, Palacio, S., Arbolea, M. S., Mancabelli, L., Lugli G. A., Rodriguez, J. M., Bode, L., de Vos, W., Gueimonde, M., Margolles, A., Van Sinderen, D., & Ventura, M. **The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota.** *Microbiol Mol Biol*, 8;81(4):e00036-17, 2017.

Moraes, D. S., Moreira, D. C., Andrade, J. M. O., & Santos, S. H. S. **Sirtuins, brain and cognition: A review of resveratrol effects.** *IBRO Reports*, 9, 46–51, 2020.

Nyangahu, Donald D., & Jaspán, H. B. **Influence of maternal microbiota during pregnancy on infant immunity.** *Clinical & Experimental Immunology*, ce.13331, 2019.

Oakes, P., Loukas, M., Oskouian, R. J., & Tubbs, R. S. **The neuroanatomy of depression: A review.** *Clinical Anatomy*, 30(1), 44–49, 2016.

Ozaki, K., Kato, D., Ikegami, A., Hashimoto, A., Sugio, S., Guo, Z., & Wake, H. **Maternal immune activation induces sustained changes in fetal microglia motility.** *Scientific Reports*, 10(1), 2020.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. **Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status.** *Eur J Med Chem*, 1;209:112891, 2021.

Primo, M. J., Fonseca-Rodrigues, D., Almeida, A., Teixeira, P. M., Pinto-Ribeiro, F. **Sucrose preference test: A systematic review of protocols for the assessment of anhedonia in rodents.** *Eur Neuropsychopharmacol*, 2023.

Rana, T., Behl, T., Sehgal, A., Srivastava, P., & Bungau, S. **Unfolding the Role of BDNF as a Biomarker for Treatment of Depression.** *Journal of Molecular Neuroscience*, 2020.

Ripoll, N., David, D. J., Dailly, E., Hascoët, & M., Bourin, M. **Antidepressant-like effects in various mice strains in the forced swimming test.** *166(4)*, 373–382, 2003.

Salim S. **Oxidative Stress and the Central Nervous System.** *J Pharmacol Exp Ther.* Jan;360(1):201-205, 2017.

Shabab, T., Khanabdali, R., Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., & Mohan, G. **Neuroinflammation pathways: a general review.** *International Journal of Neuroscience*, 127(7), 624–633, 2016.

Shaito, A., Posadino, A.M.; Younes, N.; Hasan, H.; Halabi, S., Alhababi, D., Al-Mohannadi, A., Abdel-Rahman, W. M., Eid, A. H., Nasrallah, G. K., et al. **Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review.** *Int. J. Mol. Sci*, 21, 2084, 2020.

Shayganfard, M. **Molecular and biological functions of resveratrol in psychiatric disorders: a review of recent evidence.** *Cell Biosci* 10, 128, 2020.

Solek, C. M., Farooqi, N., Verly, M., Lim, T. K., & Ruthazer, E. S. **Maternal immune activation in neurodevelopmental disorders.** *Developmental Dynamics*, 247(4), 588–619, 2017.

Spini, V. B. M. G., Ferreira, F. R., Gomes, A. O., Duarte, R. M. F., Oliveira, V. H. S., Costa, N. B., & Ribeiro-Barbosa, E. R. **Maternal Immune Activation with H1N1 or *Toxoplasma gondii* Antigens Induces Behavioral Impairments Associated with Mood Disorders in Rodents.** *Neuropsychobiology*, 1–8, 2020.

Truong, V. L., Jun, M., & Jeong, W. S. **Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress.** *Biofactors.* Jan;44(1):36-49, 2018.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. **Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.** *Chem Biol Interact*, 10;160(1):1-40, 2006.

Vestergaard, M., & Ingmer, H. **Antibacterial and antifungal properties of resveratrol.** *Int J Antimicrob Agents*,53(6):716-723, 2019.

Vismari, L., Alves, G. J., & Palermo-Neto, J. **Depression, antidepressants and immune system: a new look to an old problem.** *Archives of Clinical Psychiatry*, 35(5), 196-204, 2008.

Wang, Y. B., Song, N. N., Ding, Y. Q., & Zhang L. **Neural plasticity and depression treatment.** *IBRO Neurosci* 14:160-184, 2022.

World Health Organization. **Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates.** Geneva: WHO, 2017.

World Health Organization. **Global influenza strategy 2019-2030**. World Health Organization: Geneva, 2019.

World Health Organization. **World mental health report: transforming mental health for all**. Geneva: World Health Organization, 2022.

Wu, S. X., Li, J., Zhou, D. D., Xiong, R.-G., Huang, S.-Y.; Saimaiti, A., Shang, A., Li, H.-B. **Possible Effects and Mechanisms of Dietary Natural Products and Nutrients on Depression and Anxiety: A Narrative Review**. *Antioxidants*, 11, 2132, 2022.

Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A., & Doron, R. **The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior**. *Journal of Visualized Experiments*, (97), 2015.

Zhang, F., Liu, J., & Shi, J.-S. **Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: Role of resveratrol in microglial activation**. *European Journal of Pharmacology*, 636(1-3), 1–7, 2010.

Zhou, N., Gu, X., Zhuang, T., Xu, Y., Yang, L., & Zhou, M. **Gut Microbiota: A Pivotal Hub for Polyphenols as Antidepressants**. *J Agric Food Che*, 68(22):6007-6020, 2020.