

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIA DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

SILVANA FONTANELLA RODRIGUES

**O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O
PERÍODO GESTACIONAL NA PROTEÇÃO DO DESENVOLVIMENTO
DE ESQUIZOFRENIA NA PROLE ADULTA**

CRICIÚMA

2024

SILVANA FONTANELLA RODRIGUES

O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL NA PROTEÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE ESQUIZOFRENIA NA PROLE ADULTA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência da Saúde para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde

Orientadora: Prof^ª Dr^ª: Alexandra Loppi Zugno

CRICIÚMA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R696e Rodrigues, Silvana Fontanella.

O efeito da suplementação de ácido fólico durante o período gestacional na proteção do desenvolvimento de esquizofrenia na prole adulta / Silvana Fontanella Rodrigues. - 2024.

70 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2024.

Orientação: Alexandra Loppi Zugno.

1. Ácido fólico - Efeito fisiológico. 2. Ácido fólico - Gravidez. 3. Desenvolvimento fetal. 4. Esquizofrenia - Prevenção. 5. Nutrição materna. I. Título.

CDD. 22. ed. 615.1

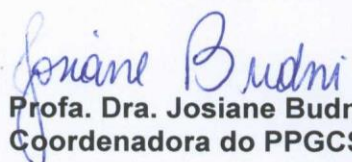
Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC




UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – N° 462

Com início às 17 (dezesete) horas do dia 25 (vinte e cinco) de fevereiro de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, no bloco XXI A, sala 006, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **SILVANA FONTANELLA RODRIGUES**, sob a orientação da **Profa. Dra. Alexandra Ioppi Zugno**, intitulada “O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL NA PROTEÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE ESQUIZOFRENIA NA PROLE ADULTA”. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Eduardo Pacheco Rico (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada, Profa. Dra. Josiane Budni (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada, e Profa. Dra. Cristiane Damiani Tomasi (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada. Com o resultado final: APROVADA, a aluna finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 19h (dezenove) horas, dos quais eu, Samiris Albano Pereira, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 25 (vinte e cinco) de fevereiro de 2025 (dois mil e vinte e cinco).


Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Samiris Albano Pereira
Secretária do PPGCS

Dedico este trabalho ao meu marido, pelo apoio incondicional, paciência e incentivo em cada etapa dessa jornada. Agradeço por estar ao meu lado, acreditando em mim e compartilhando cada conquista.

Aos meus pais, pela base sólida de amor, educação e valores que me guiaram até aqui. Este trabalho é reflexo de tudo o que aprendi com vocês, e sou eternamente grata por tudo que fizeram por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao meu marido, pelo apoio incondicional, pela paciência e por estar ao meu lado em todos os momentos, especialmente nos mais desafiadores. Aos meus pais, pela base sólida de amor, valores e incentivo que sempre me proporcionaram, tornando possível cada conquista da minha vida.

À minha orientadora, pelo comprometimento, dedicação e por compartilhar seu conhecimento de forma tão generosa, guiando-me com sabedoria ao longo deste processo. À Lara e aos demais pesquisadores envolvidos, pelo trabalho conjunto, pelas contribuições e pelo apoio ao desenvolvimento deste estudo.

À Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) e ao Programa de Pós-Graduação, por oferecerem a estrutura necessária e o suporte indispensável para a realização desta pesquisa. Agradeço, também, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade. Cada palavra aqui escrita é fruto de um esforço coletivo que levo comigo com imensa gratidão.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida durante todo o período de mestrado.

"A ciência é construída com fatos, assim como uma casa é construída com pedras; mas uma coleção de fatos não é ciência, do mesmo modo que um montão de pedras não é uma casa."

Jules Henri Poincaré, 1902

RESUMO

A esquizofrenia, um transtorno neuropsiquiátrico complexo, tem sido associada a fatores genéticos e ambientais, incluindo a deficiência de ácido fólico (AF) durante a gestação. O presente estudo investigou os efeitos da suplementação materna de AF na prevenção de alterações comportamentais e bioquímicas associadas ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Poly(I:C), um análogo de RNA viral. Foram utilizados a prole de 48 ratas Wistar, divididas em grupos suplementados com AF nas doses de 5 mg/kg e 10 mg/kg, e controle, durante os períodos de concepção, gestação e lactação. A prole foi submetida a testes comportamentais, incluindo atividade locomotora, interação social e esquivas inibitórias, e análises bioquímicas, de níveis de neurotrofinas no hipocampo. Os resultados comportamentais mostraram que a suplementação com 5 mg/kg de AF foi mais eficaz na preservação de parâmetros relacionados à memória e interação social, enquanto a dose de 10 mg/kg apresentou variações menos consistentes. Os níveis de neurotrofinas, como BDNF e GDNF, foram preservados em grupos suplementados, indicando um efeito neuroprotetor do AF contra os danos associados à ativação imunológica materna. Em contrapartida, doses mais altas de AF demonstraram impacto limitado ou até mesmo adverso em alguns parâmetros avaliados, reforçando a necessidade de estratégias personalizadas de suplementação. A análise bioquímica revelou que o AF modulou positivamente a expressão de proteínas e a homeostase neuroquímica, atenuando desequilíbrios inflamatórios e oxidativos no cérebro. Esses achados corroboram a hipótese de que o AF exerce um papel crucial na proteção do neurodesenvolvimento em contextos de estresse ambiental. No entanto, os resultados também sugerem que a sensibilidade dose-dependente deve ser considerada na aplicação prática da suplementação de AF como estratégia preventiva. Este estudo contribui para a compreensão dos mecanismos que ligam a suplementação de AF à proteção contra a esquizofrenia, destacando seu potencial no desenvolvimento de intervenções terapêuticas e preventivas. As implicações desses resultados podem direcionar políticas públicas e abordagens personalizadas para promover a saúde materno-infantil, considerando a relevância de uma suplementação adequada e equilibrada.

Palavras-chave: Ácido fólico. Desenvolvimento fetal. Esquizofrenia. Gestação. Nutrição materna.

ABSTRACT

Schizophrenia, a complex neuropsychiatric disorder, has been associated with genetic and environmental factors, including folic acid (FA) deficiency during pregnancy. This study investigated the effects of maternal FA supplementation in preventing behavioral and biochemical alterations associated with the Poly(I:C)-induced schizophrenia animal model, a viral RNA analog. The offspring of 48 Wistar rats were divided into supplemented groups receiving FA supplementation at doses of 5 mg/kg and 10 mg/kg, as well as a control group, throughout the preconception, gestation, and lactation periods. The offspring underwent behavioral tests, including locomotor activity, social interaction, and inhibitory avoidance, as well as biochemical analyses focusing on protein parameters and neurotrophin levels in the hippocampus. Behavioral results demonstrated that the 5 mg/kg FA dose was more effective in preserving parameters related to memory and social interaction, whereas the 10 mg/kg dose showed less consistent variations. Neurotrophin levels, such as BDNF and GDNF, were preserved in the supplemented groups, indicating a neuroprotective effect of FA against the damage associated with maternal immune activation. Conversely, higher doses of FA showed limited or even adverse impacts on certain evaluated parameters, reinforcing the need for personalized supplementation strategies. Biochemical analysis revealed that FA positively modulated protein expression and neurochemical homeostasis, attenuating inflammatory and oxidative imbalances in the brain. These findings support the hypothesis that FA plays a crucial role in protecting neurodevelopment under environmental and inflammatory stress. However, the results also suggest that dose-dependent sensitivity must be considered when applying FA supplementation as a preventive strategy. This study contributes to understanding the mechanisms linking FA supplementation to schizophrenia protection, highlighting its potential in developing therapeutic and preventive interventions. These findings can guide public policies and personalized approaches to promote maternal and child health, emphasizing the importance of adequate and balanced supplementation.

Keywords: Folic acid. Fetal development. Schizophrenia. Pregnancy. Maternal nutrition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Delineamento experimental realizado com as ratas gestantes (n=48) e com o modelo esquizofrenia (prole, n=5 por subgrupo) Fonte: Elaborada pela autora (2024). 36
- Figura 2 – Teste de atividade locomotora nas ratas mães após o nascimento da prole. 43
- Figura 3 Achados no teste de nado forçado realizado com as ratas mães após o nascimento da prole 44
- Figura 4 Distância total percorrida em cm pela prole adulta de machos (A) e fêmeas (B) submetidos ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação Os valores foram expressos como média ± EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$ * diferente do grupo controle (Água+Salina ou Água+Poly), segundo Kruskal-Wallis. 45
- Figuras 5A e 5B: Figura 5 Latência e número total de contatos sociais da prole adulta de machos (Fig. 5A e 5C) e de fêmeas (Fig. 5B e 5D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como mediana ± IQR (Intervalo Interquartil), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$, segundo Kruskal-Wallis. Figuras 5C e 5D: valores foram expressos como média ± EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$, segundo ANOVA de duas vias. *diferente do grupo controle (Água+Salina), **diferente do grupo AF5+Salina. 46
- Figura 6 Efeito da suplementação de AF (5 e 10 mg/kg) durante a concepção, gestação e lactação na memória aversiva obtida através do teste esquivo inibitória, na prole adulta submetida ao modelo animal de esquizofrenia. Os valores foram expressos como média ± EPM, sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$. $N = 8-10$. *comparado ao treino do respectivo grupo; # comparado ao mesmo tipo de memória (curto e longo prazo) em relação ao grupo controle (dieta Água+Salina). 47
- Figura 7 Níveis de neurotrofinas no hipocampo da prole adulta de machos (Fig. 7A, 7B, 7C) e de fêmeas (7D, 7E, 7F), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como média ± EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$, segundo ANOVA de duas vias. 49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF - Ácido Fólico

AIQ - Amplitude Interquartil

ANOVA - Analysis of Variance

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês Brain-Derived Neurotrophic Factor)

CEUA - Comissão de Ética na Utilização de Estudos em Animais

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

EPM - Erro Padrão da Média

GDNF - Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor

IPP - Índice de Prejuízo Positivo

Mg/kg – Miligramas por quilo

NGF - Nerve Growth Factor

NMDA - N-Metil-D-Aspartato

RNA - Ácido Ribonucleico

TDAH - Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade

TEA - Transtorno do Espectro Autista

TNF - Fator de Necrose Tumoral

UNESC - Universidade do Extremo Sul Catarinense

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 ÁCIDO FÓLICO E SUA RELEVÂNCIA NO NEURODESENVOLVIMENTO	25
2.1 INTRODUÇÃO AO ÁCIDO FÓLICO E SUA IMPORTÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO HUMANO.....	25
2.2 DEFICIÊNCIA DE ÁCIDO FÓLICO E SUAS CONSEQUÊNCIAS	25
2.3 A RELAÇÃO ENTRE ÁCIDO FÓLICO E ESQUIZOFRENIA	26
2.4 SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO: BENEFÍCIOS E RISCOS	26
2.5 MECANISMOS BIOLÓGICOS RELACIONADOS AO PAPEL DO ÁCIDO FÓLICO	27
2.6 MODELOS ANIMAIS NA PESQUISA SOBRE ESQUIZOFRENIA E ÁCIDO FÓLICO	27
2.7 ESTRATÉGIAS PREVENTIVAS E IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE PÚBLICA	28
3. OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVO GERAL	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 TIPO DE PESQUISA.....	33
4.2 CONTEXTO DA PESQUISA	33
4.3 CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS DO EXPERIMENTO E ALOJAMENTO	33
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	34
4.4.1 Suplementação com Ácido Fólico	36
4.4.2 Injeção de Poly (I:C).....	36
4.5 ANÁLISES COMPORTAMENTAIS.....	37
4.5.1 Análises comportamentais nas ratas Wistar mães....	37
4.5.2 Análises comportamentais na prole adulta	38
4.5.1 Atividade Locomotora	38
4.5.2 Interação Social	38
4.5.3 Esquiva Inibitória	39
4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	40
4.6.2 Níveis de Neurotrofinas Cerebral.....	40
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5. RESULTADOS	43
5.1 TESTES COMPORTAMENTAIS DAS RATAS MÃES ..	43
5.1.1 Atividade locomotora das ratas mães	43
5.1.2 Nado formado ratas mães.....	43

5.2 TESTES COMPORTAMENTAIS DA PROLE ADULTA	44
5.2.1 Atividade locomotora.....	44
5.2.2 Interação Social	45
5.2.3 Esquiva inibitória.....	46
5.3. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	48
5.2.1 Níveis de Neurotrofinas	48
6 DISCUSSÃO	51
6.1 TESTES COMPORTAMENTAIS DAS RATAS MÃES ..	51
6.2 TESTES COMPORTAMENTAIS DA PROLE ADULTA	52
6.2.1. Atividade locomotora da prole adulta	52
6.2.2 Interação Social	54
6.2.3 Esquiva inibitória.....	55
6.3. NEUROTROFINAS.....	57
6.3.1 Níveis de Neurotrofinas: Relação com Comportamento e Mecanismos Biológicos	59
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

1 INTRODUÇÃO

A gestação é um período crítico no desenvolvimento humano, onde a interação entre fatores genéticos e ambientais desempenha um papel fundamental na formação do indivíduo. Dentro deste contexto, a nutrição materna emerge como um componente crucial, influenciando não apenas a saúde da mãe, mas também o desenvolvimento e o bem-estar do feto (Rocha *et al.*, 2023). Entre os diversos nutrientes essenciais, o ácido fólico (AF) destaca-se como um dos mais importantes devido ao seu papel chave na síntese de ácidos nucleicos e na regulação da metilação do DNA (Oliveira, Germano, Kramer, 2021).

A relevância da nutrição durante a gestação vai além do crescimento físico do feto, alcançando níveis mais profundos do desenvolvimento humano, como a formação do sistema nervoso central e a regulação epigenética. Desde o início das políticas de suplementação com ácido fólico (AF), na década de 1990, evidências científicas têm demonstrado sua eficácia na prevenção de defeitos do tubo neural (DTNs), como espinha bífida e anencefalia (Wald *et al.*, 1991). No entanto, estudos mais recentes sugerem que os efeitos dessa vitamina vão muito além, abrangendo impactos no neurodesenvolvimento e na saúde neuropsiquiátrica ao longo da vida.

A descoberta do papel do ácido fólico na regulação epigenética marcou um avanço significativo na biologia molecular. Durante o desenvolvimento fetal, os processos de metilação do DNA são altamente dependentes de níveis adequados de folato, um precursor da vitamina B9. A metilação do DNA é fundamental para a ativação ou silenciamento de genes cruciais no desenvolvimento do sistema nervoso central (Caffrey *et al.*, 2018). Pesquisas recentes sugerem que a deficiência de ácido fólico durante períodos críticos pode aumentar a susceptibilidade da prole a transtornos como esquizofrenia, transtornos do espectro autista (TEA) e até mesmo transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (Nascimento, 2022; Maia *et al.*, 2020).

A deficiência de AF durante a gestação tem sido objeto de crescente interesse na comunidade científica devido às suas implicações na saúde fetal e no neurodesenvolvimento (Maia *et al.*, 2021). Estudos epidemiológicos sugerem uma associação entre a deficiência de ácido fólico durante a gestação e o aumento do risco de distúrbios neuropsiquiátricos na prole, incluindo a esquizofrenia. Este transtorno complexo, caracterizado por alterações cognitivas, emocionais e comportamentais, representa um desafio significativo para a saúde pública devido à sua natureza crônica e incapacitante (Damázio *et al.*, 2022).

Associações nessa temática são feitas com outros problemas neurológicos, como atrasos no desenvolvimento cognitivo, espectro autista e até mesmo o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), além da esquizofrenia (Nascimento, 2022). Entender os mecanismos subjacentes que ligam a deficiência de ácido fólico durante a gestação ao desenvolvimento da esquizofrenia é essencial para a prevenção e o tratamento eficaz desse transtorno. Pesquisas recentes têm sugerido que a deficiência de AF durante a gestação pode afetar a expressão gênica, a neuroinflamação e a neuroplasticidade, processos que desempenham um papel crucial na patogênese da esquizofrenia (Maia *et al.*, 2020).

O AF, também denominado vitamina B9, é uma vitamina fundamental para mulheres que estão grávidas ou planejam uma gestação. Sua obtenção se dá por meio da alimentação ou suplementação, em razão de não ser sintetizada pelo próprio organismo (Greenberg *et al.*, 2011). Embora folato e AF sejam usados como sinônimos, o AF é considerado a forma sintética do folato, sendo utilizado em suplementos alimentares e adicionado a alimentos fortificados devido à sua alta estabilidade e resistência ao calor. Já o folato é encontrado de forma orgânica em vegetais de folhas verdes, ervilhas, feijão, fígado bovino e frutas (Pater; Malefora, 2017; Sarmah, Muralidharan, Marrs, 2016).

Apesar de suas amplas aplicações, o uso indiscriminado de ácido fólico também apresenta desafios. Alguns estudos sugerem que o consumo excessivo durante a gestação pode estar associado ao aumento do risco de transtornos do espectro autista (Wiens; Desoto, 2017). Esse paradoxo ressalta a necessidade de estratégias personalizadas para a suplementação, ajustando doses às necessidades metabólicas individuais. Dessa forma, é fundamental balancear os benefícios e os riscos, estabelecendo diretrizes claras para a prática clínica.

Modelos animais têm sido amplamente utilizados para investigar os efeitos do ácido fólico no neurodesenvolvimento, especialmente em cenários que simulam condições de ativação imunológica materna. Estudos com ratos indicam que a suplementação com ácido fólico pode reduzir os danos inflamatórios e oxidativos associados à exposição neonatal a análogos virais, como o Poly(I:C), utilizado em modelos experimentais de esquizofrenia (Gonçalves *et al.*, 2020). Esses achados reforçam a ideia de que o ácido fólico exerce um papel neuroprotetor, influenciando positivamente os níveis de neurotrofinas como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e o fator neurotrófico derivado de células gliais (GDNF).

Na gravidez, há uma maior demanda por AF, pois a vitamina é necessária para o crescimento e o desenvolvimento fetal, atuando também na prevenção materna de anemia e neuropatia periférica (Greenberg *et al.*, 2011). A falha embriológica relacionada ao não fechamento do tubo neural, que ocorre por volta de 21 a 28 dias após a concepção, resulta nos

defeitos do tubo neural (DTNs). Esses defeitos congênitos são responsáveis por danos ao feto, causando alterações no neurodesenvolvimento e podendo levar à mortalidade infantil (Toivonen *et al.*, 2018).

Em 1991, descobriu-se que a suplementação de AF no período periconcepcional reduz consideravelmente o risco de a prole desenvolver espinha bífida e outros DTNs, como anencefalia e encefalocele. Essa descoberta solucionou incertezas médicas da época e justificou o uso da suplementação em todas as mulheres em idade fértil que planejam ou têm potencial de engravidar (Wald *et al.*, 1991). Atualmente, a dose recomendada para este grupo é de 400 µg (0,4 mg), uma vez ao dia, iniciando três meses antes da concepção e mantendo até o final da amamentação, com o objetivo principal de auxiliar na formação do tubo neural durante o primeiro trimestre (Wilson, O'Connor, 2021).

A importância do AF no desenvolvimento do sistema nervoso central está relacionada ao seu papel como cofator em diversos processos fisiológicos, incluindo a conversão de homocisteína em metionina pela metionina-sintase. Essa reação está diretamente envolvida na síntese de neurotransmissores, no metabolismo de aminoácidos e nas reações de metilação, como a metilação do DNA, essencial para a expressão gênica (Reynolds, 2006).

A suplementação contínua da dose recomendada durante o segundo e terceiros trimestres resulta em mudanças na metilação do DNA no sangue do cordão umbilical. Essa metilação ocorre em genes específicos da prole, incluindo aqueles relacionados ao desenvolvimento e à função cerebral, assegurando níveis ideais de folato para atender às necessidades do desenvolvimento fetal durante o período de organogênese (Caffrey *et al.*, 2018).

Pesquisas em modelos animais evidenciam que tanto a deficiência quanto o excesso de AF na gestação podem alterar a neurogênese intrauterina, resultando em modificações morfológicas do córtex cerebral na prole. Apesar de alguns estudos apontarem que o excesso de AF tem efeito protetor contra o transtorno do espectro do autismo (TEA), outros associam o consumo excessivo ao aumento do risco dessa condição (Wiens; Desoto, 2017).

Com o objetivo de prevenir a deficiência de AF, muitas populações passaram a consumir a vitamina por meio do enriquecimento obrigatório de alimentos e da suplementação voluntária. Contudo, o consumo excessivo também pode gerar efeitos adversos, como danos neurológicos associados à deficiência de vitamina B12, aumento de tecido adiposo e maior predisposição ao diabetes tipo II na prole. Estudos em animais demonstraram que altos níveis de AF durante os períodos pré e peri-gestacional reduzem o limiar convulsivo dos descendentes, causando

hiperexcitabilidade e tornando as redes neuronais mais suscetíveis a convulsões (Deshmukh, Katre, Yajnik, 2013; Girotto *et al.*, 2013; Pater; Malefora, 2017).

O desenvolvimento humano é profundamente influenciado pela interação entre fatores genéticos e ambientais. A nutrição materna, incluindo o consumo adequado de ácido fólico, representa uma intervenção ambiental que pode mitigar vulnerabilidades genéticas. A suplementação de ácido fólico, por meio de sua ação na regulação epigenética, é capaz de modular a expressão gênica, criando um ambiente mais favorável ao desenvolvimento saudável do sistema nervoso central (Uehara *et al.*, 2010).

Além disso, a inclusão do ácido fólico em políticas públicas, como a fortificação obrigatória de alimentos em muitos países, demonstra o impacto positivo dessa vitamina na saúde populacional. Contudo, as disparidades regionais na ingestão dietética e as variações individuais na metabolização do ácido fólico ressaltam a importância de estratégias personalizadas para maximizar seus benefícios. A educação nutricional e o acompanhamento pré-natal são ferramentas cruciais para garantir que as gestantes recebam orientações adequadas sobre a suplementação (Silva, 2020).

Embora avanços consideráveis tenham sido alcançados, lacunas na literatura ainda precisam ser preenchidas. Estudos longitudinais que correlacionem diretamente a suplementação de ácido fólico com desfechos neuropsiquiátricos na prole adulta são limitados, e questões como a sensibilidade dose-dependente continuam em aberto (Bestetti *et al.*, 2014). A compreensão mais profunda desses mecanismos pode contribuir para a formulação de políticas públicas e intervenções clínicas mais eficazes.

Dessa forma, o presente estudo se propõe a investigar os efeitos da suplementação de ácido fólico durante os períodos de concepção, gestação e lactação, avaliando parâmetros comportamentais e neuroquímicos em modelos animais de esquizofrenia. Ao explorar essas interações, busca-se não apenas compreender os benefícios e limitações do ácido fólico, mas também contribuir para a construção de uma base científica que direcione práticas clínicas e políticas públicas voltadas para a saúde materno-infantil.

Nesse sentido, o presente estudo buscou investigar os efeitos da suplementação de AF antes e durante a gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais e neuroquímicos em modelos animais de esquizofrenia induzida por Polyinosinic:polycytidylic (Poly(I:C)).

2 ÁCIDO FÓLICO E SUA RELEVÂNCIA NO NEURODESENVOLVIMENTO

2.1 INTRODUÇÃO AO ÁCIDO FÓLICO E SUA IMPORTÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO HUMANO

O ácido fólico, ou vitamina B9, é uma vitamina hidrossolúvel pertencente ao complexo B, essencial para a biossíntese de nucleotídeos e a metilação do DNA. Esses processos são fundamentais para a divisão celular e a regulação epigenética, especialmente durante a gestação, quando a rápida proliferação celular materna e fetal exige níveis elevados dessa vitamina (Uehara *et al.*, 2010). O ácido fólico desempenha um papel crucial no desenvolvimento do sistema nervoso, com particular destaque para as primeiras semanas de gestação, período em que ocorre o fechamento do tubo neural, estrutura precursora do sistema nervoso central (Bestetti *et al.*, 2014).

A suplementação com ácido fólico é amplamente recomendada como uma estratégia eficaz na prevenção de malformações congênitas, como os defeitos do tubo neural (DTNs). Segundo Calça *et al.* (2024), essa suplementação também apresenta benefícios metabólicos adicionais, participando de reações críticas de transferência de grupos de carbono, que são essenciais para a síntese de aminoácidos e a manutenção da função celular. No contexto do presente estudo, o papel do ácido fólico na regulação metabólica e sua influência sobre mecanismos epigenéticos são pontos de destaque, estabelecendo uma base teórica para explorar seus impactos em condições que afetam o neurodesenvolvimento.

2.2 DEFICIÊNCIA DE ÁCIDO FÓLICO E SUAS CONSEQUÊNCIAS

A insuficiência de ácido fólico (AF) durante a gestação está fortemente associada ao desenvolvimento de defeitos do tubo neural (DTNs), como anencefalia e espinha bífida, malformações congênitas graves que resultam do fechamento inadequado do tubo neural nas primeiras semanas de gestação (Bestetti *et al.*, 2014). Essas condições, além de comprometerem a qualidade de vida da prole, são responsáveis por altas taxas de morbidade e mortalidade neonatal. A importância da suplementação com AF, especialmente durante o primeiro trimestre, tem sido amplamente destacada como uma medida preventiva eficaz para evitar esses desfechos adversos.

Além disso, estudos indicam que a deficiência de AF pode impactar significativamente o desenvolvimento neurológico, aumentando a vulnerabilidade a distúrbios neuropsiquiátricos na prole, como esquizofrenia e transtornos do espectro autista (Gonçalves *et al.*, 2020). A baixa disponibilidade de AF durante períodos críticos do neurodesenvolvimento compromete a

metilação do DNA e a expressão gênica, processos epigenéticos fundamentais para a formação de circuitos neuronais e para a plasticidade cerebral (Uehara *et al.*, 2010). Esses mecanismos também estão implicados na regulação de neurotransmissores e no equilíbrio inflamatório, que, quando alterados, podem predispor a deficiências cognitivas e comportamentais de longo prazo.

2.3 A RELAÇÃO ENTRE ÁCIDO FÓLICO E ESQUIZOFRENIA

A esquizofrenia é um transtorno neuropsiquiátrico complexo e multifatorial, cuja etiologia envolve a interação entre fatores genéticos e ambientais durante períodos críticos do neurodesenvolvimento. Evidências sugerem que a deficiência de AF durante a gestação está associada a um maior risco de desenvolvimento de esquizofrenia na prole. Esse risco está relacionado, em parte, a alterações nos processos epigenéticos, como a metilação do DNA e a regulação da expressão gênica, que são fundamentais para a formação e manutenção de circuitos neurais saudáveis (Gonçalves *et al.*, 2020).

Estudos em modelos animais corroboram essa hipótese, demonstrando que a suplementação materna de AF é capaz de exercer efeitos protetores contra alterações comportamentais e neuroquímicas características da esquizofrenia, como déficits de memória e sociabilidade. Esses efeitos estão associados à capacidade do AF de reduzir marcadores inflamatórios e estresse oxidativo no cérebro, fatores que comprometem o desenvolvimento neural em condições de ativação imunológica materna (Gonçalves *et al.*, 2020). Assim, o papel neuroprotetor do AF oferece uma importante perspectiva terapêutica para prevenir ou minimizar os impactos de fatores ambientais na etiologia da esquizofrenia.

2.4 SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO: BENEFÍCIOS E RISCOS

A suplementação de ácido fólico (AF) é amplamente reconhecida como uma estratégia eficaz para a prevenção de defeitos do tubo neural (DTNs), como espinha bífida e anencefalia, reduzindo significativamente sua incidência quando administrada antes e durante as primeiras semanas de gestação (Bestetti *et al.*, 2014). Além disso, pesquisas sugerem que a suplementação adequada de AF pode ter efeitos benéficos em outros aspectos do desenvolvimento fetal, incluindo a redução do risco de transtornos neuropsiquiátricos, como esquizofrenia e transtornos do espectro autista, devido ao seu papel na metilação do DNA e na manutenção da integridade do neurodesenvolvimento.

No entanto, estudos recentes indicam que o consumo excessivo de AF pode estar associado a potenciais riscos, incluindo um possível aumento na predisposição ao autismo em crianças expostas a altas doses de suplementação durante a gestação (Calça *et al.*, 2024). Esse

paradoxo sugere que a suplementação de AF deve ser cuidadosamente monitorada, considerando a sensibilidade dose-dependente e a variabilidade individual nas necessidades nutricionais. A administração inadequada, seja por deficiência ou excesso, pode comprometer os efeitos esperados, destacando a importância de diretrizes claras e baseadas em evidências para orientar a dosagem ideal.

Portanto, é crucial equilibrar a dose de AF para maximizar seus benefícios e minimizar os riscos. Estratégias de saúde pública devem focar na educação nutricional e no acompanhamento pré-natal para garantir que a suplementação seja ajustada às necessidades específicas de cada gestante, promovendo tanto a saúde materna quanto o desenvolvimento fetal de forma segura e eficaz (Bestetti *et al.*, 2014).

2.5 MECANISMOS BIOLÓGICOS RELACIONADOS AO PAPEL DO ÁCIDO FÓLICO

O AF desempenha um papel fundamental no desenvolvimento cerebral, atuando como cofator em reações de metilação que regulam processos críticos, como a síntese de neurotransmissores e a expressão gênica. A metilação do DNA é essencial para a neurogênese e a plasticidade sináptica, mecanismos que asseguram a formação e a funcionalidade dos circuitos neurais. Segundo Uehara *et al.* (2010), a deficiência de AF durante períodos críticos do desenvolvimento pode comprometer esses processos, resultando em alterações estruturais e funcionais no cérebro que aumentam a vulnerabilidade a distúrbios neuropsiquiátricos.

Além disso, o AF é indispensável na conversão de homocisteína em metionina, um processo essencial para a manutenção do equilíbrio metabólico e para evitar a toxicidade causada pelo acúmulo de homocisteína. Conforme Calça *et al.* (2024), níveis elevados de homocisteína têm sido amplamente associados a disfunções neuropsiquiátricas, incluindo transtornos do espectro autista e esquizofrenia. Esses achados destacam a importância do AF não apenas como elemento preventivo de malformações congênitas, mas também como um agente protetor contra alterações metabólicas que comprometem o neurodesenvolvimento.

2.6 MODELOS ANIMAIS NA PESQUISA SOBRE ESQUIZOFRENIA E ÁCIDO FÓLICO

Modelos animais têm sido amplamente utilizados para elucidar a relação entre a deficiência de AF durante a gestação e o desenvolvimento de esquizofrenia na prole. Esses estudos são fundamentais para entender os mecanismos biológicos subjacentes e para avaliar a eficácia de intervenções preventivas. Segundo Gonçalves *et al.* (2020), experimentos com ratas gestantes suplementadas com AF mostraram efeitos neuroprotetores significativos, incluindo a

redução de alterações comportamentais, como déficits em memória e interação social, bem como melhorias em marcadores neuroquímicos relacionados à função cerebral.

Esses modelos permitem explorar com maior precisão como o AF modula processos epigenéticos, como a metilação do DNA, e regula níveis de citocinas pró-inflamatórias e de homocisteína, que são frequentemente elevados em condições de ativação imunológica materna. Além disso, estudos em modelos experimentais fornecem dados importantes para a compreensão da sensibilidade dose-dependente do AF, ajudando a determinar concentrações ideais que maximizem os benefícios neuroprotetores sem provocar efeitos adversos. Dessa forma, os modelos animais oferecem uma plataforma essencial para investigar estratégias nutricionais voltadas à prevenção de transtornos neuropsiquiátricos e para ampliar o entendimento sobre os impactos do AF no neurodesenvolvimento (Koyle e Konopaske, 2015).

2.7 ESTRATÉGIAS PREVENTIVAS E IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE PÚBLICA

A suplementação adequada de ácido fólico (AF) durante a gestação é amplamente reconhecida como uma estratégia eficaz para prevenir defeitos do tubo neural (DTNs) e, potencialmente, para reduzir o risco de distúrbios neuropsiquiátricos na prole. Essa abordagem tem sido adotada como uma medida preventiva universal em diversas políticas públicas, incluindo programas de fortificação obrigatória de alimentos e campanhas de conscientização sobre a importância do AF no período gestacional (Bestetti *et al.*, 2014). Essas ações têm mostrado impacto significativo na redução da incidência de DTNs, especialmente em populações mais vulneráveis com baixa ingestão dietética de folato.

No entanto, conforme Chemin *et al.* (2024), é essencial monitorar cuidadosamente os níveis de suplementação para evitar os possíveis efeitos adversos associados ao consumo excessivo de AF, como o aumento na predisposição a transtornos do espectro autista e outras condições neuropsiquiátricas. Estudos recentes destacam a importância de estratégias personalizadas de suplementação, que considerem fatores individuais como necessidades metabólicas e genéticas, para otimizar os benefícios e minimizar os riscos. Dessa forma, uma suplementação equilibrada, aliada a políticas públicas baseadas em evidências, pode contribuir para melhorar os desfechos de saúde materno-infantil de maneira segura e eficaz.

Além disso, segundo Crider *et al.* (2011), a eficácia da suplementação de AF na redução de DTNs depende de uma adesão rigorosa durante o primeiro trimestre de gestação, período crítico para o fechamento do tubo neural. O estudo também destaca que o impacto positivo da fortificação de alimentos com AF varia entre populações, devido a fatores como diferenças culturais e alimentares. Isso reforça a necessidade de campanhas de saúde pública que

promovam uma abordagem educacional adaptada à realidade local, ampliando o acesso à suplementação e maximizando seus benefícios preventivos.

A suplementação de ácido fólico é amplamente reconhecida como uma estratégia essencial para prevenir defeitos do tubo neural (DTNs), mas sua aplicação requer uma abordagem abrangente que combine intervenções individuais com políticas públicas eficazes. A fortificação obrigatória de alimentos, adotada em diversos países, demonstrou reduzir significativamente a incidência de DTNs em populações vulneráveis, especialmente onde o acesso a suplementos é limitado (Crider *et al.*, 2011). No entanto, estudos indicam que os impactos dessa medida podem variar de acordo com diferenças regionais nos hábitos alimentares e na bioquímica populacional, o que reforça a necessidade de adaptações locais (Cordero *et al.*, 2015).

Além da prevenção de DTNs, a suplementação de ácido fólico tem ganhado destaque por seus efeitos neuroprotetores. Pesquisas apontam que o ácido fólico contribui para processos epigenéticos fundamentais, como a metilação do DNA, que regulam a expressão gênica e ajudam a prevenir distúrbios neuropsiquiátricos, como esquizofrenia e transtornos do espectro autista (Caffrey *et al.*, 2018; Gonçalves *et al.*, 2020). Esses mecanismos de proteção são especialmente importantes em contextos de risco, como infecções maternas ou deficiências nutricionais, onde a suplementação adequada pode atuar como um fator compensatório crucial (Reynolds, 2006).

No entanto, o consumo indiscriminado de ácido fólico também apresenta desafios significativos. Estudos recentes sugerem que doses excessivas de suplementação durante a gestação podem estar associadas a um maior risco de transtornos do espectro autista, especialmente em crianças expostas a altos níveis de ácido fólico no período pré-natal (Wiens; Desoto, 2017). Essa constatação reforça a importância de estratégias individualizadas de suplementação, ajustadas às necessidades metabólicas específicas de cada gestante, levando em consideração fatores como histórico gestacional, predisposição genética e níveis séricos de folato (Calça *et al.*, 2024).

O avanço tecnológico oferece oportunidades para melhorar a implementação de estratégias preventivas. Ferramentas digitais, como aplicativos de rastreamento nutricional, têm sido exploradas como uma forma de educar e monitorar gestantes quanto à ingestão de ácido fólico, promovendo a adesão às diretrizes recomendadas (Crider *et al.*, 2011). Além disso, campanhas educativas que enfatizem a importância do início precoce da suplementação — idealmente três meses antes da concepção — podem aumentar a eficácia das políticas de saúde

pública, considerando que o fechamento do tubo neural ocorre nas primeiras semanas de gestação (Wilson; O'Connor, 2021).

As diretrizes de suplementação também devem levar em conta as disparidades regionais. Em países ou regiões onde o consumo de alimentos fortificados é limitado, estratégias alternativas, como a distribuição de suplementos gratuitos em unidades de saúde, podem ser cruciais para atingir populações em situação de vulnerabilidade (Cordero *et al.*, 2015). Tais medidas, aliadas a esforços para capacitar profissionais de saúde, podem melhorar significativamente os desfechos materno-infantis em contextos de alta desigualdade social (Calça *et al.*, 2024).

Por fim, é fundamental que futuras pesquisas explorem os impactos de longo prazo da suplementação de ácido fólico, não apenas na prevenção de DTNs, mas também na redução de riscos associados a transtornos neuropsiquiátricos. Estudos longitudinais que considerem aspectos genéticos, epigenéticos e ambientais são essenciais para refinar as estratégias preventivas e fornecer subsídios para políticas públicas baseadas em evidências (Caffrey *et al.*, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da suplementação de ácido fólico (AF) em diferentes doses (5 mg/kg e 10 mg/kg) durante as fases de concepção, gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais, neuroquímicos e bioquímicos nas mães e na prole adulta, utilizando um modelo animal de esquizofrenia induzido pelo análogo de RNA viral, Poly(I:C).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar o impacto da suplementação materna com AF sobre o comportamento das ratas mães e da prole adulta, antes e durante a gestação e lactação no desenvolvimento de sintomas do tipo positivo (atividade locomotora), negativo (interação social) e cognitivo (IPP) da esquizofrenia na prole adulta exposta ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Poly (I:C), considerando diferenças entre machos e fêmeas.

b) Avaliar os níveis de neurotrofinas (BDNF, NGF e GDNF) no hipocampo da prole adulta e sua relação com os efeitos da suplementação materna de AF e a indução do modelo de esquizofrenia.

c) Identificar diferenças no impacto da suplementação de AF em ratas mães e o efeito na prole adulta, considerando possíveis resposta sexuais divergentes em parâmetros comportamentais e neuroquímicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TIPO DE PESQUISA

Este estudo foi caracterizado como uma pesquisa aplicada, com foco na geração de conhecimentos voltados para soluções práticas relacionadas ao tema investigado. Quanto à sua natureza, tratou-se de uma pesquisa científica. No que se refere aos objetivos, foi classificada como exploratória, pois buscou trazer informações relevantes que possam orientar medidas preventivas no contexto abordado.

Em relação ao objeto de estudo, a pesquisa foi realizada em laboratório. Sua abordagem foi de cunho quantitativo, utilizando métodos estatísticos para a análise dos dados coletados. Por fim, no que tange ao procedimento técnico, adotou-se o modelo experimental, comparando um grupo controle a um grupo submetido à suplementação.

4.2 CONTEXTO DA PESQUISA

O estudo ocorreu no município de Criciúma, Santa Catarina, utilizando as instalações da Universidade do Extremo Sul Catarinense (Unesc), para a realização experimental. O estudo foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Estudos em Animais (CEUA), sendo aprovado conforme protocolo de número 32/2023.

Este estudo utilizou ratas Wistar para programação experimental, devido à sua semelhança genética com a espécie humana. Outro fator relevante para a pesquisa, é o tempo de gestação, trazendo celeridade para o estudo visto que se tem como objetivo averiguar efeitos de procriação. Como amostra, fizeram parte do estudo 48 ratas Wistar fêmeas, submetidas ao acasalamento, as quais foram acompanhadas antes e durante a gestação e lactação. A prole das ratas foi utilizada na vida adulta.

Foram utilizadas 48 fêmeas matrizes, para obtenção do número de 16 animais por grupo. Conforme observado em estudos prévios, este número de fêmeas matrizes é necessário pois aproximadamente 50% das matrizes engravidam (Magenis *et al.*, 2021) e a média de filhotes por parto é 8 (Andrade, Pinto, Oliveira, 2002). Além disso, o estresse gerado pela manipulação dos animais na própria fase gestacional, pode ser capaz de provocar aborto ou canibalismo por parte das mães logo após o nascimento dos filhotes (Desantis, Schmaltz, 1984).

4.3 CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS DO EXPERIMENTO E ALOJAMENTO

O experimento utilizou ratos heterogênicos da linhagem Wistar, fêmeas, com 60 dias de vida e peso corporal entre 100 e 300 g. Os animais foram provenientes do Biotério da

Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), especificamente do centro de experimentação animal.

Os ratos foram obtidos e mantidos na colônia de reprodução do biotério, em ciclos de 12 horas claro/escuro (com início da iluminação às 7h). Os ambientes eram frescos e arejados, com temperatura controlada de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Durante todo o experimento, os animais tiveram acesso à água potável e ração ad libitum.

Os ratos foram alojados em caixas de polipropileno com dimensões de $41 \times 34 \times 16$ cm, sendo 5 animais por caixa, exceto durante o período de acasalamento e lactação. Na primeira etapa do experimento, cada fêmea adulta (60 dias de vida) foi alocada com um macho adulto Wistar para acasalamento. Após a confirmação da prenhez, as fêmeas foram alojadas individualmente em caixas separadas durante todo o período gestacional.

Os filhotes, machos e fêmeas, permaneceram com as mães até completarem 21 dias. Após o desmame, foram agrupados em gaiolas com 5 animais por caixa, organizados de acordo com o sexo e o grupo materno.

As caixas foram forradas com maravalha, trocada a cada dois dias. A sala contava com sistema de exaustão para garantir boa ventilação e conforto aos animais, conforme os padrões éticos de manejo e bem-estar animal.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), lei Arouca nº 11.794/2008. Os animais foram obtidos e mantidos no Biotério da UNESC em ciclos de 12h claro/escuro (a luz é ligada às 7h da manhã) em local fresco e arejado, com temperatura controlada de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ e comida e água disponíveis. Os animais foram alojados em caixas de polipropileno ($41 \times 34 \times 16$ cm), 5 ratos por caixa, exceto no período entre o acasalamento e o desmame.

Como mencionado anteriormente, foram utilizadas 48 ratas fêmeas Wistar adultas para acasalamento, obtidas do Centro de Experimentação Animal da UNESC. Cada fêmea foi mantida na caixa com um macho durante 48 horas para o acasalamento. Na manhã do dia seguinte foi realizado esfregaço vaginal para análise de seu conteúdo. A presença de um espermatozoide e as características do ciclo estral das fêmeas confirmou o diagnóstico de prenhez e este representou o dia zero de gestação.

As ratas gestantes foram separadas aleatoriamente em dois grupos para receberem os diferentes tratamentos: grupo controle (n=16) e dois grupos suplementados com ácido fólico (AF) em duas doses distintas. A suplementação foi administrada por 3 semanas antes da gestação e durante a gestação e lactação, com as doses de 5 mg/kg (n=16) e 10 mg/kg (n=16), totalizando 32 fêmeas nos grupos suplementados com AF.

Dessa forma, os grupos maternos do experimento, durante gestação e lactação, foram:

- 1) Grupo controle (n=16): ratas não suplementadas.
- 2) Grupo AF5 (n=16): ratas suplementadas com 5mg/kg de AF.
- 3) Grupo AF10 (n=16): ratas suplementadas com 10mg/kg de AF.

As ratas gestantes permaneceram isoladas em caixas individuais e receberam o tratamento conforme o grupo a que pertenciam. Além disso, foram subdivididas em grupos para receber o análogo viral, a fim de induzir o modelo animal de esquizofrenia com a sua prole.

Após o nascimento da prole, todos os filhotes (machos e fêmeas) permaneceram com a mãe para amamentação durante 21 dias, sendo as mães mantidas na mesma suplementação fornecida durante a gestação até o final da lactação. Logo após o desmame, a prole foi sexada e os filhotes, machos e fêmeas, foram agrupados de acordo com a suplementação materna e submetidos à indução do modelo de esquizofrenia por meio da administração de Poly(I:C), conforme os seguintes grupos:

1) Grupo controle + salina: prole cujas mães não receberam AF e nem Poly (I:C), e a prole recebeu apenas solução salina.

2) Grupo AF5 + salina: prole de mães suplementadas com 5 mg/kg de AF, sem Poly (I:C), e a prole recebeu apenas solução salina.

3) Grupo AF10 + salina: prole de mães suplementadas com 10 mg/kg de AF, sem Poly (I:C), e a prole recebeu apenas solução salina.

4) Grupo Controle + Poly(I:C): prole de mães sem suplementação, e a prole foi tratada com Poly (I:C).

5) Grupo AF5 + Poly (I:C.): prole de mães suplementadas com 5 mg/kg de AF, e a prole foi tratada com Poly (I:C).

6) Grupo AF10 + Poly (I:C.): prole de mães suplementadas com 10 mg/kg de AF, e a prole foi tratada com Poly (I:C).

Os grupos 4, 5 e 6 receberam o análogo viral para indução do modelo de esquizofrenia. A administração de Poly(I:C) foi realizada do 5º ao 7º dia pós-natal, na dose de 2 mg/kg, via intraperitoneal. A solução salina ou Poly(I:C) foi administrada na concentração de 0,1g/10g de

peso corporal. Para compreender melhor a divisão dos grupos de mães e filhotes a figura 1 demonstra o delineamento realizado.

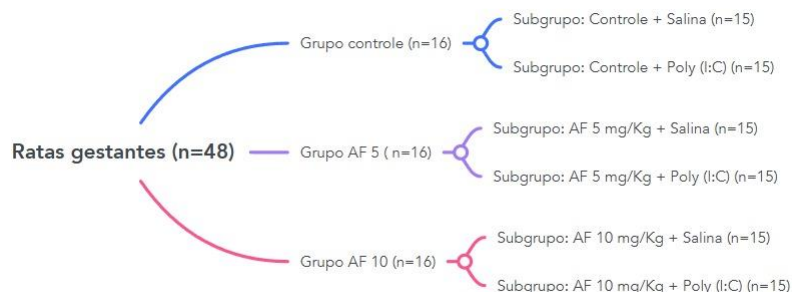


Figura 1 Delineamento experimental realizado com as ratas gestantes (n=48) e com o modelo esquizofrenia (prole, n=5 por subgrupo) Fonte: Elaborada pela autora (2024).

4.4.1 Suplementação com Ácido Fólico

As ratas Wistar que foram suplementadas, receberam AF nas doses de 5 e 10 mg/kg/peso do animal, sendo preparada antes da administração e solubilizada em água em um volume de 1mL/100g. O AF foi administrado por via oral (v.o.), uma vez ao dia (período matutino), desde o acasalamento dos animais, seguindo durante a fase de gestação e lactação. As doses de suplementação foram administradas conforme respectivo peso de cada rata, no volume de 1mL/kg. Tais doses de AF foram selecionadas com base em estudos anteriormente realizados por Budni *et al.*, (2012), os quais avaliaram os efeitos das diferentes doses de AF no modelo animal de depressão, bem como estudo realizado por Zugno *et al.* (2016), o qual verificou o efeito do AF (5 e 10 mg/kg) no modelo animal de esquizofrenia.

A dose de 5 mg/kg de AF suplementada para as ratas, correspondeu à dose na faixa de 400-800 µg/dia de AF para mulheres grávidas (Barua *et al.*, 2014). A suplementação de AF na dose de 10 mg/kg para as ratas, equivaleu a dose máxima de 4 mg/dia recomendada para mulheres grávidas com histórico prévio de filhos com DTNs (Wollf, Witkop, Miller, 2009). Em síntese, estas duas doses de AF (5 e 10 mg/kg) estão em conformidade com as necessidades de AF para roedores na fase gestacional, uma vez que respeitam a faixa de recomendação de AF (400 µg/dia a 4 mg/dia) prescrita para gestantes (Wollf, Witkop, Miller, 2009).

4.4.2 Injeção de Poly (I:C)

Sabe-se que a exposição neonatal a um análogo viral é capaz de induzir alterações comportamentais e mimetizar efeitos inflamatórios na prole. Devido a essa analogia, a duração

ou a gravidade da exposição na prole pós-natal e o tempo da resposta inflamatória ou do estresse podem determinar a natureza dos efeitos comportamentais ou neuroquímicos na prole em seus estágios de vida jovem-adulta (Enayati *et al.*, 2012). Sendo assim, a Poly(I:C) foi administrada do 5º ao 7º dia pós-natal na dose de 2 mg/kg, via intraperitoneal. A solução salina ou Poly (I:C.) foi administrada a 0,1g/10g de peso corporal. A dose de Poly (I:C) é baseada em estudos previamente realizados, conforme dados da literatura (Oliveira *et al.*, 2021; Nascimento, 2023).

4.5 ANÁLISES COMPORTAMENTAIS

4.5.1 Análises comportamentais nas ratas Wistar mães

O teste comportamental atividade locomotora foi realizado nas ratas Wistar mães após nascimento da prole e na prole adulta. O teste nado forçado foi aplicado apenas nas ratas mães, a fim de se avaliar comportamento semelhante à depressão nas ratas mães.

4.5.1.1 Atividade Locomotora

A hiperlocomoção farmacologicamente induzida é um importante indicador dos sintomas positivos associados à esquizofrenia (Van Den Buuse, 2010). Assim, o objetivo do teste é avaliar as mudanças comportamentais quando os ratos são colocados em um novo ambiente. À medida que os animais sentem ansiedade, medo ou tem problemas de adaptação em um novo ambiente, as atividades exploratórias tendem a aumentar (Tsuchie *et al.*, 2013).

Desta forma, na data programada os animais foram submetidos individualmente à exploração em uma caixa de atividade locomotora com 50 x 25 x 50 cm de dimensão durante o período de 15 minutos. O teste foi realizado em um equipamento (Activity Monitor, Insight Laboratory Equipment, Ribeirão Preto, SP) que calculou a distância percorrida (cm) pelo animal, (dividindo o tempo total de avaliação em blocos de 5 minutos) e o rearing (número de movimentos de elevação da pata dianteira, sem tocar as paredes do campo aberto – atividade vertical) (De Oliveira *et al.*, 2009; Canever *et al.*, 2010).

4.5.1.2 Nado forçado

Para avaliar os sintomas semelhantes à depressão nas ratas mães expostas à suplementação de ácido fólico durante a pré-concepção, gestação e lactação foi realizado o teste do nado forçado. Esse é frequentemente usado em modelo animal para pesquisar sinais de depressão. Este teste consiste em dois dias de procedimentos no qual cada rato é posto em um cilindro com água a 23 °C, a água deve ser suficiente para o animal não conseguir apoiar o rabo

no fundo do cilindro. No primeiro dia, os ratos foram forçados a nadar por 15 minutos. No segundo dia (24 horas após o teste), cada animal é novamente forçado a nadar durante 5 minutos. Foram avaliados os parâmetros de imobilidade, nos quais se incluem imobilidade total ou movimentos para manter a cabeça fora da água sem intenção de escapar (Porsolt et al. 1977).

4.5.2 Análises comportamentais na prole adulta

Foram avaliados os parâmetros comportamentais de atividade locomotora, interação social e esquiva inibitória em ratos Wistar machos e fêmeas adultos submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Polly I:C, cujas mães foram expostas a suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação.

Projetando minimizar o estresse dos animais, os procedimentos com as mães foram realizados em duas fases, como descrito anteriormente, e os testes comportamentais foram realizados em dois dias. No primeiro dia, os animais foram submetidos aos testes de atividade locomotora, interação social e esquiva inibitória (treino, memória imediata e de curta duração). No segundo dia, os animais foram submetidos à esquiva inibitória para avaliação da memória de longa duração e, posteriormente, eutanásia.

4.5.1 Atividade Locomotora

A hiperlocomoção farmacologicamente induzida é um importante indicador dos sintomas positivos associados à esquizofrenia (Van Den Buuse, 2010). Assim, o objetivo do teste é avaliar as mudanças comportamentais quando os ratos são colocados em um novo ambiente. À medida que os animais sentem ansiedade, medo ou tem problemas de adaptação em um novo ambiente, as atividades exploratórias tendem a aumentar (Tsuchie *et al.*, 2013).

Desta forma, na data programada os animais foram submetidos individualmente à exploração em uma caixa de atividade locomotora com 50 x 25 x 50 cm de dimensão durante o período de 15 minutos. O teste foi realizado em um equipamento (Activity Monitor, Insight Laboratory Equipment, Ribeirão Preto, SP) que calculou a distância percorrida (cm) pelo animal, (dividindo o tempo total de avaliação em blocos de 5 minutos) e o rearing (número de movimentos de elevação da pata dianteira, sem tocar as paredes do campo aberto – atividade vertical) (De Oliveira et al., 2009; Canever *et al.*, 2010).

4.5.2 Interação Social

O teste de interação social indica o perfil social dos animais, estando relacionado aos sintomas negativos da esquizofrenia (Neill *et al.*, 2014). Vários estudos demonstraram a

inibição da interação social, induzida por antagonistas do receptor NMDA em animais (Sams-Dodd, 1999; Becker e Grecksch, 2004; Canever *et al.*, 2010). Assim, a diminuição da interação social vem sendo estudada como um comportamento característico (sintoma negativo) em modelos animais de esquizofrenia e autismo (Schneider e Przewlocki, 2005; Diccico-Bloom *et al.*, 2006).

No dia do experimento, os animais ficaram isolados socialmente em caixa de material plástico mensurando 43 x 28 x 15 cm, trinta minutos antes do início do experimento.

Posteriormente, cada animal do grupo tratado foi colocado junto ao um animal externo ao experimento, no campo aberto, uma caixa de acrílico (60 x 60 x 30 cm) com piso sólido, para a realização do teste. O protocolo utilizado foi descrito por Buffington *et al.*, (2016) e Silverman *et al.*, (2010). Será avaliado o comportamento social dos animais de par em par e não individualmente.

O teste aconteceu por um período de 10 minutos e foram analisados dois parâmetros comportamentais: o tempo de latência (em segundos) para iniciar o contato entre os animais (seguir ou se aproximar do parceiro, a montagem sobre o parceiro, o cheirar ou *grooming* de qualquer parte do corpo do parceiro) e o tempo total que os animais permanecem em contato

Como o ambiente do teste é desconhecido, a tendência normal é haver alguns minutos de atividade exploratória junto com as interações sociais, e como o experimento é realizado durante o dia, os animais controles usualmente acabam adormecendo juntos ao final do teste. A latência indica o grau de ansiedade, visto que o animal está no mesmo ambiente que outro rato desconhecido. O tempo total de contatos quantifica a preferência do animal pelo contato com o animal desconhecido, ao invés de explorar o ambiente (Canever *et al.*, 2010).

4.5.3 Esquiva Inibitória

A memória aversiva dos animais (memória imediata ou de trabalho, memória de curto e longo prazo) pode ser avaliada através do teste esquiva inibitória. Esse é baseado na tendência inata de roedores em explorar novos ambientes (Izquierdo *et al.*, 1998; Bevilaqua *et al.*, 2003; De Lima *et al.*, 2005). Na esquizofrenia, a disfunção cognitiva não é global e generalizada, mas sim específica e seletiva, incluindo problemas de atenção e percepção, resolução de problemas, déficits na memória de trabalho e na memória de curto e longo prazo (Bégou *et al.*, 2008). Dessa forma, este teste foi utilizado no presente estudo para verificar os sintomas cognitivos da esquizofrenia relacionados a diferentes tipos de memória nos animais.

O experimento foi realizado em uma caixa de acrílico, cujo piso é constituído de barras paralelas de metal, com uma plataforma junto à parede esquerda do aparelho (Quevedo *et al.*,

1997; Roesler *et al.*, 2003). O teste comportamental iniciou com uma sessão denominada treino, que aconteceu 24 horas após a última administração de salina ou cetamina. O animal foi colocado sobre a plataforma e o tempo que este levou para descer com as quatro patas nas barras de metal foi anotado (em segundos) e denominado de latência. Ao descer com as quatro patas nas barras de metal, o animal recebeu um choque de 0,4 mA por 2 segundos. Cinco segundos após o treino, o rato foi submetido à segunda sessão, denominada como teste, sendo colocado novamente na plataforma e a latência (tempo em segundos que o animal leva para descer) foi registrado, porém nenhum choque foi acionado.

Esta sessão avaliou a memória de trabalho ou imediata. Uma hora e meia depois, o animal foi submetido ao mesmo protocolo para avaliação da memória de curta duração (Izquierdo *et al.*, 1998; Bevilaqua *et al.*, 2003). No dia seguinte, 24 horas após a terceira sessão, foi avaliada a memória de longa duração no mesmo animal (Bevilaqua *et al.*, 2003; De Lima *et al.*, 2005). A memória imediata, de curto e longo prazo foi considerada preservada quando o animal apresentou um tempo de latência estatisticamente maior nos testes, que no tempo do treino.

4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.6.1 Preparação das amostras

Após a morte dos animais por decapitação, as estruturas cerebrais foram removidas e devidamente congeladas a -80°C para subsequente análise bioquímica. O hipocampo, estrutura utilizada neste estudo, foi homogeneizado em solução de tampão fosfato, PBS (fornecidos pela 35 LABORCLIN, Brasil) com cocktail de inibidor de protease (SigmaAldrich, EUA) e centrifugado a 5000 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi separado para os ensaios.

4.6.2 Níveis de Neurotrofinas Cerebral

As análises bioquímicas, mais precisamente, os níveis séricos de BDNF, NGF e GDNF, no hipocampo da prole Wistar adulta, foi avaliada em um N de 6 animais por grupo.

O sobrenadante diluído 1:3 com tampão fosfato (PBS) foi incubado em placas de 96 poços já sensibilizadas com anticorpo antiBDNF humano, juntamente com a curva padrão de cada neurotrofina por 24 horas. As placas foram, então, lavadas com tampão de lavagem seguida pela adição de anticorpo monoclonal anti-BDNF, anti-NGF e anti-GDNF, humano biotinizado e incubado por 3 horas a temperatura ambiente. Após uma segunda lavagem, streptavidina conjugada a HRP (horseradish peroxidase) foi adicionada em cada poço e as

placas incubadas a temperatura ambiente por 1h. Após a adição do substrato e solução para interromper a reação, os níveis de cada neurotrofina foram determinados por absorvância a 450nm. A curva padrão representa uma relação direta entre a densidade óptica (OD) e a concentração da respectiva neurotrofina. A dosagem de proteínas totais foi realizada através do método de Lowry *et al.* (1951) utilizando albumina sérica bovina como padrão.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos resultados foi utilizado o software GraphPad Prism 10.0.2. A investigação da normalidade das variáveis quantitativas foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilk. Quando o resultado foi $p < 0,05$, realizou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo post hoc Tukey, quando F foi significativo. Os dados foram expressos como média (\pm) e erro padrão da média (média \pm E.P.M) e a significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

Quando o teste de Shapiro-Wilk foi $p < 0,05$, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, seguindo pelo post hoc de Dunn's.

Esquiva inibitória: Os resultados do teste comportamental esquiva inibitória foram expressos por mediana e intervalos interquartis e analisados pelo teste de Kruskal-Wallis para comparações dentro de grupos individuais e o teste de Friedman para comparações entre os grupos.

As variáveis quantitativas foram expressas por meio de mediana e amplitude interquartil (AIQ) e a significância estatística também foi considerada para valores de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 TESTES COMPORTAMENTAIS DAS RATAS MÃES

5.1.1 Atividade locomotora das ratas mães

A Figura 2 apresenta os resultados do teste de atividade locomotora nas ratas mães após o nascimento da prole. O objetivo desse teste foi verificar a ausência ou a presença de hiperlocomoção para posteriormente as mães realizarem o teste de nado forçado, a fim de verificar o comportamento tipo-depressivo materno.

Nenhuma alteração significativa no número de cruzamentos (*crossing*) e levantamentos (*rearing*) foi observado nas ratas mães do grupo AF5 e AF10mg/kg ($p > 0.05$), resultado esperado, visto que as mães receberam apenas suplementação de AF. ANOVA de uma via confirmou que não houve alteração significativa para estes parâmetros comportamentais: *crossing* ($F(2,35) = 1,496$; $p = 0,2381$) e *rearing* ($F(2,35) = 0,4269$; $p = 0,6559$) nos grupos maternos avaliados.

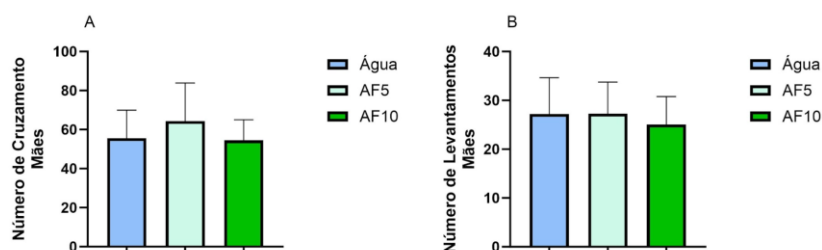


Figura 2 – Teste de atividade locomotora nas ratas mães após o nascimento da prole.

Fonte: Autor (2024)

5.1.2 Nado forçado ratas mães

A figura 3 representa os achados do teste nado forçado realizado com as ratas mães após o nascimento da prole. ANOVA de uma via detectou alterações significativas no tempo de imobilidade ($F(2,33) = 3,331$; $p = 0,0481$) (Fig. 3A). Todavia, *Pos Hoc de Tukey* não apontou diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$) neste parâmetro, o que sugere ausência do comportamento tipo depressivo nas ratas mães suplementadas com AF5 e AF10mg/kg.

Para o tempo de Escalada (Fig. 3B), ANOVA de uma via revelou diferença significativa entre os grupos maternos ($F(2,34) = 5,099$; $P = 0,0116$). Pode-se verificar que as mães

suplementadas com AF10mg/kg apresentaram um aumento no tempo de Escalada quando comparados ao grupo AF5mg/kg ($p < 0,05$). Esse dado sugere que a dose de AF10 mg/kg parece ter melhor efeito na prevenção do comportamento tipo depressivo materno.

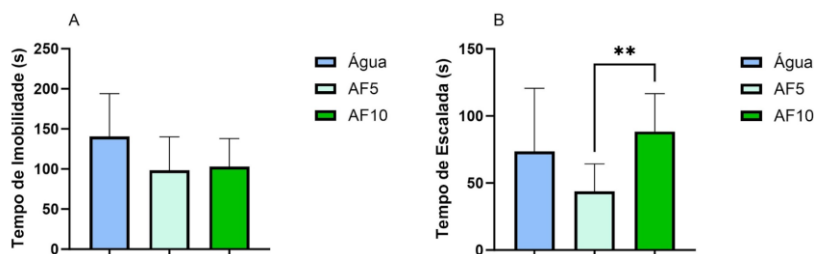


Figura 3 Achados no teste de nado forçado realizado com as ratas mães após o nascimento da prole

5.2 TESTES COMPORTAMENTAIS DA PROLE ADULTA

5.2.1 Atividade locomotora

A figura 4 apresenta a distância percorrida em cm (*crossing*), bem como o número de levantamentos (*rearing*) da prole adulta de machos (Fig. 4A e 4C) e fêmeas (Fig. 4B e 4D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação. Na figura 4A, Kruskal-Wallis não apontou diferença significativa entre os grupos de machos ($H=4,013$; $p=0,54$). Na figura 4B, Kruskal-Wallis demonstrou diferença significativa entre os grupos de fêmeas ($H=14,28$; $p < 0,05$). Foi observada uma redução na atividade locomotora nas fêmeas do grupo AF10+Salina quando comparado ao grupo Água+Poly e AF5+Salina.

Na figura 4C, Kruskal-Wallis demonstrou diferença significativa entre os grupos de machos ($H=18,10$; $p < 0,01$). Observou-se um menor número de levantamentos nos machos dos grupos AF5+Poly e AF10+Salina ($p=$) quando comparado ao grupo controle (Água+Salina).

Na figura 4D, Kruskal-Wallis apontou diferença significativa entre os grupos de fêmeas ($H=14,87$; $p < 0,05$). Houve uma redução no número de levantamentos nas fêmeas do grupo AF5+Salina quando comparado ao grupo Água+Poly.

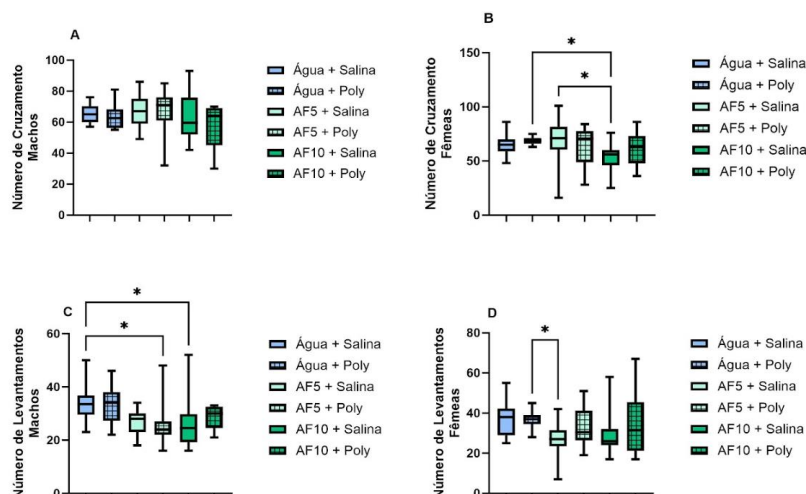


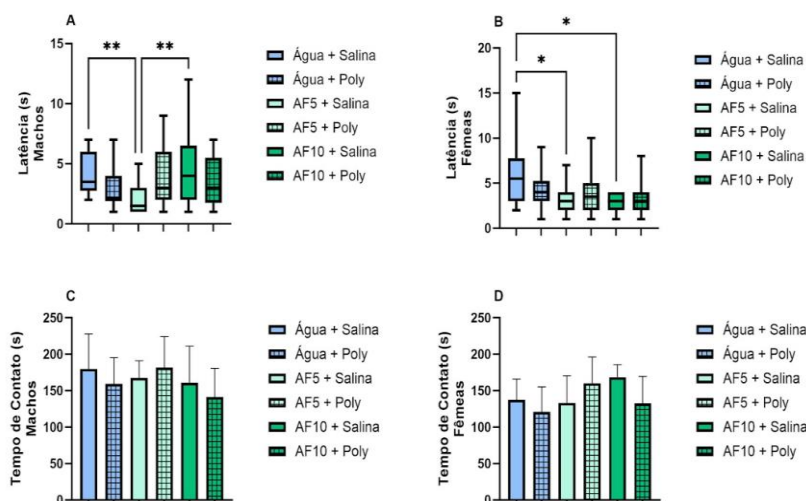
Figura 4 Distância total percorrida em cm pela prole adulta de machos (A) e fêmeas (B) submetidos ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$ * diferente do grupo controle (Água+Salina ou Água+Poly), segundo Kruskal-Wallis. Fonte: dados da autora, 2024.

5.2.2 Interação Social

A figura 5 representa a latência (tempo para o primeiro contato entre os animais) e o número total de contatos sociais da prole adulta de machos (Fig. 5A e 5C) e de fêmeas (Fig. 5B e 5D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. Na figura 5A, o teste de Kruskal-Wallis demonstrou diferença significativa na latência entre os grupos de machos ($H=10,42$; $p=0,064$). Foi verificada uma redução da latência nos machos do grupo AF5+Salina quando comparado ao grupo controle e um aumento da latência nos machos do grupo AF10+Salina quando comparado ao grupo AF5+Salina. Na figura 5B, o teste de Kruskal-Wallis demonstrou diferença significativa na latência entre os grupos de fêmeas ($H=15,62$; $p < 0,01$). Houve uma redução no tempo de latência nas fêmeas do grupo AF5+Salina e do grupo AF10+Salina quando comparado ao grupo controle.

As figuras 5C e 5D representam o número de contatos sociais, da prole adulta de machos (Fig. 5C) e fêmeas (Fig. 5D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. ANOVA de duas vias revelou que não houve interação significativa entre as

variáveis: dieta materna + Salina e Poly para os grupos de ambos os gêneros: machos [$F(2,95)=1,988$; $p=0,1427$] e fêmeas [$F(2,121)=8,292$; $p=0,004$], respectivamente.



Figuras 5A e 5B: Figura 5 Latência e número total de contatos sociais da prole adulta de machos (Fig. 5A e 5C) e de fêmeas (Fig. 5B e 5D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como mediana \pm IQR (Intervalo Interquartil), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$, segundo Kruskal-Wallis. Figuras 5C e 5D: valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=10$, segundo ANOVA de duas vias. *diferente do grupo controle (Água+Salina), **diferente do grupo AF5+Salina.

Fonte: dados da autora, 2024.

5.2.3 Esquiva inibitória

A figura 6 apresenta os resultados do teste esquiva inibitória da prole adulta de machos (Fig. 6A) e fêmeas (Fig. 6B) submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de preconcepção, gestação e lactação.

Na Figura 6A foi verificado que os animais machos dos grupos Água+Poly e AF5+Salina apresentaram diferença significativa na memória imediata, de curto e longo prazo quando comparado ao treino ($p \leq 0,05$). Os machos do grupo AF5+Poly apresentaram diferença significativa na memória imediata em relação ao treino, porém houve um prejuízo na memória de longa duração quando comparado ao grupo controle (Água+Salina). Os machos do grupo AF10+Salina demonstraram um déficit nas memórias de curto e longo prazo quando comparado

ao grupo controle. Os animais machos do grupo AF10+Poly apresentaram diferença significativa na memória de longa duração em relação ao treino.

A Figura 6B indica que as fêmeas dos grupos Água+Poly e AF5+Salina apresentaram diferença significativa na memória imediata, de curto e longo prazo quando comparado ao treino ($p \leq 0,05$). As fêmeas do grupo AF5+Poly apresentaram diferença significativa apenas na memória imediata em relação ao treino. Nas fêmeas do grupo AF10+Salina houve diferença significativa na memória de longo prazo e nas fêmeas do grupo AF10+Poly essa diferença significativa foi observada na memória imediata e de longa duração quando comparado ao treino. De modo geral, as fêmeas dos grupos AF5+Poly, AF10+Salina e AF10+Poly demonstraram um prejuízo na memória de curta duração quando comparado ao grupo controle (Água+Salina).

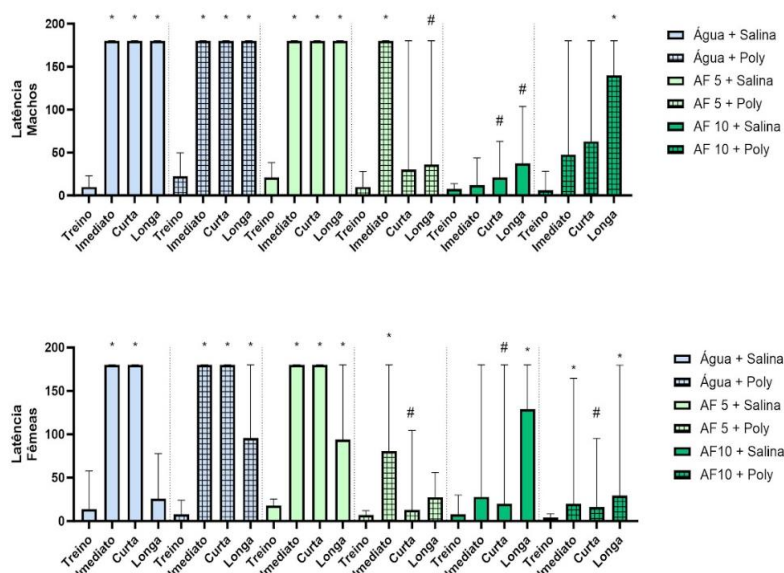


Figura 6 Efeito da suplementação de AF (5 e 10 mg/kg) durante a concepção, gestação e lactação na memória aversiva obtida através do teste esquivo inibitória, na prole adulta submetida ao modelo animal de esquizofrenia. Os valores foram expressos como média \pm EPM, sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$. N = 8-10. *comparado ao treino do respectivo grupo; # comparado ao mesmo tipo de memória (curto e longo prazo) em relação ao grupo controle (dieta Água+Salina).

Fonte: Dados da pesquisadora, 2024

5.3. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

5.2.1 Níveis de Neurotrofinas

A figura 7 apresenta os resultados dos níveis de neurotrofinas (BDNF, NGF e GDNF) na estrutura cerebral hipocampo, da prole adulta de machos (Fig. 7A, 7B, 7C) e fêmeas (Fig. 7D, 7E e 7F), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação.

As figuras 7A e 7C, segundo ANOVA de duas vias, revelam uma interação significativa entre as variáveis: dieta materna + Salina e Poly no hipocampo de machos para as neurotrofinas: BDNF [F(2,24)=0,1110; p=0,8954] e GDNF [F(2,24)=7,911; p=0,0023]. Para a neurotrofina NGF (Fig. 5B), ANOVA de duas vias não apontou interação entre as variáveis acima citadas: [F(2,23) = 2,469, p=0,1068].

A Figura 7A demonstra que houve uma redução significativa dos níveis de BDNF nos machos do grupo Água+Poly em relação ao grupo controle (P<0,05). Todavia, os níveis de BDNF aumentaram nos machos do grupo AF5+Salina quando comparado ao controle e nos machos do grupo AF5+Poly em relação ao grupo Água+Poly. Na Figura 7B observa-se que nenhuma diferença significativa foi observada nos níveis de NGF entre os grupos. A Figura 7C aponta uma diminuição significativa nos níveis de GDNF nos machos do grupo Água+Poly em relação ao grupo controle (P<0,05). Houve um aumento nos níveis de GDNF nos machos do grupo AF10+Salina em relação ao grupo controle, sendo que esse aumento também foi observado nos machos dos grupos AF5+Poly e AF10+Poly quando comparado ao grupo Água+Poly.

As figuras 7D e 7E, conforme ANOVA de duas vias, apontam uma interação significativa entre as variáveis: dieta materna + Salina e Poly no hipocampo de fêmeas para as neurotrofinas: BDNF [F(2,24)= 3,704; p=0,0396] e NGF [F(2,23)=6,491; p=0,0058]. Para a neurotrofina GDNF (Fig. 7F), ANOVA de duas vias não revelou interação entre as variáveis anteriormente citadas: [F(2,24) = 0,6913, p=0,5106].

As Figuras 7D e 7E demonstram que houve uma redução significativa nos níveis de BDNF e NGF, respectivamente, no hipocampo das fêmeas do grupo Água+Poly (p=) comparado ao grupo controle. Em contrapartida, pode-se observar um aumento nos níveis de BDNF e NGF nas fêmeas dos grupos AF5+Poly (p=) e AF10+Poly em relação ao grupo Água+Poly. Na Figura 7F nenhuma diferença significativa foi observada nos níveis de GDNF de fêmeas nos grupos avaliados.

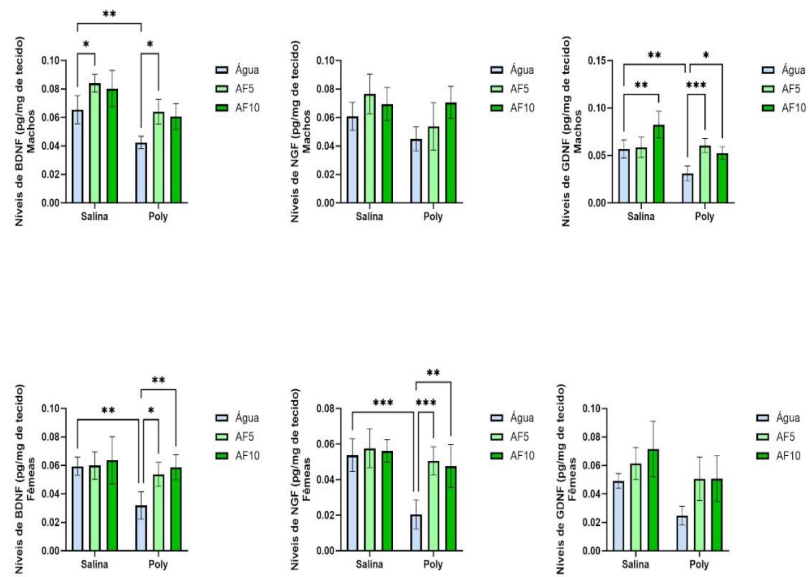


Figura 7 Níveis de neurotrofinas no hipocampo da prole adulta de machos (Fig. 7A, 7B, 7C) e de fêmeas (7D, 7E, 7F), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de concepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 10$, segundo ANOVA de duas vias.

Fonte: Autor (2024)

6 DISCUSSÃO

6.1 TESTES COMPORTAMENTAIS DAS RATAS MÃES

A análise dos testes comportamentais das ratas mães suplementadas com ácido fólico (AF) fornece insights relevantes sobre os efeitos dessa intervenção no período de gestação e lactação. Os resultados são discutidos com base em achados da literatura científica que abordam o impacto do AF no comportamento materno e na neurobiologia.

Conforme observado neste estudo, a suplementação com AF, independentemente da dose (5 mg/kg ou 10 mg/kg), não resultou em alterações significativas na atividade locomotora das ratas mães. Esses achados são consistentes com os de Simpson *et al.* (2012), que investigaram a relação entre suplementação de folato e comportamento motor em modelos animais e não encontraram evidências de hiperlocomoção ou hipoatividade em condições normais.

A ausência de alterações comportamentais pode estar associada à função regulatória do AF no metabolismo neuronal, que tende a atuar como um modulador da plasticidade sináptica sem causar efeitos excitatórios diretos (Roffman *et al.*, 2011). Além disso, a manutenção de parâmetros normais de atividade locomotora pode refletir a capacidade do AF de estabilizar os sistemas dopaminérgicos, frequentemente implicados em comportamentos motores (McNamara *et al.*, 2006).

Por outro lado, estudos como o de Konycheva *et al.* (2011) sugerem que os efeitos do AF podem ser mais pronunciados em cenários de privação nutricional ou estresse oxidativo, o que não foi o caso no presente estudo. Isso reforça a hipótese de que a suplementação de AF pode atuar como um protetor, mas não como um indutor de mudanças comportamentais em condições normais.

O teste de nado forçado revelou um aumento no tempo de escalada nas ratas suplementadas com AF10 mg/kg, indicando um possível efeito antidepressivo dessa dose. Segundo Bjørnebekk *et al.* (2015), o tempo de escalada em modelos animais é frequentemente associado a maior ativação de circuitos serotoninérgicos, sugerindo que o AF em doses mais altas pode estar modulando neurotransmissores-chave para o humor.

O impacto positivo do AF sobre o comportamento tipo-depressivo é corroborado por estudos como o de Kafami *et al.* (2020), que demonstraram que a suplementação de folato em modelos de estresse crônico reduziu a imobilidade e aumentou comportamentos proativos, como escalada. Esse efeito é frequentemente atribuído à capacidade do folato de reduzir os

níveis de homocisteína, uma substância neurotóxica que compromete a função do sistema nervoso central (Selhub *et al.*, 2007).

Além disso, o efeito diferencial entre as doses testadas de AF (5 mg/kg versus 10 mg/kg) pode estar relacionado à sensibilidade dose-dependente do sistema nervoso ao folato. Conforme discutido por Mischoulon *et al.* (2005), doses mais elevadas de AF podem ser mais eficazes em aumentar a disponibilidade de tetraidrofolato, um cofator essencial para a síntese de neurotransmissores, como serotonina e dopamina.

No entanto, é importante considerar que a ausência de alterações significativas no tempo de imobilidade sugere que o AF pode não ser suficiente para mitigar completamente os comportamentos tipo-depressivos em todos os aspectos avaliados. Esse achado está alinhado com o estudo de Bottiglieri (2005), que enfatiza a necessidade de abordar fatores complementares, como deficiência de vitamina B12 ou níveis elevados de estresse oxidativo, para otimizar os benefícios do AF.

6.2 TESTES COMPORTAMENTAIS DA PROLE ADULTA

6.2.1. Atividade locomotora da prole adulta

Os resultados apresentados na Figura 4 sugerem que a suplementação com AF durante as fases de concepção, gestação e lactação exerce efeitos distintos sobre a atividade locomotora da prole adulta submetida ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Poly(I:C). A análise foi realizada com base no número de cruzamentos (*crossing*) e levantamentos (*rearing*), entre machos e fêmeas. A ausência de diferença significativa no teste “crossing” entre os grupos de machos, sugere que a atividade locomotora não foi substancialmente afetada pelo Poly ou pela suplementação materna com AF. Esse dado está em consonância com estudo anterior, o qual indica que o impacto da ativação imunológica materna e da suplementação com AF pode apresentar um viés relacionado ao sexo, onde machos tendem a demonstrar menor sensibilidade a alterações ambientais durante o neurodesenvolvimento em comparação às fêmeas (Taylor *et al.*, 2012).

Quanto ao parâmetro comportamental *rearing* houve algumas diferenças entre machos, o que pode ser atribuído à maior vulnerabilidade dos sistemas dopaminérgicos em responder a alterações ambientais e metabólicas durante o desenvolvimento, conforme observado por Thomas *et al.* (2009), que identificaram diferenças sexuais significativas na resposta locomotora e exploratória de roedores expostos a intervenções nutricionais. Nas fêmeas, o teste revelou diferenças significativas entre os grupos. A redução na distância percorrida observada

no grupo AF10+Salina, quando comparado ao grupo Água+Poly e AF5+Salina, indica que doses mais elevadas de AF podem estar associadas a um efeito ansiolítico ou uma redução na motivação para explorar o ambiente. Esse achado reforça a hipótese de que o AF, em doses mais altas, pode alterar circuitos dopaminérgicos e serotoninérgicos de maneira mais pronunciada em fêmeas. Estudo sugere que a suplementação de AF pode regular a atividade do eixo HPA (hipotálamo-hipófise-adrenal), atenuando respostas de estresse e reduzindo comportamentos hiperativos em modelos animais de esquizofrenia (Zhao *et al.*, 2020).

No *rearing*, observou-se que a suplementação com AF na dose de 5 mg/kg (AF5+Salina) reduziu a atividade em comparação ao grupo Poly, sugerindo que doses menores de AF podem ter um efeito modulador sobre os comportamentos exploratórios. Esse padrão é consistente com a hipótese de sensibilidade dose-dependente dos sistemas dopaminérgicos, conforme descrito por Sun *et al.* (2016), que identificaram que doses moderadas de AF podem atuar regulando a excitabilidade neuronal e promovendo estabilidade comportamental, especialmente em modelos de estresse ou neuroinflamação.

A administração de Poly(I:C) é amplamente reconhecida como um modelo robusto para induzir alterações neuroinflamatórias que mimetizam aspectos comportamentais e neuroquímicos da esquizofrenia em modelos animais (Enayati *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2021). No presente estudo, os efeitos da Poly(I:C) na atividade locomotora da prole adulta foram evidentes, especialmente ao analisar os grupos controle e suplementados com ácido fólico (AF). Observou-se que os grupos expostos a Poly(I:C) apresentaram alterações significativas na hiperlocomoção, um sintoma positivo frequentemente associado à esquizofrenia (Van Den Buuse, 2010).

Essas alterações podem ser atribuídas ao aumento de mediadores pró-inflamatórios, como IL-6 e TNF- α , promovido pela Poly(I:C), os quais afetam diretamente o desenvolvimento do sistema nervoso central (Meyer *et al.*, 2009). No entanto, a suplementação materna com AF parece ter modulado os impactos adversos da Poly(I:C), como observado nos grupos AF5+Poly e AF10+Poly. Estudos prévios corroboram que o AF exerce um papel neuroprotetor, reduzindo a neuroinflamação e preservando a integridade da neurogênese, mesmo em contextos de ativação imunológica materna (Nascimento, 2023; Gonçalves *et al.*, 2020).

Os resultados também indicaram uma sensibilidade dose-dependente do AF na prole exposta à Poly(I:C). Enquanto a dose de 5 mg/kg mostrou-se eficaz em mitigar alterações locomotoras, a dose de 10 mg/kg apresentou resultados menos consistentes, sugerindo que doses elevadas podem ter efeitos neuroquímicos distintos ou mesmo adversos (Zugno *et al.*, 2016). Essa interação entre Poly(I:C) e suplementação de AF reforça a importância de

estratégias personalizadas na prevenção de distúrbios neuropsiquiátricos associados à ativação imunológica materna.

6.2.2 Interação Social

Os achados deste estudo evidenciam que a suplementação materna com AF, particularmente na dose de 5 mg/kg na prole de machos, e nas doses de 5 mg/kg e 10 mg/kg na prole de fêmeas, desempenhou um papel significativo na melhora do comportamento social, ao reduzir o tempo de latência, da prole adulta submetida ao modelo animal de esquizofrenia. Segundo Marques *et al.* (2021), o AF exerce efeitos protetores sobre o neurodesenvolvimento, modulando vias epigenéticas e inflamatórias que influenciam diretamente comportamentos sociais. Esse mecanismo pode estar relacionado à redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , frequentemente associadas à ativação imunológica materna e ao comprometimento social em modelos experimentais.

Além disso, conforme Zhao *et al.* (2020), o AF pode regular a atividade do eixo HPA, reduzindo respostas ao estresse que contribuem para os sintomas negativos da esquizofrenia, como o isolamento social. No presente estudo, observou-se uma redução da latência para o primeiro contato nos grupos suplementados com AF, sem aumento significativo no número de interações sociais. Esses achados sugerem que o AF pode ter influenciado positivamente os circuitos dopaminérgicos e serotoninérgicos, o que é consistente com estudos anteriores que destacam a importância desses sistemas na modulação de comportamentos sociais. Por exemplo, Homberg *et al.* (2010) evidenciaram o papel do folato na regulação da neurotransmissão serotoninérgica, enquanto Roffman *et al.* (2011) demonstraram que a suplementação de folato melhora a funcionalidade sináptica em modelos de comprometimento neuropsiquiátrico. Assim, a redução na latência pode refletir uma melhora na motivação social, mesmo que o número de interações não tenha sido alterado. Esses resultados reforçam a hipótese de que o AF desempenha um papel modulador na resposta social, especialmente em contextos de ativação imunológica materna.

Por fim, embora não tenha sido realizada comparação estatística entre a prole de machos e fêmeas, os resultados também apontam diferenças qualitativas nas respostas comportamentais entre esses animais, onde as fêmeas parecem apresentar mais sensibilidade às intervenções com AF. Essa diferença está em consonância com estudo realizado por Guilarte *et al.* (2021), o qual destaca a influência do sexo biológico na plasticidade neural e no impacto de fatores ambientais no comportamento social. Dessa forma, os dados reforçam a importância em se considerar

aspectos nutricionais e sexuais no desenvolvimento de estratégias preventivas para os transtornos neuropsiquiátricos.

6.2.3 Esquiva inibitória

Os dados obtidos no estudo indicam que a suplementação materna com AF (assim modulou significativamente a capacidade de memória aversiva da prole adulta submetida ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Poly(I:C). Segundo Izquierdo *et al.* (2016), o teste de esquiva inibitória é uma ferramenta amplamente validada para avaliar a memória de trabalho, curto e longo prazo, sendo sensível a alterações na neuroplasticidade e no equilíbrio de neurotransmissores. No presente estudo, a suplementação com AF foi eficaz em preservar a memória em diferentes etapas, com destaque para os grupos suplementados com AF5 mg/kg.

Adicionalmente, esses resultados corroboram a hipótese de que o AF atenua os impactos de processos neuroinflamatórios na formação da memória. Segundo Levone *et al.* (2015), a suplementação com folato é capaz de reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , frequentemente associadas à ativação imunológica materna, melhorando assim a conectividade neural e os processos de armazenamento e recuperação de informações. Isso sugere que o AF não apenas modula comportamentos sociais, mas também protege o desenvolvimento cognitivo em condições adversas.

Os resultados observados no grupo Poly, que demonstrou aprendizado preservado nas memórias imediata, curta e de longa duração, foram inesperados, uma vez que este grupo representa o modelo de esquizofrenia e, teoricamente, deveria apresentar déficits cognitivos mais acentuados. Estudos prévios sugerem que a ativação imunológica materna induzida por Poly(I:C), está associada a déficits significativos em processos de memória, devido a alterações neuroinflamatórias e epigenéticas durante o neurodesenvolvimento (Howes *et al.*, 2015; Meyer *et al.*, 2016). No entanto, a resposta cognitiva semelhante ao grupo controle e ao grupo AF5+Salina pode indicar uma recuperação parcial, possivelmente mediada por mecanismos compensatórios no cérebro, como aumento da neuroplasticidade ou regulação dopaminérgica (Estes & McAllister, 2015).

Por outro lado, nos grupos AF5+Poly, AF10+Salina e AF10+Poly, foram observados déficits em algumas fases da memória (imediate, curta ou longa duração), sugerindo que a suplementação de AF em doses específicas pode interagir com o modelo de esquizofrenia de maneira complexa e dose-dependente. Isso está alinhado com os achados de Reynolds *et al.* (2006), que destacaram que doses excessivas ou inadequadas de AF podem alterar o equilíbrio neuroquímico e impactar negativamente os processos cognitivos, especialmente em condições

de neuroinflamação. Esses resultados reforçam a necessidade de individualizar a suplementação de AF, considerando o contexto clínico e os fatores ambientais envolvidos.

Estudos prévios sugerem que a suplementação com AF está diretamente relacionada à melhora da metilação do DNA e à regulação da sinalização dopaminérgica, aspectos essenciais para a consolidação da memória aversiva em modelos de esquizofrenia (Zhang *et al.*, 2019). Os resultados encontrados reforçam que a dose de AF 5mg/kg parece ter demonstrado um perfil mais estável nos benefícios cognitivos, enquanto a dose de 10 mg/kg, neste teste comportamental, demonstrou impactos menos consistentes, alinhando-se a dados que indicam que doses elevadas de AF podem gerar um aumento na excitabilidade neuronal, prejudicando os processos de memória em longo prazo (Sarmah *et al.*, 2016).

Além disso, conforme descrito por Chew *et al.* (2021), a ativação imunológica durante o período neonatal, como a induzida pelo Poly(I:C), pode alterar a estrutura e a função hipocampal, impactando a capacidade de aprendizado e memória. A melhora observada nos parâmetros de esQUIVA inibitória nos grupos suplementados com 5 mg/kg de ácido fólico (AF5) demonstra a eficácia dessa dose na mitigação dos danos decorrentes da ativação imunológica materna. Conforme Budni *et al.* (2012), a suplementação de AF pode exercer um papel neuroprotetor ao modular processos inflamatórios e reduzir o estresse oxidativo, fatores críticos associados ao comprometimento da memória em modelos animais. Além disso, os resultados sugerem que, embora o grupo AF5 tenha mostrado desempenho superior, a prole exposta ao modelo Poly(I:C) também apresentou capacidade de aprendizado, o que sugere um possível efeito compensatório parcial mesmo diante do desafio neuroinflamatório, conforme discutido por Zugno *et al.* (2016).

Ao avaliar a resposta entre machos e fêmeas, observou-se comportamentos distintos, com os machos suplementados com AF5 apresentando uma preservação mais robusta da memória em suas fases imediata e de longa duração. Por outro lado, as fêmeas suplementadas demonstraram diferenças mais sutis, mantendo a memória imediata e de longa duração, mas exibindo comprometimento na memória de curto prazo. Segundo Oliveira *et al.* (2021), essas diferenças sexuais podem estar relacionadas à regulação diferenciada de neurotrofinas, como o BDNF e GDNF, e à influência dos hormônios sexuais no neurodesenvolvimento.

Esses achados destacam a relevância da suplementação com AF em doses moderadas durante a gestação, especialmente na preservação da função cognitiva, e corroboram estudos prévios que sugerem respostas dose-dependentes e sexo-específicas ao AF em modelos animais de transtornos neuropsiquiátricos (Nascimento *et al.*, 2023).

6.3. NEUROTROFINAS

As análises bioquímicas realizadas neste estudo demonstram que a suplementação materna com AF exerce um papel significativo na modulação de parâmetros neuroquímicos no modelo de esquizofrenia induzidos por Poly(I:C). Segundo Krzyszton-Russjan *et al.* (2020) o AF é capaz de influenciar vias bioquímicas relacionadas ao controle inflamatório e metabólico, promovendo a regulação de processos epigenéticos e a atenuação de desequilíbrios bioquímicos associados a estressores ambientais. Essas intervenções são particularmente relevantes durante períodos críticos do desenvolvimento, quando o cérebro é mais vulnerável a alterações neuroquímicas.

No presente estudo, observou-se uma redução nos níveis de BDNF e GDNF na prole de machos e nos níveis de BDNF e NGF na prole de fêmeas, induzida pela administração de Poly(I:C) em comparação ao grupo controle. Esse resultado era esperado e reforça a eficácia do modelo experimental, uma vez que a ativação imunológica materna induzida pelo Poly(I:C) é amplamente utilizada para mimetizar processos neuroinflamatórios durante o neurodesenvolvimento, levando a disfunções na expressão de neurotrofinas, como descrito por Meyer *et al.* (2006) e Oliveira *et al.* (2021).

Os achados também demonstraram que os efeitos da suplementação com AF foram dose-dependentes, com diferenças observadas entre os grupos suplementados com 5 mg/kg e 10 mg/kg. A dose de AF5 mg/kg foi mais eficaz na preservação dos níveis de neurotrofinas e na atenuação das alterações causadas pelo Poly(I:C), enquanto a dose de AF10 mg/kg apresentou resultados menos consistentes, sugerindo que um equilíbrio na suplementação de AF é essencial para otimizar seus efeitos protetores. Esse padrão de resposta dose-dependente é corroborado por estudos como os de Zugno *et al.* (2016), que demonstram que níveis adequados de AF são capazes de reduzir marcadores inflamatórios e oxidativos, ao passo que doses elevadas podem interferir em mecanismos homeostáticos sensíveis.

Além disso, os resultados reforçam a ideia de que o AF atua não apenas como um agente anti-inflamatório, mas também como um suporte crucial para mecanismos de neuroplasticidade, fundamentais no manejo e na prevenção de condições neuropsiquiátricas. Segundo Budni *et al.* (2012), o AF promove a preservação das vias neurotróficas ao modular a expressão de BDNF e outros fatores neuroprotetores, o que contribui para a recuperação funcional frente a insultos inflamatórios precoces.

Dessa forma, os achados do presente estudo ressaltam a importância de uma suplementação adequada e balanceada de AF como estratégia preventiva, com atenção à dose, visando maximizar os efeitos benéficos e minimizar possíveis impactos adversos.

Em adição, Budni *et al.* (2012) apontam que intervenções nutricionais, como a suplementação com AF durante a gestação, têm demonstrado eficácia em modular respostas inflamatórias e apoiar processos neuroquímicos, oferecendo um caminho promissor para prevenir ou atenuar os impactos bioquímicos associados à esquizofrenia. Os dados deste estudo corroboram essa abordagem, evidenciando que a suplementação adequada com AF pode atuar de maneira neuroprotetora. No entanto, os achados sugerem a necessidade de estudos futuros para esclarecer os efeitos de diferentes doses de AF e estabelecer diretrizes clínicas mais precisas para otimizar seus benefícios.

Os níveis de neurotrofinas analisados neste estudo destacam o impacto da suplementação materna com AF na modulação de fatores relacionados à plasticidade e sobrevivência neuronal em modelos de esquizofrenia induzidos por Poly(I:C). Neurotrofinas como o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), NGF (fator de crescimento neural) e GDNF (fator neurotrófico derivado de células da glia) desempenham papéis fundamentais na manutenção da integridade estrutural e funcional do sistema nervoso central. Segundo Sharma *et al.* (2019), alterações nesses fatores estão diretamente associadas a déficits cognitivos e comportamentais observados em condições neuropsiquiátricas, incluindo a esquizofrenia, no entanto, essas alterações não foram encontradas na presente pesquisa.

Conforme evidenciado pelos dados do presente estudo, a suplementação com AF em doses moderadas, como 5 mg/kg, promoveu a preservação dos níveis de neurotrofinas, especialmente nos grupos expostos ao Poly(I:C). Esses achados sugerem que o AF exerce um efeito neuroprotetor. No entanto, diferenças na regulação de neurotrofinas entre os grupos suplementados com AF 5 mg/kg e AF 10 mg/kg reforçam a necessidade de compreender os mecanismos dose-dependentes do AF, como apontado por Wu *et al.* (2020).

Por fim, segundo Budni *et al.* (2012) e Zugno *et al.* (2016), a manutenção de níveis adequados de neurotrofinas, como BDNF, NGF e GDNF, no hipocampo e em outras regiões cerebrais é fundamental para a recuperação de déficits neurocognitivos e para a preservação da plasticidade sináptica. No contexto deste estudo, os dados corroboram a hipótese de que a suplementação materna com ácido fólico (AF) atua de forma neuroprotetora, mitigando os impactos de condições inflamatórias induzidas por ativação imunológica materna no neurodesenvolvimento. Essa intervenção mostrou-se capaz de contribuir para a preservação dos circuitos neurais e das funções cognitivas na prole, reforçando o potencial do AF como estratégia preventiva em contextos de vulnerabilidade ao desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos.

6.3.1 Níveis de Neurotrofinas: Relação com Comportamento e Mecanismos Biológicos

Os resultados do presente estudo demonstraram que a suplementação materna com AF modulou os níveis de neurotrofinas, como BDNF, NGF e GDNF no hipocampo da prole adulta. Essas proteínas são fundamentais para o neurodesenvolvimento, a plasticidade sináptica e a manutenção da função neuronal, sendo seus níveis alterados frequentemente observados em modelos animais e pacientes humanos com esquizofrenia (Seshadri *et al.*, 2013; Notaras *et al.*, 2015).

No grupo Água+Poly, os níveis de BDNF e GDNF apresentaram redução significativa em comparação ao grupo controle. A queda nesses marcadores corrobora achados de outros estudos que apontam a neuroinflamação e o estresse oxidativo, induzidos pela ativação imunológica materna, como fatores determinantes para o comprometimento da plasticidade sináptica (Brown e Derkits, 2010). O hipocampo, estrutura crítica para a memória e a aprendizagem, é particularmente vulnerável a essas alterações, o que explica os déficits observados nos testes de memória e interação social nos grupos expostos ao Poly(I:C), o grupo poly isolado também aprendeu em todas as memórias.

A suplementação materna com AF5 mg/kg foi eficaz em preservar os níveis de BDNF e GDNF no hipocampo da prole, indicando um efeito neuroprotetor significativo. Essa proteção pode ser atribuída à capacidade do AF de modular a neuroinflamação e o estresse oxidativo, processos amplamente implicados na patogênese da esquizofrenia (Budni *et al.*, 2012; Zugno *et al.*, 2016). Em consonância com esses achados, foi observado um desempenho superior nos testes comportamentais, como memória aversiva e interação social, nos grupos suplementados com 5 mg/kg, reforçando o papel crucial do AF na regulação epigenética e na manutenção da homeostase neuronal (Rezin *et al.*, 2013).

Por outro lado, a suplementação com AF10 mg/kg apresentou resultados menos consistentes, com impactos negativos em alguns parâmetros comportamentais, como a memória de curto prazo. Estudos anteriores sugerem que doses mais altas de AF podem alterar a homeostase metabólica e interferir em vias críticas, como a do metabolismo da homocisteína, prejudicando a neuroplasticidade (Deshmukh *et al.*, 2013; Barua *et al.*, 2014). Esses resultados ressaltam a necessidade de monitoramento e ajustes na suplementação, já que o AF apresenta efeito dose-dependente e pode induzir respostas adversas quando administrado em excesso.

Diferenças sexuais também foram observadas na resposta aos níveis de neurotrofinas e nos parâmetros comportamentais. As fêmeas suplementadas com AF apresentaram maior preservação dos níveis de BDNF e NGF no hipocampo, em comparação com os machos. Essa diferença pode estar relacionada a fatores hormonais e metabólicos específicos do sexo, que

modulam a expressão e a função das neurotrofinas durante o desenvolvimento (Gonçalves *et al.*, 2020). Estudos sugerem que os hormônios sexuais, como o estrogênio, exercem efeito regulatório sobre a síntese e liberação dessas proteínas, conferindo às fêmeas maior resistência aos danos induzidos pelo Poly(I:C) (Notaras *et al.*, 2015).

6.3.2 Implicações biológicas

Os achados do presente estudo reforçam a hipótese de que a suplementação materna com AF exerce um efeito neuroprotetor por meio da preservação das neurotrofinas, particularmente nas doses fisiológicas (5 mg/kg). A redução dos níveis de BDNF e GDNF, observada em grupos não suplementados ou expostos ao Poly(I:C), está associada a prejuízos no neurodesenvolvimento e na plasticidade sináptica, que são marcadores-chave na esquizofrenia (Brown e Derkits, 2010). A suplementação adequada de AF, portanto, emerge como uma estratégia importante para mitigar os efeitos deletérios da ativação imunológica materna, ressaltando a necessidade de ajustes individualizados nas doses para otimizar os benefícios e evitar efeitos adversos (Barua *et al.*, 2014).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo confirmam a relevância do ácido fólico (AF) como um agente neuroprotetor, especialmente em cenários de ativação imunológica materna, como demonstrado pelo modelo experimental com Poly(I:C). A suplementação materna com AF apresentou efeitos positivos significativos, evidenciados pela melhora em parâmetros comportamentais sociais e cognitivos na prole, além da preservação de marcadores bioquímicos, como as neurotrofinas (BDNF, NGF e GDNF) e proteínas associadas à plasticidade cerebral. Esses achados reforçam a hipótese de que o AF exerce um papel crucial na mitigação dos impactos deletérios de fatores ambientais e inflamatórios durante o neurodesenvolvimento, atuando como um modulador essencial desses processos.

A análise dose-dependente revelou diferenças relevantes entre as doses avaliadas. A dose de 5 mg/kg demonstrou maior eficácia e consistência nos benefícios neuroprotetores, especialmente no desempenho comportamental e na preservação dos níveis de neurotrofinas. Em contrapartida, a dose mais elevada (10 mg/kg) apresentou respostas menos consistentes e, em alguns casos, indicou potenciais efeitos adversos em parâmetros específicos, como a memória de curto prazo. Esse achado ressalta a importância de abordagens individualizadas na suplementação de AF, com uma atenção especial à dose adequada, a fim de maximizar os benefícios preventivos e minimizar os riscos associados ao consumo excessivo.

Este estudo contribui significativamente para o avanço do conhecimento sobre as interações entre fatores nutricionais e transtornos neuropsiquiátricos, oferecendo evidências robustas que fundamentam a importância de políticas públicas voltadas à saúde materno-infantil. Estratégias como a fortificação de alimentos e a conscientização sobre a suplementação adequada de AF devem ser mantidas e aprimoradas, levando em consideração as nuances de dosagem e os impactos biológicos evidenciados neste trabalho.

Entretanto, permanecem questões em aberto que exigem investigação futura, incluindo a elucidação dos mecanismos moleculares específicos envolvidos na relação dose-resposta do AF e suas interações com fatores genéticos e ambientais. Além disso, estudos adicionais devem explorar os efeitos de longo prazo da suplementação de AF, bem como sua influência em diferentes estágios do desenvolvimento e em populações de risco.

Dessa forma, este estudo não apenas fornece insights clínicos relevantes para a suplementação de AF durante a gestação, mas também abre novas perspectivas para pesquisas futuras que aprofundem a compreensão das intervenções nutricionais no contexto de transtornos do neurodesenvolvimento, contribuindo para estratégias mais eficazes de prevenção e manejo dessas condições.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, A; Pinto, SC.; Oliveira, RS. Animais de Laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: **Editora FIOCRUZ**, 2002. 388 p. ISBN 85-7541-015-6.

Barua S, Kuizon S, Junaid MA. Folic acid supplementation in pregnancy and implications in health and disease. **J Biomed Sci**. 2014; 21 (1): 77. doi: 10.1186/s12929-014-0077-z.

Bestetti, JM; Ayub, M; Walker da Silva, ME; Souza, MCM; Lutz, B; Silveira, DS. Suplementação de ácido fólico na gravidez: uma revisão de literatura sobre dosagem e consequências do uso excessivo. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2014

Bhatia, J; Bhutta, ZA; De Oliveira, L; Spiazzi, CM; Bortolin, T; Canever, L; Petronilho, F; Mina, FG; Dal-Pizzol, F; Quevedo, J; Zugno, AI. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, 2009; 33(6): 1003–1008.

Bjørnebekk, A; Høiseth, G; Hov, H; Grønli, J; Wainer, IW; Murison, R; Helle, KB. The role of serotonin in the antidepressant effects of folic acid supplementation in rodent models of depression. **Neuroscience Letters**, 2015; 600: 116-122.

Brown, A. S., & Derkits, E. J. Prenatal infection and schizophrenia: A review of epidemiologic and translational studies. **American Journal of Psychiatry**, 2010. 167(3), 261–280.

Budni, J., Zomkowski, A. D., Engel, D., Santos, D. B., Dos Santos, A. A., Moretti, M., & Rodrigues, A. L. S. Folic acid prevents depressive-like behavior and hippocampal antioxidant imbalance induced by restraint stress in mice. **Experimental Neurology**, 2012.

Buffington SA, Di Prisco GV, Auchtung TA, Ajami NJ, Petrosino JF, and Costa-Mattioli M (2016). Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring. *Cell* 165, 1762–1775. [PubMed: 27315483]

Caffrey, A; Irwin, RE; McNulty, H; Strain, JJ; Lees-Murdock, DJ; McCaffrey, TA; Hoey, L; Ward, M. Gene-specific DNA methylation in newborns in response to folic acid supplementation during the second and third trimesters of pregnancy: epigenetic analysis from a randomized controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2018; 107(4): 566–575.

Calça, LM; Santos, AF; Nunes, ML; Ribeiro, TP; Oliveira, KS; Almeida, JA. Análise da correlação do uso excessivo de ácido fólico na gravidez com o Transtorno do Espectro Autista (TEA). **Research, Society and Development**, 2024; 13(8): e7913846564

Canever L, Oliveira L, D'altoe De Luca R, Correa PT, De BFD, Matos MP, Scaini G, Quevedo J, Streck EL, Zugno AI. A rodent model of schizophrenia reveals increase in creatine kinase activity with associated behavior changes. **Oxid Med Cell Longev**. 2010 ;3(6):421-7.

Chemin, a. E.; martiniano porcelli, k.; felipe souza dos santos, j. E.; sales guimarães, a.; rodrigues mendes medeiros, a.; de moura lima, g.; gomes bernardo saraiva, l. N.; gomes ferreira santos, m. J.; lopes cordeiro, m. V.; leituga de carvalho cavalcante, r.; abreu tsutsumi, a.; silva prado, m. Associação entre suplementação de ácido fólico na gravidez e risco de transtorno do

espectro do autismo: Uma Revisão Integrativa. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 1689–1699, 2024. DOI: 10.36557/2674-8169.2024v6n5p1689-1699. Disponível em: <https://bjih.emnuvens.com.br/bjih/article/view/2175>

Chew, S; Fernandez-Martos, CM; Johnson, KA; Connor, B. Microglia, cytokines, and neural activity: the role of inflammation in social behaviors. **Frontiers in Neural Circuits**, 2021; 15: 641604. doi: 10.3389/fncir.2021.641604.

COELHO, RF. Combinational nanovaccine against colorectal cancer. 2021. **Tese de Doutorado**.

CORDERO, A. M.; et al. Recommendations to prevent and control folate-sensitive neural tube defects. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1352, n. 1, p. 1–20, 2015. DOI: 10.1111/nyas.12822.

Coyle, JT; Konopaske, GT. Neurochemical influences on brain development and risk for schizophrenia. **Development and Psychopathology**, 2015; 27(2): 431–449

CRIDER, K. S.; BAILEY, L. B.; BERRY, R. J. Folic acid fortification—its history, effect, concerns, and future directions. **Nutrition Reviews**, v. 69, n. 2, p. 17–30, 2011. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2010.00374.x.

Da Rocha, ALM; Fernandes, JN; Oliveira, TR; Santos, LFA; Lima, GRC; Carvalho, VAF. A relação da alimentação da gestante e a influência no desenvolvimento do bebê. **Research, Society and Development**, 2023; 12(12): e131121244065

Damázio, LS; Souza, VR; Almeida, TC; Pereira, JF; Nunes, FM; Andrade, LM. Alterações metabólicas e de micronutrientes em pacientes esquizofrênicos com ou sem uso de antipsicóticos: uma revisão narrativa. **Revista Higei@-Revista Científica de Saúde**, 2022; 4(8)

Desantis, DT; Schmaltz, LW. The mother-litter relationship in developmental rat studies: cannibalism vs caring. **Developmental Psychobiology**, 1984; 17(3): 255–262. Wiley. doi: 10.1002/dev.420170306.

Deshmukh, US; Katre, P; Yajnik, CS. Folic acid excess during pregnancy and offspring health. **Journal of Nutrition Biochemistry**, 2013; 24(7): 1295–1305

Deshmukh, U; Katre, P; Yajnik, CS. Influence of maternal vitamin B12 and folate on growth and insulin resistance in the offspring. **Journal of Nutrition Biochemistry**, 2013; 24(7): 1295–1305

Do Nascimento, KS. Neurotransmissor serotoninérgico em relação a doenças psíquicas e seus fatores nutricionais: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, 2022; 11(2): e56011226168.

Estes, ML; McAllister, AK. Maternal immune activation: implications for neuropsychiatric disorders. **Science**, 2015; 349(6245): 1201–1206

Gibbs, RA; Weinstock, GM; Metzker, ML; Muzny, DM; Sodergren, EJ; Scherer, S; et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. **Nature**, 2004; 428: 493–521

Giroto, F; Ota, VK; Ferreira, GQ; Dombrowski, SM; Santos, AC; Gomes, MV; Araujo, BHS; Ferreira, AT. High dose folic acid supplementation of rats alters synaptic transmission and seizure susceptibility in offspring. **Scientific Reports**, 2013; 3(1): 1465.

Gonçalves, M; Leão, F; Nunes, B; Almeida, J; Carvalho, D; Sousa, N. Sex differences in neurodevelopmental disorders: role of epigenetics and neurotrophins. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, 2020; 13(122): 1–12.

Gonçalves, MLS; Santos, AF; Nunes, LM; Ribeiro, TP; Oliveira, KS; Almeida, JA. A importância do ácido fólico e vitamina B12 na esquizofrenia. 2020.

Greenberg, JA; Bell, SJ; Guan, Y; Yu, YH. Folic acid supplementation and pregnancy: more than just neural tube defect prevention. [s.l.]: [s.n.], [s.d.], p. 8.

Guilarte, TR; Tseng, CH; Wang, C. Sex-specific differences in behavioral and neurochemical responses to environmental insults. **Neurobiology of Disease**, 2021; 147: 105182. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105182.

Haddad, FL; Patel, SV; Schmid, S. Maternal immune activation by poly I:C as a preclinical model for neurodevelopmental disorders: a focus on autism and schizophrenia. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2020; 113: 546–567.

Homberg, JR; Olivier, JD; Smits, BM; Mul, JD; Mudde, J; Verheul, M; Korte, SM; Baune, BT; Schmidt, MV; Joëls, M. Serotonin transporter deficiency and its impact on social behavior and the role of folate metabolism. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2010; 34(5): 687–698.

Howes, OD; McCutcheon, R; Inoue, H; Beasley, CL; Bossong, MG; Bloomfield, PS; Egerton, A; Zawadzki, P; Murray, RM. The role of inflammation in CNS disorders: implications for treatment. **Lancet Psychiatry**, 2015; 2(7): 580–592. doi: 10.1016/S2215-0366(15)00119-1.

Izquierdo, I; Furini, CR; Myskiw, JC. Fear memory. **Physiological Reviews**, 2016; 96(2): 695–750. doi: 10.1152/physrev.00018.2015.

Juckel, G; Schaub, A; Vauth, S; Dietrich, DE; Schmid, SM; Ebert, T; Teipel, S. Impact of Poly I:C induced maternal immune activation on offspring's gut microbiome diversity—implications for schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, 2021; 110: 110306

Kafami, M; Azadi, E; Ghasemzadeh, Z; Jafari, M; Bakhtiarian, A; Khodadadi, A. Effects of folate supplementation on stress-induced behavioral and biochemical changes in rats. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, 2020; 14: 112.

Kalhan, SC, ed. **Nestlé Nutrition Institute Workshop Series**. [s.l.]: S. Karger AG, 2013; 74: 145–156.

Kaplan, BJ; Rucklidge, JJ; Romijn, AR. The emerging field of nutritional mental health: inflammation, the microbiome, oxidative stress, and mitochondrial function. **Clinical Psychological Science**, 2019; 7(1): 48–63. doi: 10.1177/2167702618797104.

Kim, JH; Ham, BJ; Han, PL. Neural mechanisms of memory impairments in animal models of schizophrenia: focus on glutamate and dopamine signaling. **Current Neuropharmacology**, 2017; 15(1): 1–14

Kinkead, B; Selz, KA; Owens, MJ; Mandell, AJ. Algorithmically designed peptides ameliorate behavioral defects in animal model of ADHD by an allosteric mechanism. **Journal of Neuroscience Methods**, 2006; 151(1): 68–81.

Konycheva, G; Williams, PJ; Kippler, M; McArdle, HJ; McCarthy, A; Prentice, AM; Hennig, BJ; Moore, SE. Folic acid supplementation and its effects on brain plasticity and behavioral outcomes in rodents. **Developmental Neuroscience**, 2011; 33(5): 416–428

Krzyszton-Russjan, J; Kubis-Kubiak, A; Krzyszton, J; Grzelak, T. The role of folic acid in neuroprotection: from molecular mechanisms to clinical applications. **Nutrients**, 2020; 12(11): 3459. doi: 10.3390/nu12113459.

Levone, BR; Ali, SA; Gasperini, C; Jang, HJ; MacDonald, T; Murphy, VE; Hodgson, DM; Hannan, AJ. Folic acid mitigates neuroinflammatory responses and preserves cognitive function in rodent models of maternal immune activation. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2015; 49: 156–165.

Liu, X; Chen, Q; Zhou, Y; Li, W; Jiang, J; Zhang, X. IL-6 expression promoted by Poly (I: C) in cervical cancer cells regulates cytokine expression and recruitment of macrophages. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, 2020; 24(3): 2284–2293

Lopes, SR; Ferreira, DM; Brites, D. The role of folic acid in the modulation of oxidative stress and neuroinflammation in neurodevelopmental disorders. **Journal of Neural Transmission**, 2020; 127(12): 1677–1690. doi: 10.1007/s00702-020-02258-9.

Lowry, OH; Rosebrough, NJ; Farr, AL; Randall, RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 1951; 193(1): 265–275.

Magenis, ML; Fernandes, J; Nunes, W; Peres, A; Souza, JS; Dalle Molle, R; Silveira, PP. Metabolic programming in offspring of mice fed fructose during pregnancy and lactation. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, 2021; 1–14. Cambridge University Press (CUP). doi: 10.1017/s2040174421000519.

Maia, CS; Nunes, AF; Ribeiro, TP; Silva, JN; Santos, MM; Almeida, JA. Transtorno do espectro autista e a suplementação por ácido fólico antes e durante a gestação. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, 2020; 68: 231–243.

Mansbach RS, Geyer MA, Braff DL. Dopaminergic stimulation disrupts sensorimotor gating in the rat. **Psychopharmacology**. 1988; 94(4):507-14.

Marques, F; Sousa, JC; Palha, JA. Neuroinflammatory markers as mediators of behavioral changes in maternal immune activation models: implications for schizophrenia. **Trends in Neurosciences**, 2021; 44(4): 260–272. doi: 10.1016/j.tins.2020.12.008.

McNamara, RK; Liu, Y; Jandacek, R; Rider, T; Tso, P. Modulation of dopaminergic pathways by dietary folate: implications for behavior and cognition. **Neuropharmacology**, 2006; 51(3): 483–492

Meyer, U; Feldon, J; Schedlowski, M; Yee, BK. Towards an immuno-precipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2005; 29: 913–947.

Meyer, U., Feldon, J., & Dammann, O. Schizophrenia and autism: both shared and disorder-specific pathogenesis via perinatal inflammation? **Pediatric Research**, 2009. 65(5), 591–598.

Meyer, U; Schwendener, S; Feldon, J; Yee, BK. Prenatal and postnatal maternal contributions in the infection model of schizophrenia. **Experimental Brain Research**, 2006b; 173: 243–257.

Meyer, U; Nyffeler, M; Engler, A; Urwyler, A; Schedlowski, M; Feldon, J. The time of prenatal immune challenge determines the specificity of inflammation-mediated brain and behavioral pathology. **Journal of Neuroscience**, 2006;

Meyer, U; Engler, A; Weber, L; Schedlowski, M; Feldon, J. The contribution of maternal immune activation to the pathogenesis of schizophrenia: mechanisms and implications. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, 2016; 12: 475–485.

Mischoulon, D; Raab, MF; Friedman, S; Alpert, JE; Fava, M; Papakostas, GI. Role of folate in treating depression: a comprehensive review. **Journal of Clinical Psychiatry**, 2005; 66(4): 509–520

Nascimento, ET. Efeitos da dieta obesogênica e treinamento resistido de alta intensidade sobre os parâmetros metabólicos de ratas gestantes. 2023. **Trabalho de Conclusão de Curso**.

Neill, JC; Harte, MK; Haddad, PM; Lydall, ES; Dwyer, DM. Acute and chronic effects of NMDA receptor antagonists in rodents, relevance to negative symptoms of schizophrenia: a translational link to humans. **European Neuropsychopharmacology**, 2014; 24(5): 822–835

Niesink, RJ; Van Ree, JM. Involvement of opioid and dopaminergic systems in isolation-induced pinning and social grooming of young rats. **Neuropharmacology**, 1989; 28(4): 411–418

Notaras, M; Hill, R; van den Buuse, M. The BDNF gene Val66Met polymorphism and young-adult hippocampal neurogenesis: a review of experimental and human evidence. **Molecular Psychiatry**, 2015; 20(8): 955–962.

Oliveira, DPL. Treinamento resistido durante a gestação: um estudo sobre as repercussões maternas, placentárias e fetais. 2021. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco**.

Oliveira, L; Passos, EP; Silva, T; Santos, DB; Gomes, M; Moreira, F. Maternal immune activation induces behavioral and neurochemical alterations in the offspring: the role of inflammation and oxidative stress. **Neuroscience Research**, 2021.

Oliveira, LS; Cunha Germano, BC; Kramer, DG. Importância do ácido fólico na gestação: revisão bibliográfica descritiva. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, 2021; 9(2): 1141–1146.

Pater, KR; Sobczynska-Majefora, A. The adverse effects of an excessive folic acid intake. **European Journal of Clinical Nutrition**, 2017; 71(2): 159–163.

Porsolt, RD; Le Pichon, M; Jalfre, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, 1977; 266(5604): 730–732.

Reynolds, E. Folate and neuropsychiatric disorders. Current Opinion in **Clinical Nutrition & Metabolic Care**, 2006; 9(4): 490–495.

Reynolds, E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. **The Lancet Neurology**, 2006; 5(11): 949–960

Rezin, GT; Cardoso, MR; Gonçalves, CL; Klamt, F; Petronilho, F; Streck, EL. Effect of folic acid on mitochondrial function in the brain. **Neurochemical Research**, 2013; 38(10): 2156–2163.

Roffman, JL; Brohawn, DG; Friedman, JS; Dyck, LH; Wilhelm, S; Smoller, JW; Goff, DC. Folate supplementation improves cognitive function and modulates synaptic connectivity in animal models of psychiatric disorders. **Biological Psychiatry**, 2011; 69(6): 490–497.

Romero-Miguel, D; Martínez-Alarcón, L; Alfaro-Cervello, C; Navarro-Sanchez, J; Cañas, N; Garcia-Verdugo, JM; Molina-Holgado, F; Molina-Holgado, E. N-acetylcysteine during critical neurodevelopmental periods prevents behavioral and neurochemical deficits in the Poly I:C rat model of schizophrenia. **Translational Psychiatry**, 2024; 14(1): 14.

Salum, C; Raisman-Vozari, R; Michel, PP; Zanardo Gomes, M; Mitkovski, M; Ferrario, JE; Ginestet, L; Del Bel, EA. Modulation of dopamine uptake by nitric oxide in cultured mesencephalic neurons. **Brain Research**, 2008; 1198: 27–33.

Santos, MC; Ferreira, LS; Monteiro, SC. Neurotrophins and the maintenance of cognitive function in inflammatory conditions. **Neuroscience Letters**, 2021; 741: 135487. doi: 10.1016/j.neulet.2020.135487.

Sarmah, S; Muralidharan, P; Marrs, JA. Common congenital anomalies: environmental causes and prevention with folic acid containing multivitamins. **Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews**, 2016; 108(3): 274–286.

SILVA, J. B. De M. **A correlação do excesso de ácido fólico na gestação e o transtorno do Espectro Autista (TEA)**. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 05, Ed. 12, Vol. 09, pp. 152-166. Dezembro de 2020. ISSN: 2448-0959, Link de acesso: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/acido-folico>, DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/saude/acido-folico

Schneider, T; Przewlocki, R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. **Neuropsychopharmacology**, 2005; 30(1): 80–89.

Selhub, J; Bagley, LC; Miller, J; Rosenberg, IH. The role of homocysteine and folate in cognitive impairment and neuropsychiatric disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2007; 10(6): 659–666.

Seshadri, S; Passero, P; Presti, P; Naidu, R; Phan, A; Dedic, N; Do, KQ; Lüscher, B. Altered brain BDNF signaling in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 2013; 18(8): 871–878.

Sharma, S; Rakoczy, S; Brown-Borg, H. The role of growth and neurotrophic factors in aging. *Experimental Gerontology*, 2019; 127: 110722. doi: 10.1016/j.exger.2019.110722.

Silverman JL, Yang M, Lord C, and Crawley JN (2010). Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism. *Nat Rev Neurosci* 11, 490–502. [PubMed: 20559336]

Simpson, SJ; Clarke, R; Hudson, G; James, M; Thompson, M. Behavioral and neurochemical effects of folate supplementation in animal models. *Journal of Nutrition & Behavior*, 2012; 29(4): 234–241.

Sun, X; Li, Y; Zhang, Y; Zhu, L; Jiang, H; Zheng, P. Folic acid supplementation during pregnancy modulates dopaminergic pathways and reduces behavioral anomalies in animal models. *Neurobiology of Disease*, 2016; 85: 66–74.

Taylor, PV; Scott, CJ; Brown, RD; MacDonald, KB; Fleming, AS. Efeitos sexualmente dimórficos de um desafio imunológico pré-natal em brincadeiras sociais e expressão de vasopressina em ratos jovens. *Biology of Sex Differences*, 2012; 3: 1–9.

Thomas, AJ; Cooper, AJ; Martin, KS; Flynn, RM; Johnson, PL. Sex differences in behavioral responses to dietary interventions in rodent models. *Physiology & Behavior*, 2009; 97(4): 637–645.

Toivonen, KI; Lacroix, E; Flynn, M; Ronksley, PE; Oinonen, KA; Metcalfe, A. Folic acid supplementation during the preconception period: a systematic review and meta-analysis. *Preventive Medicine*, 2018; 114: 1–17.

Tsuchie, K; Miyaoka, T; Furuya, M; Liaury, K; Ieda, M; Wake, R; Horiguchi, J; Takechi, M. The effects of antipsychotics on behavioral abnormalities of the Gunn rat (unconjugated hyperbilirubinemia rat), a rat model of schizophrenia. *Asian Journal of Psychiatry*, 2013; 6(2): 119–123.

Uehara, SK; Rosa, G. Associação da deficiência de ácido fólico com alterações patológicas e estratégias para sua prevenção: uma visão crítica. *Revista de Nutrição*, 2010; 23: 881–894.

Vieira Júnior, JCV; Souza, MT; Santos, SB; Silva, MM; Almeida, LO. Avaliação do efeito de nanopartículas de albumina sérica bovina associadas ao ácido poliinosínico-policidílico poli (I:C) sobre o fenótipo de células dendríticas. 2021.

Wald, N. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 1991; 338(8760): 131–137.

Waly, MI; Al-Farsi, YM; Essa, MM. Folic acid and its impact on neurodevelopment and neuropsychiatric disorders. *Nutrients*, 2018; 10(11): 1728. doi: 10.3390/nu10111728.

Wiens, D; Desoto, M. Is high folic acid intake a risk factor for autism: a review. **Brain Sciences**, 2017; 7(12): 149

Wilson, RD; O'Connor, DL. Maternal folic acid and multivitamin supplementation: international clinical evidence with considerations for the prevention of folate-sensitive birth defects. **Preventive Medicine Reports**, 2021; 24: 101617

Wolff, T; Witkop, CT; Miller, T; Syed, SB. Folic acid supplementation for the prevention of neural tube defects: an update of the evidence for the US Preventive Services Task Force. **Annals of Internal Medicine**, 2009; 150(9): 632–639.

Wu, L; Sun, D; Tan, J. Protective effects of folic acid on neuroinflammation and synaptic deficits in neurodegenerative diseases. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2020; 85: 108456. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108456.

Zhang, Z; Ho, SY; Ma, X. Folic acid and cognitive function in schizophrenia: insights from animal models and clinical studies. **Journal of Psychiatric Research**, 2019; 111: 195–202. doi: 10.1016/j.jpsychires.2019.01.012.

Zhang, Z; Ho, SY; Ma, X. Neuroprotective effects of folate in psychiatric and neurodegenerative diseases: evidence from animal studies and clinical trials. **Neuroscience Research**, 2021; 167: 12–21. doi: 10.1016/j.neures.2020.12.005.

Zhao, T; Chen, Y; Liu, J; Shi, C; Zhu, C. Folic acid attenuates glial activation in neonatal mice and improves adult mood disorders through epigenetic regulation. **Frontiers in Pharmacology**, 2022; 13: 818423.

Zhao, Y; Wang, M; Zheng, X; Wang, J. Maternal folate supplementation mitigates offspring social behavior deficits via HPA axis regulation in a mouse model of neurodevelopmental disorders. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 2020; 86: 108489. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108489.

Zugno, AI; Freitas, AE; Budni, J; de Souza, LF; Del Fabbro, L; Gonçalves, CL; Dal-Pizzol, F. Folic acid administration prevents cognitive deficits and BDNF imbalance in the offspring of rats submitted to maternal immune activation. **Molecular Neurobiology**, 2016; 53(9): 6543–6553.

Zugno, AI; de Souza, LF; Budni, J; Mendes, C; Cattelan Souza, BC; Dal-Pizzol, F; Quevedo, J. Effect of folic acid on oxidative stress and behavioral changes in the animal model of schizophrenia induced by ketamine. **Journal of Psychiatric Research**, 2016; 81: 23–35.