

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

DJAN BARBOSA DE FREITAS

**O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O
PERÍODO GESTACIONAL EM MODELO DE DOIS HITS DE
ESQUIZOFRENIA EM RATOS.**

CRICIÚMA

2026

DJAN BARBOSA DE FREITAS

**O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O
PERÍODO GESTACIONAL EM MODELO DE DOIS HITS DE
ESQUIZOFRENIA EM RATOS.**

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

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

CRICIÚMA

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

F866e Freitas, Djan Barbosa de.

O efeito da suplementação de ácido fólico durante o período gestacional em modelo de dois hits de esquizofrenia em ratos / Djan Barbosa de Freitas. - 2026.

61 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2026.

Orientação: Alexandra Ioppi Zugno.

1. Ácido fólico - Efeito fisiológico. 2. Ácido fólico - Gravidez. 3. Esquizofrenia. 4. Ketamina. 5. Alterações comportamentais e bioquímicas. I. Título.

CDD. 22. ed. 615.328

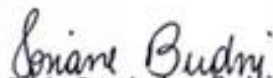
Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



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 Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 501

Com início às 15 (quinze) horas do dia 23 (vinte e três) de fevereiro de 2026 (dois mil e vinte e seis), realizou-se, na Sala 204/Bloco XXIA, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **DJAN BARBOSA DE FREITAS**, sob a orientação da Profa. Dra. Alexandra Ioppi Zugno, intitulada “**O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL EM MODELO DE DOIS HITS DE ESQUIZOFRENIA EM RATOS**”. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Jaqueline da Silva Generoso (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Profa. Dra. Samira da Silva Valvassori (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Prof. Dr. Diogo Domingui (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: **APROVADO**, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Os trabalhos foram concluídos às 17h (dezessete) 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, 23 (vinte e três) de fevereiro de 2026 (dois mil e vinte e seis).


Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Samiris Albano Pereira
Secretária do PPGCS

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), especificamente do centro de experimentação animal, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

RESUMO

A suplementação materna de ácido fólico (AF) atua de forma primordial no neurodesenvolvimento, pois sabe-se que essa vitamina exerce ação neuroprotetora no cérebro. Todavia, seu papel frente à esquizofrenia ainda permanece pouco esclarecido. Desse modo, este estudo investigou os efeitos da suplementação materna com AF (5 mg/kg), administrada da concepção ao final da lactação, sobre parâmetros comportamentais e bioquímicos nas ratas mães, bem como parâmetros comportamentais na prole adulta submetida a dois modelos animais de esquizofrenia, sendo Poly (I:C) na fase pós-natal e cetamina na vida adulta. Ratas Wistar receberam AF na dose de 5mg/kg ou água diariamente via oral durante 3 semanas antes da gestação e na fase de gestação e lactação. Após o parto, as ratas mães foram avaliadas por meio de testes comportamentais de atividade locomotora e de nado forçado, além da análise dos níveis de monoaminas no hipocampo. A prole de machos e fêmeas foi avaliada na vida adulta, sendo que foram utilizados dois “hits” (Poly I:C e Cetamina) para indução do modelo de esquizofrenia. Primeiramente, o antagonista viral Poly (I:C) foi usado na fase pós-natal (5 a 7 dias de vida pós-natal na dose de 2 mg/kg, via intraperitoneal, i.p.). Aos 60 dias de vida, estes mesmos animais receberam cetamina, na dose de 25mg/kg durante 7 dias, via i.p.. Após a última injeção de cetamina, a prole adulta de machos e fêmeas foi submetida aos testes comportamentais de atividade locomotora, interação social e esquivas inibitórias. Os resultados nas ratas mães apontam que o AF não alterou a atividade locomotora e não mimetizou o comportamento tipo-depressivo. Quanto aos níveis de dopamina e serotonina nenhuma alteração foi observada nas mães. Na prole adulta, a Poly (I:C) pós-natal não produziu déficits significativos, por outro lado, a cetamina induziu hiperlocomoção, redução do comportamento exploratório, prejuízo social e déficits de memória, especialmente na prole de fêmeas. A suplementação materna com AF reduziu a latência social em ambos os sexos e preservou diferentes formas de memória, principalmente na prole de machos, embora não tenha prevenido os efeitos da cetamina. Em conjunto, os resultados indicam que o AF materno exerce efeitos neuroprotetores sobre parâmetros comportamentais na prole, especialmente em relação à cognição e interação social. Contudo, tais benefícios não foram suficientes para prevenir os prejuízos induzidos pela cetamina na vida adulta, sugerindo possivelmente que danos glutamatérgicos tardios se sobrepõem aos mecanismos de proteção estabelecidos pelo AF no período gestacional. Os achados reforçam a importância da suplementação perinatal de AF, ao mesmo tempo em que evidenciam a relevância do sexo e da natureza do dano neurodesenvolvimental no desfecho comportamental e cognitivo da prole.

Palavras-chave: Ácido fólico; Fase gestacional; Poly (I:C); Cetamina; Modelo animal de esquizofrenia; Alterações comportamentais e bioquímicas.

ABSTRACT

Maternal folic acid (FA) supplementation plays a crucial role in neurodevelopment, as this vitamin is known to exert neuroprotective effects in the brain. However, its role in schizophrenia remains insufficiently elucidated. Therefore, the present study investigated the effects of maternal FA supplementation (5 mg/kg), administered from preconception through the end of lactation, on behavioral and biochemical parameters in dam rats, as well as on behavioral outcomes in adult offspring subjected to a two-hit animal model of schizophrenia consisting of postnatal Poly (I:C) exposure and ketamine administration in adulthood. Female Wistar rats received FA (5 mg/kg) or water orally once daily for three weeks prior to mating and throughout gestation and lactation. After delivery, dams were assessed using locomotor activity and forced swimming tests, and hippocampal monoamine levels were measured. Male and female offspring were evaluated in adulthood following a two-hit protocol to induce schizophrenia-like alterations. First, the viral mimetic Poly (I:C) (2 mg/kg, intraperitoneally) was administered during the early postnatal period (postnatal days 5–7). At 60 days of age, the same animals received ketamine (25 mg/kg, intraperitoneally) for seven consecutive days. Following the last ketamine injection, adult offspring of both sexes underwent behavioral assessments, including locomotor activity, social interaction, and inhibitory avoidance tests. In dams, FA supplementation did not alter locomotor activity nor induce depressive-like behavior. Additionally, no significant changes were observed in hippocampal dopamine or serotonin levels. In adult offspring, postnatal Poly (I:C) exposure alone did not produce significant behavioral deficits. In contrast, ketamine administration induced hyperlocomotion, reduced exploratory behavior, social impairment, and memory deficits, particularly in female offspring. Maternal FA supplementation reduced social latency in both sexes and preserved distinct forms of memory, especially in male offspring, although it did not prevent ketamine-induced alterations. Taken together, these findings indicate that maternal FA supplementation exerts neuroprotective effects on behavioral parameters in the offspring, particularly regarding cognition and social interaction. However, these benefits were insufficient to prevent ketamine-induced impairments in adulthood, possibly suggesting that late glutamatergic damage overrides protective mechanisms established by FA during the gestational period. These results reinforce the importance of perinatal FA supplementation while highlighting the relevance of sex differences and the nature of neurodevelopmental insults in determining behavioral and cognitive outcomes in the offspring.

Keywords: Folic acid; Gestational period; Poly (I:C); Ketamine; Schizophrenia animal model; Behavioral and biochemical alterations.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Ácido Fólico e sua importância na gestação	10
1.2 Ácido fólico materno, sistema nervoso e transtornos psiquiátricos e neurodesenvolvimentais	11
1.3 Epidemiologia e hipóteses associadas à esquizofrenia	13
1.4 Modelos animais de esquizofrenia	14
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Tipo de pesquisa	19
3.2 Características dos animais	19
3.3 Delineamento experimental	20
3.3.1 Suplementação com Ácido Fólico (AF)	23
3.3.2 Injeção de Poly (I:C)	23
3.4 Modelo animal de esquizofrenia induzido por cetamina	23
3.5 Análises Comportamentais	24
3.5.1 Análises comportamentais nas ratas Wistar mães	24
3.6 Análises Bioquímicas nas ratas mães	25
3.6.1 Dosagem de proteínas	25
3.6.2 Dosagem de monoaminas – CLAE	25
3.7 Análises Comportamentais na prole adulta	26
3.7.1 Atividade Locomotora	26
3.7.2 Interação Social	26
3.7.3 Esquiva Inibitória	27
3.8 Análise Estatística	28
4. RESULTADOS	30
4.1 Análises comportamentais e bioquímicas nas ratas mães	30
4.1.1 Atividade locomotora e Nado forçado nas mães	30
4.2 Análise Bioquímica nas ratas mães	31
4.2.1. Níveis de Neurotransmissores nas Ratas Mães	31
4.3 Testes Comportamentais da prole adulta	32

4.3.1 Atividade locomotora	32
4.3.2 Interação Social	34
4.3.3 Esquiva inibitória	35
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	47
7 REFERÊNCIAS	48
ANEXO A	61

1 INTRODUÇÃO

1.1 Ácido Fólico e sua importância na gestação

O folato é considerado a forma sintética da Vitamina B9, sendo um nutriente essencial, mas que não pode ser sintetizado pelo organismo, devendo ser obtido através da dieta ou por meio de suplementação. Essa vitamina é essencial para mulheres que estão grávidas ou planejam uma gestação (Greenberg *et al.*, 2011). Embora os termos folato e ácido fólico (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. O folato, entretanto, é encontrado de forma orgânica em alimentos como vegetais de folhas verdes, ervilhas, feijão, fígado bovino e frutas (Pater e Malefora, 2017; Sarmah, Muralidharan, Marrs, 2016). O folato apresenta diversas funções, atuando na síntese e reparo de ácidos nucleicos e na síntese de aminoácidos, em especial a metionina, um substrato fundamental para a regulação dos níveis de homocisteína. O acúmulo de homocisteína, por sua vez, está associado a defeitos congênitos, o que justifica a suplementação de AF no período preconcepção e gestacional (Samaniego-Vaesken, 2024).

A deficiência de AF, um desequilíbrio nutricional, parece ser a deficiência vitamínica mais prevalente no mundo, podendo atingir mais de 10% da população. Todavia, essa condição predomina em mulheres em idade reprodutiva, onde a prevalência pode chegar até 20%, estando associada a fatores como baixa idade materna, menor nível educacional e *status* socioeconômico desfavorável das mulheres. Adicionalmente, baixos níveis dessa vitamina estão relacionados a menor ingestão alimentar, à baixa absorção intestinal ou ao aumento da demanda metabólica, como na fase preconcepção e gestação, além das interferências medicamentosas (Baddman e Sujatha, 2025).

Na gravidez, há maior demanda de AF, pois essa vitamina é fundamental para o crescimento e o desenvolvimento do feto, visto que previne anemia materna e neuropatia periférica (Greenberg *et al.*, 2011). Ademais, falhas embrionárias relacionadas ao fechamento do tubo neural, que ocorre por volta de 21 a 28 dias após a concepção, resultam 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 meados dos anos 90 (1991), estudo confirmou que a suplementação de AF no

período periconcepcional reduzia consideravelmente o risco da prole desenvolver DTN, como espinha bífida, anencefalia, Encefalocele, dentre outros. Essa descoberta justificou o uso da suplementação de AF em mulheres em idade fértil que planejam ou têm potencial de engravidar (Wald *et al.*, 1991). A dose de AF atualmente recomendada para essas mulheres é de 400 µg (0,4 mg), uma vez ao dia, iniciando três meses antes da concepção, mantendo-se até o final da amamentação, sendo o objetivo principal a formação do tubo neural durante o primeiro trimestre e a prevenção de transtornos neurodesenvolvimentais (Wilson e O'Connor, 2021).

Apesar de suas amplas aplicações, o uso indiscriminado de AF também apresenta desafios. Estudo sugere que o consumo excessivo durante a gestação também pode estar associado ao aumento do risco de transtornos do espectro autista. 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 (Wiens e Desoto, 2017).

Neste sentido, visando a prevenção da deficiência de AF e dos DTN, políticas públicas em diversos países tornaram obrigatória a fortificação de alimentos (farinha de trigo e de milho, no Brasil) com AF, confirmando o impacto positivo e protetor dessa vitamina na saúde populacional. Contudo, as disparidades regionais na ingestão dietética e as variações individuais na metabolização do AF 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 sobre a suplementação adequada de AF (Silva, 2020).

1.2 Ácido fólico materno, sistema nervoso e transtornos psiquiátricos e neurodesenvolvimentais

A importância do AF no desenvolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC) está pautada no seu papel como cofator de processos fisiológicos, como a conversão de homocisteína em metionina pela metionina-sintase, reação envolvida diretamente 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 terceiro trimestre de gestação 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 neurodesenvolvimento fetal durante a organogênese (Caffrey *et al.*, 2018).

Está bem consolidado que a gestação é um período crítico no desenvolvimento humano, onde a interação entre fatores genéticos e ambientais desempenha um papel fundamental na formação do feto. Neste contexto, a nutrição materna torna-se crucial, ao influenciar não somente a saúde da mãe, mas o desenvolvimento e o bem-estar do feto (Rocha *et al.*, 2023). Portanto, o AF se destaca com um dos nutrientes essenciais nesta fase, devido sua importância para o binômio mãe-feto (Oliveira, Germano, Kramer, 2021).

O envolvimento do AF na regulação epigenética marcou um avanço significativo na biologia molecular. Durante o desenvolvimento fetal, os processos de metilação do DNA são dependentes de níveis maternos adequados de folato e este processo de metilação do DNA é fundamental para a ativação ou silenciamento de genes cruciais no desenvolvimento do SNC (Caffrey *et al.*, 2018). Desse modo, estudos têm revelado que a deficiência de AF durante períodos críticos pode aumentar a susceptibilidade da prole a transtornos psiquiátricos como esquizofrenia, Transtorno do espectro autista (TEA) e Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (Nascimento, 2022; Maia *et al.*, 2020).

A esquizofrenia, um transtorno complexo, é marcado por alterações cognitivas, emocionais e comportamentais, representando um desafio para a saúde pública devido à sua natureza crônica e incapacitante (Damázio *et al.*, 2022). Neste contexto, compreender os mecanismos subjacentes que relacionam os prejuízos da deficiência de AF ou benefícios da suplementação de AF durante a gestação para com o desenvolvimento da esquizofrenia é essencial, com intuito de prevenir e/ou auxiliar no tratamento eficaz desse transtorno. Em adição, estudo sinaliza 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).

Sendo assim, estudos em modelos animais tem demonstrado 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 (Wiens e Desoto, 2017). Como se sabe, o desenvolvimento humano depende da interação de variantes genéticas e ambientais, sendo a nutrição materna e o consumo adequado de AF, uma intervenção ambiental essencial para mitigar vulnerabilidades genéticas. Contudo, a suplementação de AF, por meio de sua ação na

regulação epigenética, é capaz de modular a expressão gênica, proporcionando um ambiente favorável ao neurodesenvolvimento fetal (Uehara *et al.*, 2010).

1.3 Epidemiologia e hipóteses associadas à esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico que afeta aproximadamente 23 milhões de pessoas no mundo, atingindo cerca de 1 em cada 233 indivíduos jovens, adultos. Em geral, a manifestação dos sintomas típicos ocorre na adolescência e início da vida adulta. Por este motivo, pessoas que apresentam o transtorno têm uma expectativa de vida reduzida em até nove anos quando comparado à população sadia (WHO, 2025).

Algumas teorias tentam elucidar a fisiopatologia da esquizofrenia, sendo a hipótese glutamatérgica uma das mais descritas na literatura e que explicaria em partes, os sintomas cognitivos e negativos do transtorno, além de contribuir para o entendimento da disfunção dopaminérgica (Frohlich e Van Horn, 2014). Entretanto, nenhuma causa específica está diretamente relacionada à esquizofrenia (WHO, 2025). Desse modo, o transtorno se caracteriza como uma condição psiquiátrica altamente heterogênea com variação entre os indivíduos que a experienciam e na manifestação dos sinais clínicos por estes apresentados. O transtorno é composto por sintomas primários, divididos em positivos, negativos, desorganização, déficit neurocognitivo e prejuízo social. Tais condições são acompanhados por sintomatologia secundária como distúrbios de humor, ansiedade, violência e comorbidades, além do uso abusivo de substâncias (cigarro, drogas, álcool) e da ideação suicida, condições que se relacionam aos graus diferentes do transtorno, os quais impactam a capacidade funcional do indivíduo (Striebel, 2025).

Convém mencionar que a esquizofrenia é um transtorno neuropsiquiátrico multifatorial, o qual envolve a interação entre fatores genéticos e ambientais, particularmente em fases críticas do neurodesenvolvimento. Gonçalves *et al.* (2020), inclusive, apontam que a deficiência de micronutrientes maternos, como AF, está fortemente associada a um maior risco de desenvolvimento da esquizofrenia nos filhos. Isso se deve as alterações epigenéticas, como a metilação do DNA e a regulação da expressão gênica, as quais são fundamentais para a formação e manutenção de circuitos neurais saudáveis (Gonçalves *et al.*, 2020).

Ademais, o AF é de suma importância para a metilação do DNA, sendo que as células da glia mostram-se afetadas pela sua deficiência e menor metilação. Essa hipometilação,

consequentemente, pode comprometer os transportadores de serotonina e dopamina, bem como a estrutura de receptores dopaminérgicos, o que contribui para o desenvolvimento de transtornos como a esquizofrenia.

A metilação de DNA é uma modificação epigenética essencial para o desenvolvimento e regulação do genoma normal. O folato é a vitamina chave de um dos subgrupos carbônicos usados na metilação de DNA (grupo metil = CH₃). Estudo prévio identificou a relação entre alterações no gene metileno-tetrahidrofolato redutase (MTHFR), fundamental para o metabolismo do folato, e as subseqüentes reações no cérebro e neurodesenvolvimento, o que possivelmente impacta na síntese de monoaminas, como norepinefrina, dopamina e serotonina. Sabe-se que duas variações genéticas mais comuns, C677T e A1298C, resultam em concentração sanguínea reduzida de folato e redução da atividade do gene MTHFR. Estes genes ainda têm forte associação com DTN e disfunções motoras, sendo a variante 677TT, polimorfismo do C677T, comprovada por sua maior relação causal com o desenvolvimento de esquizofrenia (Yoo, 2025).

Diante disso, a hipótese do neurodesenvolvimento da esquizofrenia estabelece que disfunções precoces no desenvolvimento neural aumentam o risco de psicose na vida adulta (Álvarez-Mejía, 2025). Sendo o AF essencial para o desenvolvimento cerebral do feto e, visto que sua deficiência pode contribuir para o espectro psicótico, a suplementação de AF materno é essencial para proteger o desenvolvimento cerebral e prevenir futuramente indivíduos vulneráveis à genética ou ao ambiente suscetível à manifestação da esquizofrenia (Freedman e Robert, 2022).

1.4 Modelos animais de esquizofrenia

Modelos animais de esquizofrenia são ferramentas pré-clínicas importantes, pois permitem averiguar a base neurobiológica dos transtornos. Estes modelos experimentais proporcionam estratégias para analisar a progressão da doença, além de possibilitarem a realização do acompanhamento de alterações estruturais e moleculares associadas à causa da doença (Jones, Watson, Fone, 2011). Segundo Carpenter e Koenig (2008), existem mais de 20 modelos animais de esquizofrenia, dos quais se destacam neste estudo o modelo desenvolvimental pós-natal e o induzido por drogas, como a cetamina.

O uso de substâncias imunogênicas que imitam infecções se constitui como uma alternativa para indução do modelo de esquizofrenia. Desse modo, a injeção de ácido ribonucleico (RNA) viral sintético, *Polyinosinic-polycytidylic acid*, também conhecido por Poly (I:C) é utilizado para induzir resposta imune inata antiviral (Solek et al., 2017). A Poly (I:C) é um análogo sintético de RNA fita dupla que imita alguns vírus, como o vírus influenza. Ao ativar o *Toll Like receptor 3* (TLR3) e ser reconhecido por este, a Poly (I:C) evoca uma resposta imune inata, com produção de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interferons tipo I (INF- α e INF- β) (Meyer, 2014; Picher *et al.*, 2014). Nesta perspectiva, estudos confirmam que a estimulação imune materna desencadeia na prole, alterações na comunicação e interação social, ansiedade, déficits no filtro sensorio-motor, prejuízos cognitivos e elevada sensibilidade às anfetaminas (Meyer, 2013, 2014; Meyer; Feldon; Fatemi, 2009; Patterson, 2009).

No presente estudo, o desafio imune com Poly (I:C) foi administrado na prole neonatal, diferentemente do modelo clássico de ativação imune materna, indicando que os efeitos observados na vida adulta são decorrentes de um dano imunológico pós-natal precoce. Modelos anteriores mostram que a injeção de Poly (I:C) em neonatos pode induzir na vida adulta, comportamentos tipo- esquizofrenia, como déficits sensorio-motor, alterações de memória e disfunções neuroquímicas no hipocampo. Estudo em camundongos, sinaliza que o tratamento neonatal com Poly (I:C) nos dias pós-natais 2 a 6 levou a déficits de reconhecimento de objetos, comportamento social alterado e redução na liberação de glutamato no hipocampo na fase adulta (Ibi *et al.*, 2009). Além disso, investigações no modelo pós-natal demonstraram que exposições a Poly (I:C) entre os dias 5 e 7 de vida na prole estão associadas a alterações comportamentais e ativação de vias imunes persistentes (Baghel *et al.*, 2018).

Tais achados sustentam a hipótese de que a ativação imune neonatal pode programar circuitos neurais ao longo do desenvolvimento, gerando vulnerabilidade para alterações comportamentais tardias. O dano neonatal, fase sensível do neurodesenvolvimento cerebral, pode ativar citocinas e inflamação neste cérebro em desenvolvimento, modulando receptores sinápticos e marcadores de neurogênese, conforme demonstrado por estudo que observou elevação de IL-1 β ou MCP-1 após administração de Poly I:C neonatal (Arrode-Brusés e Brusés, 2012). Nesta perspectiva, o uso da Poly I:C pós-natal no presente estudo é metodologicamente relevante para investigar mecanismos de esquizofrenia relacionados à ativação imune precoce, visto a validade do modelo.

Ademais, Khan e Powell (2017) tem revelado que a associação entre fatores de risco ambientais ou múltiplos fatores desenvolvimentais/ambientais e farmacológicos são capazes de aprimorar o modelo animal. Na esquizofrenia, por exemplo, a fim de compreender as alterações na anatomia cerebral e no comportamento, o foco em modelos desenvolvimentais de dois desafios parece uma estratégia promissora. Neste sentido, vale destacar que o período em que estes “hits” ou “desafios” ocorrem são cruciais para o contexto neurodesenvolvimental, uma vez que podem gerar diferentes resultados na prole. Estudos demonstram que desafios nas etapas iniciais do neurodesenvolvimento produzem alterações generalizadas, enquanto desafios posteriores acarretam mudanças mais específicas (Davis *et al.*, 2016; Pantelis *et al.*, 2003).

Desse modo, estudos pré-clínicos têm empregado a abordagem de dois “Hits” para investigar a hipótese de que alterações no início do desenvolvimento cerebral e na adolescência podem favorecer à esquizofrenia, uma vez que estes períodos são considerados críticos da fase neurodesenvolvimental (Keshavan e Horgarty, 1999). Segundo Giovanoli *et al.* (2013), o conceito pelo qual a infecção torna o organismo em desenvolvimento vulnerável à fatores ambientais, após o nascimento, é consistente com outros modelos, revelando efeito sinérgico entre danos patológicos pré-natais e agravos pós-natais, como exposição pré-natal à fatores nutricionais, uso de cannabis e estresse, os quais estão entre os fatores ambientais que aceleram ou elevam o risco para psicose em indivíduos geneticamente predispostos (Bolton *et al.*, 2012; Davis *et al.*, 2016).

Com base nos achados acima, este estudo considerou a associação de dois “hits” para induzir o modelo animal de esquizofrenia. Neste contexto, além da ativação imune pós-natal com Poly (I:C), a prole adulta, aos 60 dias de vida, também foi submetida à administração repetida de cetamina, a qual já está consolidada como um bom modelo animal utilizado para mimetizar a esquizofrenia (De Oliveira *et al.*, 2009; Canever *et al.*, 2010; Fraga *et al.*, 2011; Gama *et al.*, 2012; Monte *et al.*, 2013). A cetamina, um anestésico dissociativo, atua como antagonista não-competitivo do receptor glutamatérgico NMDA e como agonista do receptor de dopamina D₂, com uma afinidade ligeiramente menor pelos receptores 5-HT₂ (Kapur e Seeman, 2002; Kapur e Mamo, 2003).

Em animais, o bloqueio repetido do receptor NMDA pela cetamina, induz hiperatividade, dificuldades de interação social, déficits sensoriais e prejuízos de memória, os quais se assemelham aos sintomas da esquizofrenia em humanos, além de mimetizar alterações bioquímicas, como hiperfunção do glutamato, o que induz excitotoxicidade neural devido ao

excesso de glutamato, alteração em receptores nicotínicos de acetilcolina e hiperatividade na transmissão neuronal, semelhantes ao transtorno (Hunt *et al.*, 2006; Canever *et al.*, 2010).

Regiões cerebrais como córtex pré-frontal, hipocampo e estriado parecem estar associadas aos sintomas característicos da esquizofrenia. Os mecanismos pelos quais estas regiões estão envolvidas na fisiopatogenia do transtorno ainda não são completamente elucidados, mas acredita-se que a cetamina é capaz de modular, direta ou indiretamente, o aumento da atividade dopaminérgica e a diminuição de sinalização glutamatérgica cerebral. Ademais, a administração de cetamina também resulta em ativação da microglia, favorecendo a liberação de citocinas que geram estresse oxidativo. Evidência sugere que a esquizofrenia induzida por cetamina é mediada pela disfunção na neurotransmissão dopaminérgica e GABAérgica, principalmente no estriado, hipocampo e córtex pré-frontal (Benneth Ben-Azu, 2024).

Diante disso, estudos em roedores têm demonstrado que a suplementação materna de AF é capaz de exercer efeitos neuroprotetores no modelo animal de esquizofrenia, ao prevenir alterações comportamentais e neuroquímicas, como déficits de memória e sociabilidade (Canever *et al.*, 2018). Esses efeitos estão associados à capacidade do AF em reduzir marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo cerebrais, fatores que comprometem o desenvolvimento neural. Em adição, o papel neuroprotetor do AF se apresenta com uma perspectiva terapêutica para prevenir ou minimizar os impactos de fatores ambientais na etiologia da esquizofrenia (Zugno *et al.*, 2016; Gonçalves *et al.*, 2020).

Dessa forma, o presente estudo investigou os efeitos da suplementação de AF na dose de 5 mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais e bioquímicos nas ratas mães e em parâmetros comportamentais na prole de machos e fêmeas adulta, utilizando dois modelos animais de esquizofrenia induzidos pela Poly I:C na fase pós-natal e cetamina na vida adulta. Ao explorar essas interações, busca-se não apenas compreender os benefícios e limitações do AF, mas também contribuir para a construção científica que norteie práticas clínicas e políticas públicas voltadas para a saúde materno-infantil, bem como a prevenção de esquizofrenia na vida jovem-adulta.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da suplementação de AF na dose de 5 mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais e bioquímicos nas ratas mães e em parâmetros comportamentais na prole de machos e fêmeas adulta, utilizando dois modelos animais de esquizofrenia induzidos pela Poly I:C na fase pós-natal e cetamina na vida adulta.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar o impacto da suplementação materna de AF 5mg/kg sobre a atividade locomotora nas ratas mães após nascimento da prole.
- b) Avaliar o efeito da suplementação materna de AF 5mg/kg sobre sintomas semelhantes à depressão nas ratas mães após nascimento da prole, por meio do teste nado forçado.
- c) Analisar os níveis de 5-HT (serotonina) e dopamina na estrutura cerebral hipocampo em ratas mães suplementadas com AF 5mg/kg após nascimento da prole.
- d) Avaliar o efeito da suplementação materna com AF 5mg/kg na fase concepção, gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais (atividade locomotora, interação social e memória) na prole adulta de machos e fêmeas, submetida a modelos animais de esquizofrenia, através da administração de Poly I:C na fase pós-natal e de cetamina na vida adulta.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tipo de pesquisa

Este estudo se caracteriza como pré-clínico, comparando um grupo controle a um grupo submetido à suplementação de AF. O estudo foi desenvolvido no município de Criciúma, Santa Catarina, utilizando as instalações da Universidade do Extremo Sul Catarinense (Unesc), para a realização experimental. Foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Estudos em Animais (CEUA), sendo aprovado conforme protocolo de número 32/2023 (Anexo A).

3.2 Características dos animais

O experimento utilizou ratos heterogênicos da linhagem Wistar, fêmeas, com 60 dias de vida e peso corporal entre 250g a 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 e, assim, a fase de lactação. Após o desmame, a prole foi agrupada em gaiolas com 5 animais por caixa, organizados de acordo com o sexo e o grupo materno suplementado. 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.

3.3 Delineamento experimental

Os procedimentos experimentais foram realizados conforme 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. Foram utilizadas ratas Wistar para programação experimental, devido à sua semelhança genética com a espécie humana. 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 (41x34x16 cm), 5 ratos por caixa, exceto no período entre o acasalamento e o desmame.

Fizeram parte do estudo, 32 ratas Wistar matrizes, submetidas ao acasalamento, as quais foram acompanhadas antes, durante a gestação e na fase da lactação. A prole destas ratas foi utilizada na vida adulta. Conforme observado em estudos prévios, este número de fêmeas 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 e Schmaltz, 1984). As ratas Wistar adultas para acasalamento foram 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 Wistar foram separadas aleatoriamente em **dois grupos** para receberem os diferentes tratamentos: **Grupo controle (n=16) e Grupo suplementado (n=16) com AF na dose de 5mg/kg**. A suplementação foi administrada durante **3 semanas antes da gestação e na fase de gestação e lactação, totalizando 32 fêmeas**. Dessa forma, os grupos maternos do experimento, durante preconcepção, gestação e lactação, foram:

1) Grupo controle (n=16): ratas sem suplementação, as quais receberam água para controle.

2) Grupo AF 5 (n=16): ratas suplementadas com AF 5mg/kg.

As ratas gestantes permaneceram isoladas em caixas individuais e receberam o tratamento conforme o grupo ao qual pertenciam.

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. Após nascimento, 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) na fase pós-natal**, conforme os seguintes grupos:

1) Grupo controle + salina (n=12): prole cujas mães não receberam AF e a prole recebeu apenas solução salina, não sendo administrado Poly (I:C) na prole.

2) Grupo AF 5mg/kg + salina (n=12): prole de mães suplementadas com AF 5 mg/kg e a prole recebeu apenas solução salina, não sendo administrado Poly (I:C) na prole.

3) Grupo Controle + Poly(I:C) (n=12): prole de mães sem suplementação e a prole foi tratada com Poly (I:C) na fase pós-natal.

4) Grupo AF 5mg/kg + Poly (I:C) (n=12): prole de mães suplementadas com AF 5 mg/kg e a prole foi tratada com Poly (I:C) na fase pós-natal.

A prole de machos e fêmeas dos **grupos 3 e 4 receberam o análogo viral Poly (I:C)** 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 (i.p.).** A solução salina ou Poly(I:C) foi administrada na concentração de 0,1g/10g de peso corporal.

Ao completar 60 dias de vida, a prole de machos e fêmeas, foi novamente reorganizada em grupos (n=12) para indução do modelo animal de esquizofrenia por meio da administração de cetamina na vida adulta.

1) Grupo Controle + salina: prole cujas mães não receberam AF e a **prole recebeu apenas solução salina.**

2) Grupo Controle + Poly(I:C): prole de mães sem suplementação de AF e a **prole foi tratada com Poly (I:C) na fase pós-natal.**

3) Grupo Controle + Cetamina: prole cujas mães não receberam AF e a **prole recebeu apenas cetamina na vida adulta.**

4) **Grupo AF 5mg/kg + salina:** prole de mães suplementadas com AF 5 mg/kg e a prole recebeu apenas solução salina.

5) **Grupo AF 5mg/kg + Poly (I:C):** prole de mães suplementadas com AF 5 mg/kg e a prole foi tratada com Poly (I:C) na fase pós-natal.

6) **Grupo AF 5mg/kg + Cetamina:** prole cujas mães receberam AF 5mg/kg e a prole recebeu apenas cetamina na vida adulta.

7) **Grupo AF 5mg/kg + Poly (I:C) + Cetamina:** prole de mães suplementadas com AF 5 mg/kg e a prole foi tratada com Poly (I:C) na fase pós-natal e com cetamina na vida adulta.

Para compreender melhor a divisão dos grupos de mães e seu tratamento, bem como da prole na fase pós-natal e na vida adulta, a Figura 1 demonstra o delineamento realizado.

Figura 1: Delineamento experimental do estudo.

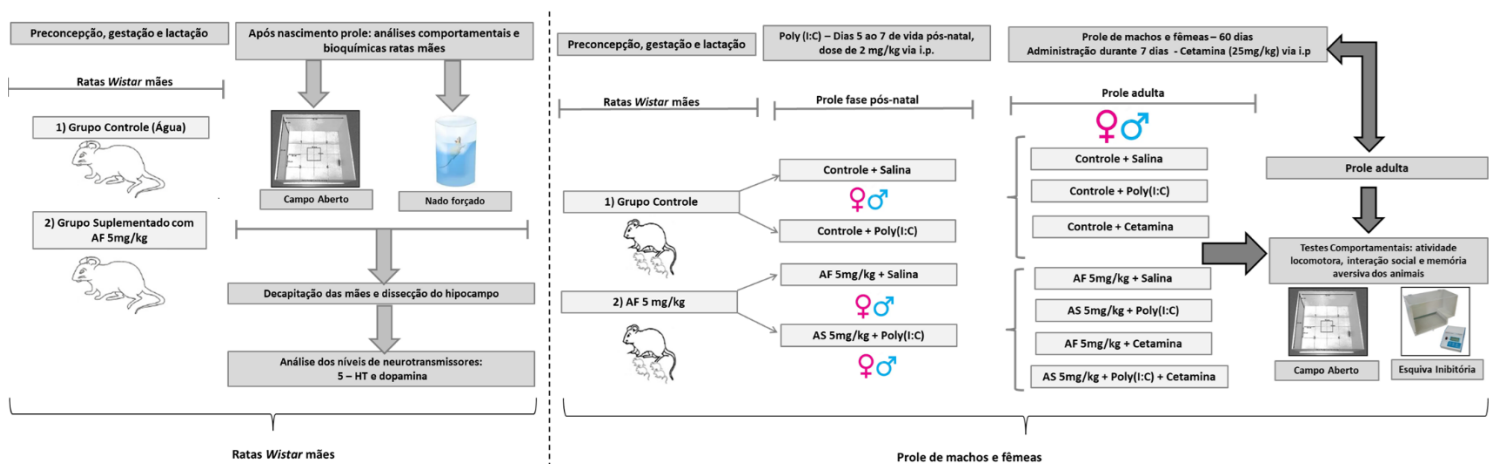


Figura 1: Delineamento experimental – Efeito da suplementação de AF na dose de 5 mg/kg durante as fases de preconcepção, gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais (atividade locomotora e nado forçado) e bioquímicos (níveis de serotonina e dopamina no hipocampo) das ratas mães, após nascimento da prole. A prole de machos e fêmeas também foi avaliada na vida adulta, sendo que foram utilizados dois “hits” (Poly I:C e Cetamina) para indução do modelo animal de esquizofrenia. Primeiramente foi usado um antagonista viral denominado Poly (I:C) na fase pós natal da prole (Poly entre os dias 5 a 7 de vida pós-natal da prole na dose de 2 mg/kg, via i.p.). Posteriormente, os mesmos animais, machos e fêmeas, receberam de forma repetida cetamina na dose de 25mg/kg, via i.p. na vida adulta. Após a última injeção de cetamina, a prole iniciou os testes comportamentais de atividade locomotora, interação social e esquiva inibitória. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

3.3.1 Suplementação com Ácido Fólico (AF)

Ratas Wistar foram suplementadas com água por via oral (v.o.) (Grupo controle) ou AF na dose de 5 mg/kg, sendo este preparado antes da administração e solubilizado em água em um volume de 1mL/100g. O AF foi administrado de forma oral, uma vez ao dia (período matutino), três semanas antes da gestação, seguindo durante a fase de gestação e lactação. A dose foi administrada conforme respectivo peso de cada rata, no volume de 1mL/kg. A dose empregada no estudo foi selecionada com base em pesquisas previamente realizadas por Budni *et al.* (2012), as quais avaliaram os efeitos de diferentes doses de AF no modelo animal de depressão, bem como no estudo conduzido por Zugno *et al.* (2016), o qual observou os efeitos do AF nas doses de 5 e 10 mg/kg no modelo animal de esquizofrenia. O fato desta dose de AF ter sinalizado resultados mais expressivos, conforme estudos acima, norteou sua escolha para o presente estudo.

O AF 5 mg/kg suplementado para as ratas Wistar correspondeu à dose na faixa de 400-800 µg/dia de AF para mulheres grávidas (Barua *et al.*, 2014), estando 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 (Wolf *et al.*, 2009).

3.3.2 Injeção de Poly (I:C)

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). Desse modo, a Poly (I:C) foi administrada do 5º ao 7º dia pós-natal na dose de 2 mg/kg, via intraperitoneal (i.p.). A solução salina ou Poly (I:C) foi administrada a 0,1g/10g de peso corporal. A dose de Poly (I:C) seguiu dados de estudos previamente realizados, conforme a literatura (Oliveira *et al.*, 2021; Nascimento, 2023).

3.4 Modelo animal de esquizofrenia induzido por cetamina

Ao chegar à fase adulta, a prole de machos e fêmeas foi subdividida em grupos conforme a dieta materna para indução do modelo animal de esquizofrenia através da administração de

salina ou cetamina (25 mg/kg de peso). Os animais receberam injeções intraperitoneais (i.p.) de cetamina (25 mg/kg) ou salina, uma vez ao dia, durante sete dias (tratamento repetido). A dose de cetamina foi preparada em solução salina no volume de 1mL/100g, mediante estudos realizados previamente (Becker e Grecksch, 2004; Imre *et al.*, 2006; Tomiya *et al.*, 2006; Canever *et al.*, 2010). Após a última administração de salina ou cetamina, tempo determinado conforme o protocolo de execução de cada teste, os animais foram submetidos às análises comportamentais: atividade locomotora, interação social e esquiva inibitória.

3.5 Análises Comportamentais

3.5.1 Análises comportamentais nas ratas Wistar mães

Os testes comportamentais, atividade locomotora e nado forçado, foram realizados com as ratas Wistar mães após o nascimento da prole. Também foram avaliados os níveis de dopamina e 5HT (serotonina) no hipocampo das ratas mães. A prole adulta induzida aos modelos animais de esquizofrenia, através da administração de Poly I:C na fase pós-natal e de cetamina na vida adulta, foi submetida aos testes comportamentais de atividade locomotora, interação social e esquiva inibitória após a última dose de cetamina.

3.5.1.1 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).

Assim, os animais foram individualmente submetidos à exploração em um campo aberto (*Open field*), correspondente a uma câmara de atividade locomotora com dimensões de 50 × 25 × 50 cm, durante um período de 15 minutos. O teste foi realizado na câmara de atividade locomotora, onde foram avaliadas a distância percorrida (cm) pelo animal (cruzamentos ou *crossing*) e o número de movimentos de elevação dos membros anteriores sem tocar nas paredes do campo aberto (Canever *et al.*, 2010).

3.5.1.2 Nado forçado

Para avaliar os sintomas semelhantes à depressão nas ratas mães expostas à suplementação de AF durante a 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 foi forçado a nadar novamente por 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).

3.6 Análises Bioquímicas nas ratas mães

3.6.1 Dosagem de proteínas

As proteínas foram mensuradas de acordo com o método de Lowry *et al.* (1951) e a albumina sérica bovina foi utilizada como padrão.

3.6.2 Dosagem de monoaminas – CLAE

A dosagem de monoaminas foi realizada utilizando o método cromatográfico proposto por De Benedetto *et al.* (2014) com adaptações. A separação cromatográfica foi realizada com coluna de fase reversa, Ascentis® C18 (250 mm x 2.1 mm 5 µm; Supelco®, USA), e sistema cromatográfico composto por uma bomba de distribuição da fase móvel LC-20AT acoplada a um autosampler SIL-20A_{HT}, e um detector de fluorescência RF-20A; Shimadzu (Kyoto, Japan), o software para aquisição de dados em cromatografia foi o LCSolution. O volume de injeção das amostras foi de 20 µL, com temperatura de análise de 35 °C. A taxa de bombeamento da fase móvel foi de 0,3 mL/min. A detecção por fluorescência, monitorados nos comprimentos de onda de excitação em 279 nm e de emissão 320 nm. O perfil da fase móvel foi isocrático: tampão acetato (pH 3,5, ácido acético 12 mM, 0,26 mM EDTA) e metanol (86:14, v/v). Os

picos foram identificados e quantificados por comparação do seu tempo de retenção na solução da amostra com a da solução padrão, por meio de curva de calibração.

3.7 Análises Comportamentais na prole adulta

Foram avaliados os parâmetros comportamentais de atividade locomotora, interação social e esquiva inibitória na prole adulta de machos e fêmeas submetida ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Poly (I:C) na fase pós-natal e por cetamina na vida adulta, 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.

3.7.1 Atividade Locomotora

Este teste comportamental foi realizado nas ratas mães após fase de lactação e também na prole adulta de machos e fêmeas, trinta minutos após a última administração de cetamina. Para a realização deste teste na prole adulta foi utilizada a mesma metodologia das ratas mães, conforme descrito acima.

3.7.2 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 uma caixa de material plástico, com dimensões de 43 x 28 x 15 cm, trinta minutos antes do início do experimento. Posteriormente, cada animal do grupo tratado foi colocado junto a 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). Foi 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).

3.7.3 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.

3.8 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.

A análise estatística da atividade locomotora das ratas mães, do nado forçado e dos níveis de monoaminas nas mães foi feito por meio do Teste t de *Student*. Para os dados provenientes do teste de campo aberto (atividade locomotora) na prole adulta, todas as variáveis apresentaram uma distribuição não normal e foram analisadas por meio do teste de *Kruskal-Wallis* seguido pelo *post-hoc* de Dunn.

Os dados da interação social foram avaliados pela ANOVA de uma via seguido pelo *post-hoc* de Tukey (Tempo de interação machos) e *Kruskal-Wallis* seguido pelo *post-hoc* de Dunn (Latência macho e fêmea e tempo de interação fêmea).

Para os dados da esquiva inibitória, todas as variáveis apresentaram uma distribuição não normal e duas análises diferentes foram conduzidas. Primeira análise foi realizada pelo teste de Friedman seguido pelo *post-hoc* de Dunn para avaliar as diferenças dentro do grupo, e uma segunda análise realizada pelo teste de *Kruskal-Wallis* seguido do *post-hoc* de Dunn para avaliar as diferenças entre os diferentes grupos. 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.

Todos os achados foram representados em barras que representavam mediana \pm intervalo interquartil para os dados não normais ou média \pm desvio padrão para os dados normais. Um valor de $p < 0,05$ foi considerada estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Análises comportamentais e bioquímicas nas ratas mães

4.1.1 Atividade locomotora e Nado forçado nas mães

A Figura 2 aponta os resultados da atividade locomotora (Fig. 2A e 2B) realizada nas ratas mães após o nascimento da prole. Nenhuma alteração no número de cruzamentos (*crossing* Fig. 2A) e levantamentos (*rearing* – Fig. 2B) foi observada nas ratas mães do grupo AF 5mg/kg. Teste t de *Student* confirmou que não houve alteração significativa para este parâmetro comportamental: *crossing* ($t=1.322$, $df=24$; $p=0.1986$) e *rearing* ($t=0.02595$, $df=24$; $p=0.9795$) no grupo materno.

Além disso, foi realizado nas ratas mães o teste de nado forçado, onde os parâmetros de imobilidade e escalada foram avaliados, conforme retratado abaixo na Figura 2C e 2D. Similar ao resultado do teste de campo aberto, o teste t de *Student* não revelou nenhuma diferença significativa entre os grupos experimentais para as variáveis imobilidade ($t=2.061$, $df=22$, $p = 0.0513$), e escalada ($t=1.936$, $df=22$, $p = 0.0658$).

Figura 2: Teste de atividade locomotora (Fig. 2A e 2B) e nado forçado (Fig. 2C e 2D) nas ratas mães após o nascimento da prole.

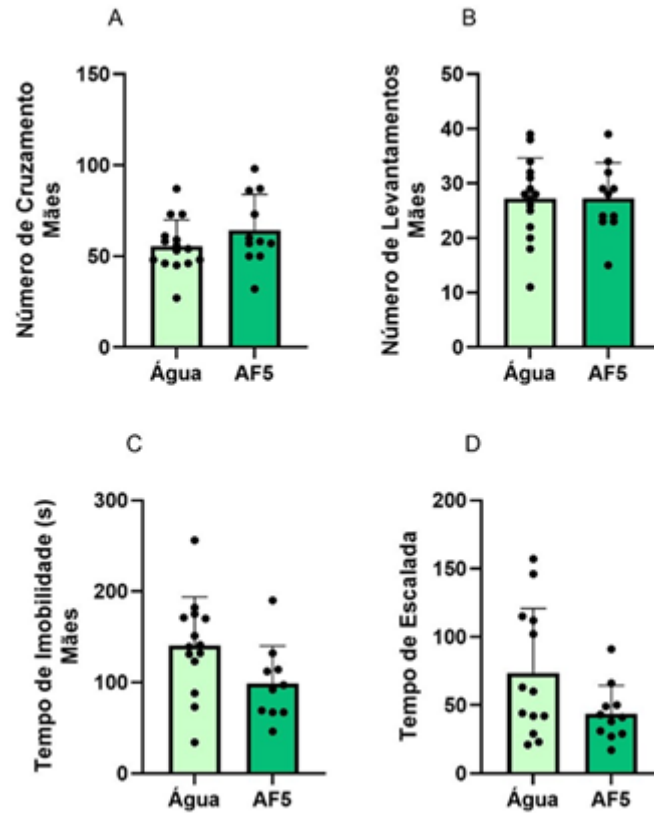


Figura 1: Teste de atividade locomotora e nado forçado nas ratas mães após o nascimento da prole. Painel 2A e 2B apresenta o número de cruzamentos (*crossing*) e levantamentos (*rearing*), respectivamente, das mães. Painel 2C e 2D retrata os parâmetros de imobilidade (Fig. 2C) e escalada (Fig. 2D) do teste nado forçado realizado nas ratas mães. O Teste *t de Student* foi utilizado para análise estatística, sendo valores significativos para $p < 0,05$, $n = 10-12$. Fonte: Dados do autor, 2025.

4.2 Análise Bioquímica nas ratas mães

4.2.1. Níveis de Neurotransmissores nas Ratas Mães

A Figura 3 apresenta os níveis de 5-HT (serotonina) e dopamina avaliados no hipocampo das ratas mães após o nascimento da prole. Não foi verificada alteração nos níveis destes neurotransmissores no grupo AF 5mg/kg comparado ao controle. Teste *T* de student confirmou que não houve diferença significativa nos níveis de serotonina ($t = 0.486$; $p = 0.6343$) e de dopamina ($t = 1.947$; $p = 0.0801$) neste grupo materno.

Figura 3: Níveis de 5-HT (serotonina) e dopamina avaliados no hipocampo das ratas mães expostas à suplementação de AF 5 mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação, após o nascimento da prole.

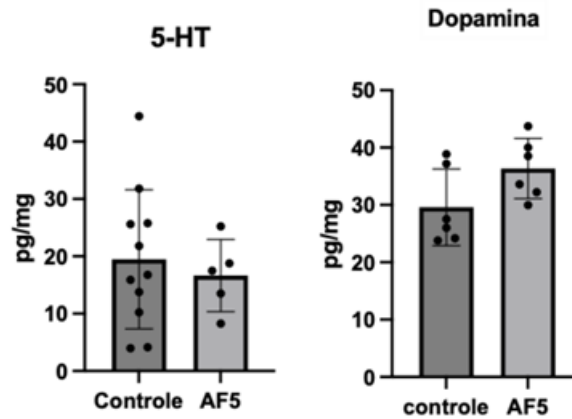


Figura 3: Níveis de 5 – HT (serotonina) e dopamina no hipocampo das ratas mães expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante a concepção, gestação e lactação, após o nascimento da prole e as análises comportamentais. O Teste t de Student foi utilizado para análise estatística, sendo valores significativos para $p < 0,05$, $n = 12$. Fonte: Dados do autor, 2025.

4.3 Testes Comportamentais da prole adulta

4.3.1 Atividade locomotora

A Figura 4 retrata a distância percorrida (*crossing*) em centímetros (cm) e o número de levantamentos (*rearing*) da prole adulta de fêmeas (Fig. 4 A e 4C) e de machos (Fig. 4B e 4D) respectivamente, cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação. A prole foi submetida ao modelo animal de esquizofrenia na vida pós-natal através da Polly I:C e na fase adulta por meio da cetamina. Como apontado pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do *post-hoc* de Dunn, foi observado um aumento da atividade locomotora (Fig. 4A – $H = 45.54$; $p < 0.0001$) e uma redução no número de levantamentos (Fig. 4C – $H = 68.79$; $p < 0.0001$) na prole de fêmeas do grupo cetamina quando comparado ao grupo controle.

Na Figura 4A, é possível verificar uma hiperlocomção nas fêmeas do grupo AF 5mg/kg+Cetamina e do grupo AF5 mg/kg+Poly+Cetamina comparado ao grupo controle. Tal achado sinaliza que o AF 5mg/kg parece não ter prevenido o aumento da atividade locomotora na vida adulta das fêmeas, induzido pelos modelos de esquizofrenia de forma isolada (apenas

cetamina) ou associada (dois modelos: Poly+Cetamina). Em contrapartida, na Figura 4C foi observada uma redução no número de levantamentos na prole de fêmeas do grupo AF 5mg/kg+Cetamina e do grupo AF 5mg/kg+Poly+Cetamina em relação ao grupo controle.

Quando avaliado os animais machos, a Figura 4B demonstra que nenhuma diferença estatística foi observada entre os grupos de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($H = 6.622$; $p = 0.3572$). Todavia, na Figura 4D pode-se observar uma diminuição no número de levantamentos no grupo cetamina comparado ao grupo controle e, do mesmo modo, uma redução neste parâmetro na prole dos grupos AF 5mg/kg+Cetamina e do grupo AF 5mg/kg+Poly+Cetamina em relação ao grupo controle ($H = 54.57$, $p < 0.0001$). Vale ressaltar que a cetamina parece ter induzido a hiperlocomoção de forma isolada (grupo cetamina), sendo que este efeito perdurou na vida adulta da prole de fêmeas submetida aos modelos de esquizofrenia (Poly+Cetamina), cujas mães foram expostas ao AF 5mg/kg, mas não na prole de machos.

Figura 4: Atividade locomotora realizada na prole adulta de fêmeas (Fig. 4 A e 4C) e de machos (Fig. 4B e 4D), submetida ao modelo animal de esquizofrenia (Poly e Cetamina), cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de preconcepção, gestação e lactação.

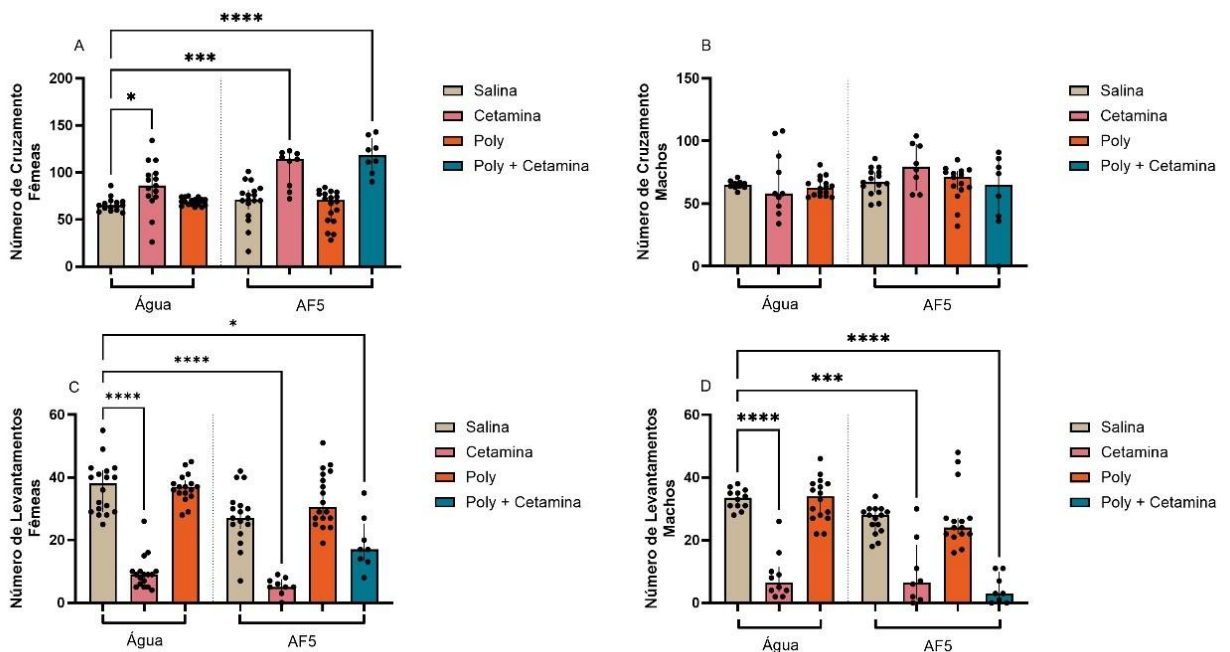


Figura 4: Distância percorrida em cm pela prole adulta de fêmeas (Fig. 4 A e 4C) e de machos (Fig. 4B e 4D) submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF mg/kg durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 10-12$. *diferente do grupo controle (Água+Salina), $p < 0,05$ segundo Kruskal-Wallis. ***diferente do grupo controle (Água+Salina), $p < 0,01$ segundo Kruskal-Wallis. Fonte: dados do autor, 2025.

4.3.2 Interação Social

A Figura 5 apresenta a latência (tempo para o primeiro contato entre os animais) e o tempo total de contatos sociais da prole adulta de fêmeas (Fig. 5A e 5C) e de machos (Fig. 5B e 5D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia (Poly e Cetamina), cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação.

As figuras 5A e 5B apontam uma diminuição no tempo de latência para a prole de fêmeas (Fig. 5A) e de machos (Fig. 5B) do grupo AF 5mg/kg em relação ao grupo controle de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($H = 17.28, p = 0.0083$; $H = 44.57, p < 0.0001$, respectivamente). Apesar da significância encontrada pelo teste de Kruskal-Wallis ($H = 20.54, p = 0.0022$), quando avaliado o tempo de contato, o *post-hoc* de Dunn demonstra nenhuma diferença significativa entre os grupos na prole de fêmeas. De modo contrário, a figura 5D sinaliza uma redução no tempo de contato para a prole de machos do grupo cetamina e do grupo AF 5mg/kg+Poly+Cetamina em relação ao grupo controle, sugerindo que possivelmente o efeito da cetamina, de forma isolada ou combinada à Poly, reduziu o número de contatos e predominou na prole, sendo que o AF materno não foi capaz de prevenir este efeito na vida adulta dos machos ($F(6, 90) = 7.452, p < 0.0001$).

Figura 5: Teste de interação social realizado na prole adulta de fêmeas (Fig. 5A e 5C) e de machos (Fig. 5B e 5D), submetida ao modelo animal de esquizofrenia (Poly e Cetamina), cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de preconcepção, gestação e lactação.

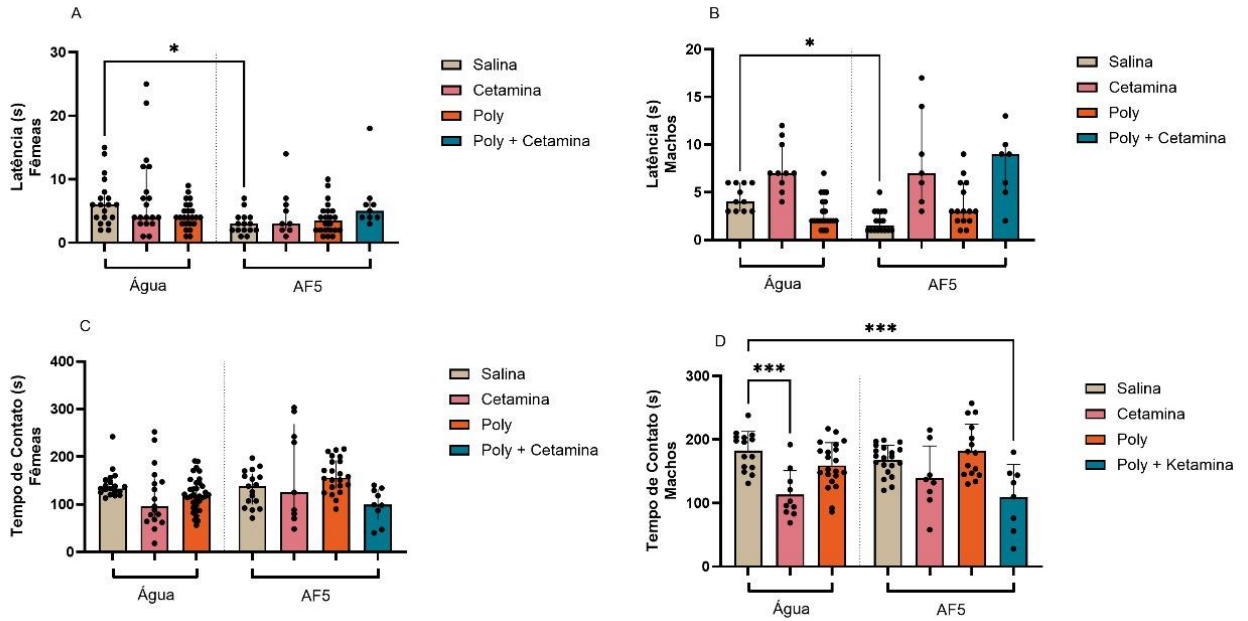


Figura 5: Latência e número total de contatos sociais da prole de fêmeas (Fig. 5A e 5C) e de machos (Fig. 5B e 5D), respectivamente, submetida ao modelo animal de esquizofrenia, cujas mães foram expostas à suplementação de AF durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média), sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 10-12$. Foi utilizado ANOVA de uma via seguido pelo post-hoc de Tukey (Tempo de interação machos) e Kruskal-Wallis seguido pelo post-hoc de Dunn (Latência macho e fêmea e tempo de interação fêmea). *diferente do grupo controle (Água+Salina), ***diferente do grupo controle (Água+Salina), $p < 0,01$. Fonte: Dados do autor, 2025.

4.3.3 Esquiva inibitória

A figura 6 apresenta os resultados do teste esquiva inibitória realizado na prole adulta de fêmeas (Fig. 6A) e de machos (Fig. 6B) submetida ao modelo animal de esquizofrenia (Poly e Cetamina), cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de preconcepção, gestação e lactação. Na Figura 6A foi verificado que as fêmeas dos grupos Controle, Poly e AF 5 mg/kg apresentaram uma diferença significativa na memória imediata, de curta e/ou de longa duração quando comparado ao treino do seu respectivo grupo ($p \leq 0,05$). As fêmeas do grupo controle e AF 5 mg/kg apresentaram aumento nas memórias imediata e de curta duração, enquanto no grupo Poly houve aumento nas memórias imediata e de curta duração, porém uma diminuição na memória de longa duração comparado ao seu respectivo treino. As fêmeas do grupo cetamina revelaram um prejuízo na memória de curto prazo em relação ao grupo controle. De modo similar, foi observado um dano nas memórias imediata e

de curta duração nas fêmeas do grupo AF 5mg/kg+Cetamina e AF 5mg/kg+Poly+Cetamina quando comparado ao grupo controle.

De acordo com a Figura 6B, pode-se verificar que a prole de machos dos grupos Controle, Poly e AF 5 mg/kg apresentou um aumento na memória imediata, de curta e de longa duração quando comparado ao treino do seu respectivo grupo ($p \leq 0,05$). Os machos do grupo AF 5 mg/kg+Cetamina e do grupo AF 5mg/kg+Poly preservaram a memória de longo prazo e a memória imediata, respectivamente, quando comparado ao treino do seu respectivo grupo ($p \leq 0,05$). Em contrapartida, os animais machos do grupo Cetamina apresentaram um prejuízo significativo nas memórias de curto e longo prazo em relação ao grupo controle. Esse dano na memória de longa duração também foi observado nos machos do grupo AF 5mg/kg+Poly e nas memórias de curta e longa duração da prole de machos do grupo AF 5mg/kg+Poly+Cetamina quando comparado ao grupo controle.

Comparação dentro do grupo pelo teste de Friedman: Fêmeas Salina + Água [$\chi^2 = 21.48$; $p < 0.0001$]; Cetamina + Água [$\chi^2 = 8.984$; $p = 0.0295$]; Poly + Água [$\chi^2 = 37.38$; $p < 0.0001$]; Salina + AF5 [$\chi^2 = 25.46$; $p < 0.0001$]; Cetamina + AF5 [$\chi^2 = 5.291$; $p = 0.1575$]; Poly + AF5 [$\chi^2 = 10.49$; $p = 0.0148$]; Cetamina + Poly + AF5 [$\chi^2 = 3.592$; $p = 0.3090$]; Machos Salina + Água [$\chi^2 = 25.19$; $p < 0.0001$]; Cetamina + Água [$\chi^2 = 3.580$; $p = 0.3106$]; Poly + Água [$\chi^2 = 21.38$; $p < 0.0001$]; Salina + AF5 [$\chi^2 = 20.24$; $p = 0.0002$]; Cetamina + AF5 [$\chi^2 = 10.34$; $p = 0.0159$]; Poly + AF5 [$\chi^2 = 12.38$; $p = 0.0062$]; Cetamina + Poly + AF5 [$\chi^2 = 3.115$; $p = 0.3742$]. Comparação entre grupos: Fêmeas Treino [H = 13.04, $p = 0.0424$]; Imediato [H = 30.87; $p < 0.0001$]; Curta [H = 47.66, $p < 0.0001$]; Longa [H = 29.54, $p < 0.0001$]; Machos Treino [H = 11.21; $p = 0.0821$]; Imediato [H = 20.19; $p = 0.0026$]; Curta [H = 38.43; $p < 0.0001$]; Longa [H = 45.37; $p < 0.0001$].

Figura 6: Teste esQUIVA inibitória realizado na prole adulta de fêmeas (Fig. 6A) e de machos (Fig. 6B) submetida ao modelo animal de esQUIZOFRENIA (Poly e Cetamina), cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de preconcepção, gestação e lactação.

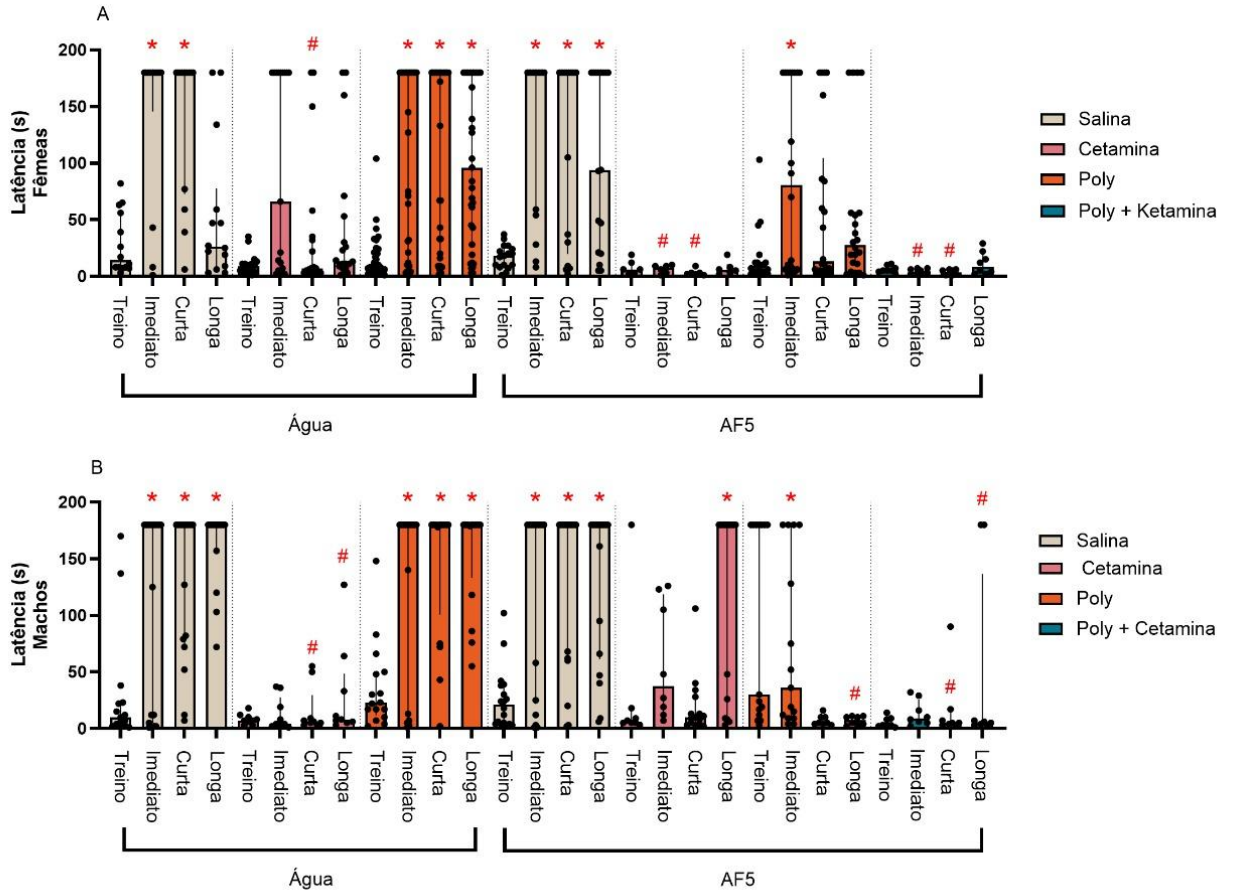


Figura 6: Efeito da suplementação de AF 5mg/kg durante a preconcepção, gestação e lactação na memória aversiva obtida através do teste esQUIVA inibitória, na prole adulta de fêmeas (Fig. 6A) e de machos (Fig. 6B) submetida ao modelo animal de esQUIZOFRENIA (Poly e Cetamina). Os valores foram expressos como média \pm EPM, sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$. $n=10-12$. *comparado ao treino do respectivo grupo; # comparado ao mesmo tipo de memória (curto e longo prazo) em relação ao grupo controle (Água+Salina). Fonte: Dados do autor, 2025.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou parâmetros comportamentais de atividade locomotora e nado forçado nas ratas mães suplementadas com AF na dose de 5mg/kg durante a concepção, gestação e lactação, após o nascimento da prole. No teste de atividade locomotora nenhuma alteração no número de *crossing* e *rearing* foi observada nas mães. Estes resultados corroboram estudo realizado por Simpson *et al.* (2012), o qual avaliou a relação entre suplementação de AF e atividade locomotora em modelos animais, não encontrando hiperlocomoção ou hipoatividade no grupo suplementado em condições normais. Esse resultado era esperado, visto que o AF atua no metabolismo neuronal, modulando a plasticidade sináptica sem causar efeitos excitatórios diretos (Roffman *et al.*, 2011). Em adição, parâmetros normais de atividade locomotora sinalizam para a capacidade do AF em estabilizar os sistemas dopaminérgicos, frequentemente implicados em comportamentos motores (McNamara *et al.*, 2006), visto sua ação neuroprotetora, mas não indutora de mudanças comportamentais (Konycheva *et al.*, 2011).

Do mesmo modo, o teste de nado forçado não revelou alterações na imobilidade e no tempo de escalada nas ratas suplementadas com AF 5mg/kg, sendo este um dado esperado no estudo, o qual sinaliza ausência de comportamento tipo-depressivo nas mães. É sabido que o AF previne comportamento tipo-depressivo, o qual já foi descrito por Kafami *et al.* (2020), onde a suplementação de AF em modelos de estresse crônico reduziu a imobilidade e aumentou comportamentos proativos, como escalada. Ademais, estudo conduzido por este grupo de pesquisa investigou parâmetros comportamentais nas ratas mães expostas à dieta deficiente em AF e suplementadas com diferentes doses de AF (5, 10 e 50mg/kg) nas fases de concepção, gestação e lactação. De acordo com o teste *Y maze*, as mães que receberam suplementação de AF nas doses de 5 e 10 mg/kg apresentaram uma melhora na memória espacial e no reconhecimento do ambiente novo, achado que confere uma ação neuroprotetora do AF sobre a cognição materna. Todavia, as mães tratadas com AF 50mg/kg tiveram pior desempenho cognitivo no teste, sugerindo um possível efeito tóxico do AF em alta dose (Canever *et al.*, 2017).

Neste contexto, está bem descrito que um ambiente intrauterino inadequado favorece o desenvolvimento de esquizofrenia na idade adulta (Brown e Patterson, 2012) e possíveis alterações neurobiológicas nos sistemas de neurotransmissores podem estar entre os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a este transtorno (Keshavan *et al.*, 2011). Assim, os sistemas de neurotransmissores, em especial glutamatérgico, GABAérgico, dopaminérgico e

serotoninérgico, estão conectados e agem simultaneamente, porém quando expostos a condições estressoras na fase neurodesenvolvimental, podem comprometer o funcionamento de interneurônios e induzir disfunção cognitiva, comportamental e social, através do funcionamento alterado de macro e microcircuitos neurais (Yang e Tsai, 2017) o que, conseqüentemente, converge para sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia.

Também foram investigados nas ratas mães, os níveis de neurotransmissores cerebrais, sendo que nenhuma alteração nos níveis de serotonina (5-HT) e dopamina foram observadas no hipocampo materno, apesar das mães terem recebido suplementação com AF (5 mg/kg) desde a concepção até a lactação. Uma explicação plausível para este achado é o fato do AF exercer efeitos neuromoduladores, particularmente por meio de vias epigenéticas e de metilação, as quais são dependentes do período gestacional, o que justifica a falta de alteração do conteúdo de monoaminas materno (Ly *et al.*, 2016). Além disso, a suplementação materna de AF foi associada ao aumento da neurogênese e sinaptogênese no hipocampo da prole, sem necessariamente provocar variações nos níveis de neurotransmissores nas mães (Wang *et al.*, 2019). Outro estudo mostrou que, em fêmeas adultas, diferentes doses de AF modulam a neurogênese hipocampal, reforçando que a ação do AF pode estar mais relacionada à regulação da plasticidade neural do que à síntese direta de monoaminas (Qiu *et al.*, 2019). Por outro lado, estudo que utilizou a suplementação excessiva de AF (50mg/kg) aponta efeitos excitotóxicos do folato, o qual afeta redes neurais, deixando-as mais susceptíveis à hiperatividade elétrica. Isso sugere que os impactos do AF no cérebro podem envolver mudanças complexas na função e na comunicação sináptica, e não apenas aumentar os níveis de dopamina ou serotonina (Giroto *et al.*, 2013).

De forma geral, nas ratas mães, a suplementação de AF não alterou a atividade locomotora e não induziu sintomas tipo-depressivos. Também não foi capaz de alterar os níveis hipocampais de dopamina e serotonina, sugerindo que o AF parece não ter exercido ações neuromoduladoras diretas sobre as monoaminas, mas possivelmente atua por mecanismos epigenéticos e de plasticidade sináptica na prole.

O presente estudo avaliou o efeito da suplementação de AF na dose de 5 mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação sobre parâmetros comportamentais da prole adulta de machos e fêmeas, sendo que foram utilizados dois *insights* (Poly I:C e Cetamina) para indução do modelo animal de esquizofrenia na prole. Utilizou-se primeiramente um antagonista viral ou Poly (I:C) (Vorhees *et al.* 2015) administrado nos primeiros dias de vida pós-natal da prole e, posteriormente aos 60 dias de vida, estes mesmos animais receberam de forma repetida

a cetamina, um antagonista do receptor NMDA, o qual é considerado um bom modelo farmacológico para indução de sintomas tipo esquizofrenia, pois apresenta validade de face, constructo e preditiva comprovada (De Oliveira *et al.*, 2009; Chindo *et al.*, 2012). Assim, o efeito isolado e combinado destes modelos na prole cujas mães foram expostas ao AF antes, durante e após a gestação está apresentado nesta pesquisa.

Quando avaliada a atividade locomotora na prole, se observou uma hiperlocomoção apenas nas fêmeas do grupo Cetamina e a ausência de diferença significativa no teste “crossing” entre os grupos de machos. Isso sugere que a atividade locomotora (*crossing*) não foi afetada pela suplementação materna com AF, nem pela Poly ou cetamina nos machos para este parâmetro. Esse dado corrobora estudo anterior, o qual indica que o gênero da prole parece ser um fator determinante das respostas locomotoras, uma vez que as fêmeas apresentaram níveis significativamente mais altos de atividade locomotora do que os machos (Howland *et al.*, 2012). Ademais, o efeito da suplementação com AF pode apresentar um viés relacionado ao sexo, onde machos tendem a demonstrar menor sensibilidade a alterações ambientais na fase neurodesenvolvimental quando comparado às fêmeas (Taylor *et al.*, 2012).

Em relação ao parâmetro *rearing*, se observou uma menor atividade exploratória (*rearing*) na prole de fêmeas e de machos do grupo Cetamina isolado. Tais achados se assemelham aos do estudo realizado por Zugno *et al.* (2017), onde animais adultos tratados com cetamina, cujas mães foram expostas à fumaça de cigarro durante a gravidez, apresentaram hiperlocomoção e menor *rearing*.

Foi verificado ainda que a prole de fêmeas e machos tratadas com Cetamina e Poly+Cetamina, cujas mães receberam AF 5mg/kg antes, durante e após a gestação, revelaram um menor comportamento exploratório (*rearing*), o qual não foi prevenido pela suplementação materna de AF, contrariando achados de Zhao *et al.* (2020), os quais sugerem que a suplementação de AF pode regular a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), atenuando respostas de estresse e reduzindo comportamentos hiperativos em modelos animais de esquizofrenia. Assim, os dados deste estudo sugerem uma ação predominante da cetamina na vida adulta dos animais, em especial nas ratas fêmeas, provavelmente devido à hipofunção do receptor NMDA, o qual prejudica circuitos cortico-estriatais, bem como uma interação entre os sistemas dopaminérgico e glutamatérgico (Zugno *et al.*, 2017).

Ademais, vale ressaltar que neste estudo a Poly (I:C) foi administrada diretamente na prole durante o período pós-natal, caracterizando um modelo imunológico agudo e diferente da ativação imune materna. Nesta condição, este estímulo inflamatório parece não ter sido

suficiente para produzir alterações comportamentais na prole no teste de campo aberto. Em contraste, a cetamina isolada ou combinada à Poly (I:C), induziu hiperlocomoção e redução de *rearing*, efeitos consistentes com sua ação como antagonista do receptor NMDA. Desse modo, os resultados indicam que, dos protocolos utilizados, o impacto comportamental da cetamina parece ter sido mais pronunciado e se sobrepôs aos efeitos da Poly (I:C) pós-natal, particularmente nas ratas fêmeas.

Outro parâmetro comportamental analisado foi o teste de interação social (latência e o tempo total de contatos sociais) na prole de machos e fêmeas submetida ao modelo animal de esquizofrenia (Poly I:C e cetamina), cujas mães foram expostas à suplementação de AF 5mg/kg durante as fases de concepção, gestação e lactação. Foi observado uma diminuição no tempo de latência para a prole de fêmeas e machos do grupo AF 5mg/kg em relação ao grupo controle, porém não houve um aumento significativo no número de interações sociais na prole deste grupo. Estes achados indicam que a suplementação materna com AF desempenhou uma melhora do comportamento social, ao reduzir o tempo de latência. Marques *et al.* (2021) apontam que o AF exerce efeitos neuroprotetores aos modular vias epigenéticas e inflamatórias que influenciam diretamente comportamentos sociais.

Do mesmo modo, Zhao *et al.* (2020) reforçam que o AF pode regular a atividade do eixo HPA, reduzindo respostas estressoras que contribuem para os sintomas negativos da esquizofrenia, como o isolamento social. Além disso, a suplementação de AF limitada ao período periconcepcional quando comparada à suplementação materna de AF desde a fase concepção até o final da gestação e/ou lactação pode ser benéfica para o desenvolvimento neurocomportamental da prole, atuando na melhora no desenvolvimento dos reflexos sensório-motores na infância e melhor capacidade de aprendizagem espacial e memória na adolescência e na idade adulta (Wang *et al.*, 2018).

Homberg *et al.* (2010) evidenciaram o papel do AF na regulação da neurotransmissão serotoninérgica, à medida em que Roffman *et al.* (2011) retratam que a suplementação de AF é capaz de melhorar a funcionalidade sináptica em modelos de comprometimento neuropsiquiátrico. Assim, os achados desta pesquisa sugerem que o AF materno na dose de 5mg/kg pode ter influenciado de forma positiva os circuitos dopaminérgicos e serotoninérgicos na prole, o que é consistente aos estudos acima, os quais destacam o papel desses sistemas na modulação de comportamentos sociais. Assim, a redução na latência observada na prole de machos e de fêmeas do grupo AF 5mg/kg pode refletir uma melhora na motivação social

induzida pela AF materno, mesmo que o número de interações não tenha sido alterado, reforçando a hipótese de que o folato desempenha um papel modulador na resposta social.

Neste estudo também se verificou que a prole de machos tratada com Cetamina isolada (grupo AF 5mg/kg+Cetamina) ou com Cetamina combinada à Poly I:C (grupo AF 5mg/kg+Cetamina+Poly), cujas mães foram suplementadas com AF 5mg/kg na concepção, gestação e lactação apresentou um menor número de contatos sociais. Isso sugere um efeito predominante da cetamina neste comportamento social dos animais machos, uma vez que o AF materno não foi capaz de prevenir tal condição na prole adulta. Tais achados reforçam o fato de que comportamentos sociais associados à disfunção glutamatérgica, induzidos pela cetamina na vida adulta da prole, podem ser menos responsivos à modulação nutricional materna.

Adicionalmente, está bem consolidado na literatura que o bloqueio do influxo de Ca^{2+} gerado pelos antagonistas do receptor NMDA, como a cetamina, induzem dificuldades de interação social em roedores, as quais se assemelham aos sintomas negativos da esquizofrenia em humanos (Becker e Grecksch, 2004), além da cetamina diretamente ser capaz de induzir o isolamento social em humanos (Micallef *et al.*, 2003). Assim, os resultados do presente estudo estão em conformidade aos observados anteriormente por este grupo de pesquisa (Gama *et al.*, 2012; Zugno *et al.*, 2013a; 2016; 2017), onde a administração de cetamina mimetizou o prejuízo social em ratos pela redução do número de contatos entre os animais.

Embora modelos de ativação imune materna por Poly (I:C) administrada durante a gestação apresentem evidências de prejuízos sociais na vida adulta (Juckel *et al.*, 2021; Romero-Miguel *et al.*, 2023), esse efeito parece ser menos expressivo quando a exposição ocorre no período pós-natal, conforme observado no presente estudo. De fato, Baghel *et al.* (2018, 2020) administraram Poly (I:C) na prole entre os dias 2 e 7 de vida pós-natal e verificaram prejuízos cognitivos em memória, mas não déficits sociais marcantes. De modo semelhante, Ibi *et al.* (2009), ao utilizar um protocolo neonatal repetido de Poly (I:C) entre os dias 2 e 6 de vida pós-natal, reportaram diferentes alterações comportamentais, porém com quadro social pouco comprometido quando comparado às alterações sociais observadas nos modelos pré-natais.

Essa inconsistência provavelmente se deve ao fato de que a janela crítica para o desenvolvimento dos circuitos neurais envolvidos no comportamento social é mais sensível à ativação imune durante o período pré-natal, fase em que ocorre intensa migração neuronal, maturação de interneurônios e organização microglial. Estudo realizado por Arrode-Brusés *et al.* (2012), inclusive, demonstrou que a resposta imune induzida pela Poly (I:C) na fase pós-

natal (4 a 8 dias de vida da prole) gera um aumento de citocinas pró-inflamatórias cerebrais, mas com perfil distinto e menos disruptivo do que aquele observado quando este estímulo ocorre na fase gestacional. Nesse contexto, os resultados do presente estudo são consistentes aos dados da literatura, à medida em que a administração pós-natal de Poly (I:C) isolada não foi capaz de induzir déficits sociais na vida adulta da prole.

Esta pesquisa também avaliou aspectos cognitivos de memória na prole adulta mediante realização do teste de esQUIVA inibitória, o qual segundo Izquierdo *et al.* (2016), é uma ferramenta amplamente validada para investigar a memória de trabalho, de curta e longa duração, sendo sensível a alterações na neuroplasticidade e no equilíbrio de neurotransmissores. No presente estudo, pôde-se observar que a suplementação materna com AF 5mg/kg preservou a memória imediata, de curto e longo prazo na prole de machos e fêmeas, comprovando o efeito persistente desta vitamina na vida adulta da prole.

Budni *et al.* (2012) apontam que a suplementação de AF atenua os impactos de processos neuroinflamatórios na formação da memória e exerce um efeito neuroprotetor ao modular efeitos inflamatórios e reduzir o estresse oxidativo, fatores críticos associados ao comprometimento da memória em modelos animais. Estudos prévios ainda sugerem que a AF na fase gestacional 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).

Em contrapartida, foi observado também que a prole de machos e fêmeas exposta à Poly I:C na fase pós-natal apresentou capacidade de aprendizado, ao preservar os diferentes tipos de memórias avaliadas, sugerindo um possível efeito compensatório da Poly I:C, apesar da sua ação neuroinflamatória (Zugno *et al.*, 2016). Os resultados encontrados sugerem que a exposição pós-natal à Poly I:C não necessariamente desencadeia déficits de memória aversiva e que fatores metodológicos e biológicos são capazes de modular o perfil cognitivo da prole. Desse modo, os achados desta pesquisa parecem contrastar estudos que relatam prejuízo cognitivo após desafios imunes precoces. Em modelo de exposição neonatal via Poly I:C, Baghel *et al.* (2018) observaram déficits de aprendizagem associados à alteração de genes de plasticidade sináptica (BDNF, Arc, Egr1) e o aumento de mediadores inflamatórios, sugerindo vulnerabilidade cognitiva após o dano imunológico.

Ademais, a literatura (Parlak *et al.*, 2021; Alitalo *et al.*, 2024) aponta que os efeitos da Poly (I:C) podem variar conforme a dose utilizada, o sexo e a linhagem do animal, a fase em que essa é administrada (pré-natal ou pós-natal) e o tipo de teste comportamental realizado, o

que pode resultar em diferentes desfechos como prejuízo, ausência de efeito ou mesmo respostas preservadas. López-Aranda *et al.* (2024) retratam ainda que a ativação imune pós-natal prejudica a memória de objeto apenas em determinados genótipos e sexos, reforçando que os impactos comportamentais não são uniformes. Além disso, Li *et al.* (2018) demonstram que ativações imunes materna e pós-natal afetam circuitos neurais distintos, contribuindo para diferenças nos desfechos comportamentais.

Os resultados deste estudo também revelaram que a prole adulta, tanto fêmeas quanto machos, exposta à cetamina de forma isolada na vida adulta apresentou prejuízo significativo nas memórias de curto e/ou longo prazo no teste esquivo inibitória. Esses achados são consistentes com estudos anteriores (Li *et al.*, 2020; Shi *et al.*, 2021), os quais demonstram que antagonistas de NMDA, como a cetamina, induzem déficits cognitivos em roedores adultos, afetando a memória aversiva, reconhecimento de objetos, memória de trabalho e flexibilidade cognitiva. Goulart *et al.* (2010) mostraram que a cetamina prejudica a consolidação de memória dependente do hipocampo, enquanto a administração crônica de cetamina por 28 dias reduziu subunidades de receptores glutamatérgicos (GluA1, GluN2B) e proteínas sinápticas (PSD-95, Syn) hipocampais, além de induzir um pior desempenho cognitivo nos animais em testes de aprendizagem e memória, indicando deterioração cognitiva duradoura (Cui *et al.*, 2020).

De forma geral, estes efeitos podem ser atribuídos à hipofunção glutamatérgica induzida pela cetamina, acompanhada de alterações na plasticidade sináptica e disfunção de interneurônios GABAérgicos, mecanismos amplamente relacionados ao modelo glutamatérgico da esquizofrenia (Enomoto e Floresco, 2009). Sendo assim, os achados deste estudo estão em concordância com resultados prévios deste grupo de pesquisa (Gama *et al.*, 2012; Zugno *et al.*, 2017), os quais sinalizaram um comprometimento na memória aversiva dos animais, comprovando que a cetamina é capaz de causar prejuízos cognitivos associados à perda de memória e percepção do animal.

Os resultados desta pesquisa parecem indicar na esquivo inibitória um padrão dependente do sexo e do tipo de interação entre AF, Cetamina e Poly nos grupos avaliados. Na prole de fêmeas expostas ao AF 5mg/kg+Cetamina ou AF 5mg/kg+Poly+Cetamina se observou um prejuízo nas memórias imediata e de curta duração, achado que converge com estudo de Oliveira *et al.* (2021), o qual sinaliza sobre a vulnerabilidade do gênero feminino a estressores imunológicos e a insultos glutamatérgicos durante o neurodesenvolvimento. Em adição, pôde-se perceber um efeito predominante da cetamina, uma vez que o AF materno não foi capaz de preservar a memória nas fêmeas adultas. De fato, a literatura indica que a cetamina, por

bloquear receptores NMDA no hipocampo, compromete processos iniciais de codificação e consolidação, sobretudo em fêmeas que apresentam maior sensibilidade a alterações neuroendócrinas e na neuroplasticidade sináptica (Nascimento *et al.*, 2023).

Em contraste aos dados acima apresentados, nos machos dos grupos AF 5mg/kg+Cetamina e AF 5mg/kg+Poly, houve a preservação da memória imediata e/ou de longo prazo, respectivamente, sugerindo um possível efeito neuromodulador do AF nessa combinação (AF, Cetamina, Poly em machos), visto que de forma isolada a cetamina causou dano cognitivo. Estudo realizado por Zhang *et al.* (2019) sugere que a suplementação gestacional com AF está 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). Budni *et al.* (2012) também reforçam que suplementação de AF pode exercer papel neuroprotetor ao modular processos inflamatórios e reduzir o estresse oxidativo, fatores críticos associados ao comprometimento da memória em modelos animais.

Todavia, vale ressaltar que a prole de machos do grupo AF 5mg/kg+Poly+Cetamina, assim como as fêmeas deste grupo, apresentou um prejuízo de memória (de curta e longa duração). Estes resultados indicam que a cetamina administrada na prole adulta parece ter sido responsável pelo impacto cognitivo, em especial nas fêmeas, quando comparada a Poly (I:C) pós-natal, o que explica seu efeito predominante no dano de memória, seja isolada ou combinada a Poly, na presença ou ausência de AF materno, o qual não preveniu esse dano. Por fim, ao avaliar a resposta entre machos e fêmeas, observou-se comportamentos distintos na esQUIVA inibitória, atribuídos também aos hormônios sexuais no neurodesenvolvimento (Oliveira *et al.*, 2021).

Do mesmo modo, na prole adulta verificou-se que a administração pós-natal de Poly (I:C) isolada não foi suficiente para induzir alteração motora, social ou cognitiva marcante, reforçando que o período pós-natal imediato representa uma janela de menor vulnerabilidade para o comprometimento social, sendo este mais evidente em modelos pré-natais de ativação imune. Em contraste, a cetamina administrada na vida adulta mostrou maior impacto comportamental na prole adulta, particularmente de fêmeas, mimetizando sintomas como hiperlocomoção, redução do comportamento exploratório e prejuízo nas memórias de curta e longa duração, reafirmando seu papel como potente indutor de disfunção glutamatérgica e modelo válido para sintomas positivos, negativos e cognitivos associados à esquizofrenia.

De forma geral, a prole de fêmeas se mostrou mais vulnerável aos danos neurobiológicos induzidos pela combinação de Poly (I:C) e cetamina, apresentando

hiperlocomoção, redução mais acentuada de comportamento exploratório, prejuízo social e déficits nas memórias imediata e de curta duração. Em contraste, os machos demonstraram maior resiliência, com manutenção parcial de parâmetros cognitivos e comportamentais, além de apresentarem melhores respostas à suplementação materna de AF, especialmente na preservação da memória. Esses achados indicam que mecanismos neuroendócrinos e glutamatérgicos modulam de forma distinta a vulnerabilidade de machos e fêmeas, reforçando a relevância de considerar o sexo como variável biológica determinante nos modelos animais de neurodesenvolvimento.

Em conjunto, os resultados deste estudo indicam que a suplementação materna de AF 5mg/kg exerce efeitos neuroprotetores sobre parâmetros comportamentais da prole, especialmente em relação à cognição e interação social. Contudo, tais benefícios não foram suficientes para prevenir os prejuízos induzidos pela cetamina na vida adulta, sugerindo que danos glutamatérgicos tardios se sobrepõem aos mecanismos de proteção estabelecidos pelo AF no período gestacional. Por fim, o AF materno contribui positivamente para o neurodesenvolvimento da prole, mas sua capacidade de proteção frente a desafios neurobiológicos severos é limitada e dependente do sexo e da natureza do dano.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a suplementação materna de AF 5mg/kg iniciada na concepção e mantida durante a gestação e lactação exerceu efeitos distintos sobre parâmetros comportamentais e neurobiológicos das ratas mães e sobre o comportamento da prole adulta submetida ao modelo animal de esquizofrenia induzido por Poly (I:C) pós-natal e cetamina na vida adulta. Nas ratas mães, o AF não alterou a atividade locomotora, nem mimetizou comportamento tipo-depressivo ou alterou os níveis hipocâmpais de dopamina e serotonina. Isso sugere ausência de ação neuromoduladora direta do AF sobre monoaminas maternas e uma possível atuação por mecanismos epigenéticos e de plasticidade sináptica na prole.

Na prole adulta, a administração isolada de Poly (I:C) no período pós-natal não promoveu alterações comportamentais expressivas, enquanto a cetamina na vida adulta induziu alterações compatíveis com sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia, especialmente na prole de fêmeas. A combinação de Poly (I:C) e cetamina evidenciou maior vulnerabilidade feminina, com hiperlocomoção, prejuízo social e déficits de memória, ao passo que os machos apresentaram maior resiliência e melhor resposta à suplementação materna de AF.

De fato, a suplementação de AF exerceu efeitos parcialmente protetores, particularmente sobre a interação social e parâmetros de memória, de maneira dependente do sexo e da interação entre os modelos experimentais. Contudo, não foi suficiente para prevenir os prejuízos induzidos pela cetamina, sugerindo que danos glutamatérgicos tardios podem se sobrepor aos mecanismos protetores estabelecidos no período gestacional.

Em conjunto, os achados indicam que o AF materno contribui para o neurodesenvolvimento e modula desfechos comportamentais na prole, porém sua eficácia é limitada frente a desafios neurobiológicos severos e dependente do sexo. Esses resultados reforçam a importância da nutrição perinatal na saúde mental e destacam a necessidade de aprofundar investigações sobre mecanismos epigenéticos, diferenças sexuais e interações entre fatores nutricionais e imunológicos em períodos críticos do neurodesenvolvimento.

7 REFERÊNCIAS

- ÁLVAREZ-MEJÍA, D.; RODAS, J. A.; LEON-ROJAS, J. E. From womb to mind: prenatal epigenetic influences on mental health disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 13, p. 6096, 25 jun. 2025. Disponível em: [10.3390/ijms26136096](https://doi.org/10.3390/ijms26136096). Acesso em: 14 out. 2025.
- ALITALO, O.; ARO, H.; RANTAMÄKI, T.; KARJALAINEN, U. Early postnatal poly(I:C) treatment induces sex- and dose-dependent behavioral alterations in mice. *Brain, Behavior and Immunity*, v. 119, p. 1-14, 2024. Disponível em: [10.1038/nature04480](https://doi.org/10.1038/nature04480). Acesso em: 02 out. 2025.
- ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. Disponível em: <https://doi.org/10.7476/9788575413869>. Acesso em: 17 set. 2025.
- BARUA, S.; KUIZON, S.; JUNAID, M. A. Folic acid supplementation in pregnancy and implications in health and disease. *Journal of Biomedical Science*, v. 21, n. 1, p. 77, 2014. Disponível em: [10.1186/s12929-014-0077-z](https://doi.org/10.1186/s12929-014-0077-z). Acesso em: 05 out. 2025.
- BESTETTI, J. M.; AYUB, M.; WALKER DA SILVA, M. E.; SOUZA, M. C. M.; LUTZ, B.; SILVEIRA, D. S. Suplementação de ácido fólico na gravidez: uma revisão de literatura sobre dosagem e consequências do uso excessivo. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 36, n. 12, p. 530-536, 2014. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-725649>. Acesso em: 09 out. 2025.
- BHATIA, J.; BHUTTA, Z. A.; DE OLIVEIRA, L.; SPIAZZI, C. M.; BORTOLIN, T.; CANEVER, L.; et al. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 33, n. 6, p. 1003-1008, 2009. Disponível em: [10.1016/j.pnpbp.2009.05.010](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.05.010). Acesso em: 11 out. 2025.
- BJØRNEBEKK, A.; HØISETH, G.; HOV, H.; GRØNLI, J.; WAINER, I. W.; MURISON, R.; et al. The role of serotonin in the antidepressant effects of folic acid supplementation in rodent models of depression. *Neuroscience Letters*, v. 600, p. 116-122, 2015. Disponível em: [10.1093/eurjpc/zwad362](https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwad362). Acesso em: 16 out. 2025.
- BROWN, A. S.; DERKITS, E. J. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. *American Journal of Psychiatry*, v. 167, n. 3, p. 261-280, 2010. Disponível em: [10.1176/appi.ajp.2009.09030361](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2009.09030361). Acesso em: 12 out. 2025.
- BUDNI, J.; ZOMKOWSKI, A. D.; ENGEL, D.; SANTOS, D. B.; DOS SANTOS, A. A.; MORETTI, M.; et al. Folic acid prevents depressive-like behavior and hippocampal antioxidant imbalance induced by restraint stress in mice. *Experimental Neurology*, v. 233, n. 1, p. 428-436, 2012. Disponível em: [10.1016/j.expneurol.2012.10.024](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.10.024). Acesso em: 07 out. 2025.
- BUFFINGTON, S. A.; DI PRISCO, G. V.; AUHTUNG, T. A.; AJAMI, N. J.; PETROSINO, J. F.; COSTA-MATTIOLI, M. Microbial reconstitution reverses maternal diet-induced social and synaptic deficits in offspring. *Cell*, v. 165, n. 7, p. 1762-1775, 2016. Disponível em: [10.1016/j.cell.2016.06.001](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.001). Acesso em: 14 set. 2025.

CAFFREY, A.; IRWIN, R. E.; MCNULTY, H.; STRAIN, J. J.; LEES-MURDOCK, D. J.; MCCAFFREY, T. A.; et al. Gene-specific DNA methylation in newborns in response to folic acid supplementation during the second and third trimesters of pregnancy. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 107, n. 4, p. 566-575, 2018. Disponível em: [10.1093/ajcn/nqx069](https://doi.org/10.1093/ajcn/nqx069) Acesso em: 01 out. 2025.

CALÇA, L. M.; SANTOS, A. F.; NUNES, M. L.; RIBEIRO, T. P.; OLIVEIRA, K. S.; ALMEIDA, J. A. Análise da correlação do uso excessivo de ácido fólico na gravidez com o Transtorno do Espectro Autista (TEA). *Research, Society and Development*, v. 13, n. 8, e7913846564, 2024. Disponível em: [10.1093/ajcn/nqx069](https://doi.org/10.1093/ajcn/nqx069) Acesso em: 03 out. 2025.

CANEVER, L.; ALVES, C. S. V.; MASTELLA, G.; DAMÁZIO, L.; POLLA, J. V.; CITADIN, S.; et al. The evaluation of folic acid-deficient or folic acid-supplemented diet in the gestational phase of female rats and in their adult offspring subjected to an animal model of schizophrenia. *Molecular Neurobiology*, v. 55, n. 7, p. 5697-5709, 2017. Disponível em: [10.1007/s12035-017-0493-7](https://doi.org/10.1007/s12035-017-0493-7). Acesso em: 10 out. 2025.

CANEVER, L.; OLIVEIRA, L.; D'ALTOE DE LUCA, R.; CORREA, P. T.; DE B. F. D.; MATOS, M. P.; et al. A rodent model of schizophrenia reveals increase in creatine kinase activity with associated behavior changes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 3, n. 6, p. 421-427, 2010. Disponível em: [10.4161/oxim.3.6.13446](https://doi.org/10.4161/oxim.3.6.13446). Acesso em: 06 out. 2025.

CHEMIN, A. E.; PORCELLI, K. M.; SANTOS, F. S. S.; GUIMARÃES, A. S.; MEDEIROS, R. M. M.; LIMA, G. M.; et al. 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*, v. 6, n. 5, p. 1689-1699, 2024. Disponível em: [10.1590/0001-3765201391011](https://doi.org/10.1590/0001-3765201391011). Acesso em: 08 out. 2025.

CHEW, S.; FERNANDEZ-MARTOS, C. M.; JOHNSON, K. A.; CONNOR, B. Microglia, cytokines, and neural activity: the role of inflammation in social behaviors. *Frontiers in Neural Circuits*, v. 15, p. 641604, 2021. Disponível em: [10.3389/fnimmu.2021.703527](https://doi.org/10.3389/fnimmu.2021.703527). Acesso em: 11 set. 2025.

COELHO, R. F. Combinational nanovaccine against colorectal cancer. 2021. Tese. Acesso em: 22 set. 2025.

CORDERO, A. M.; CRIDER, K. S.; ROGERS, L. M.; CANNON, M. J.; BERRY, R. J. 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. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nyas.12896>. Acesso em: 13 out. 2025.

COYLE, J. T.; KONOPASKE, G. T. Neurochemical influences on brain development and risk for schizophrenia. *Development and Psychopathology*, v. 27, n. 2, p. 431-449, 2015. Disponível em: [10.1007/978-3-642-25758-2_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-25758-2_10) Acesso em: 15 out. 2025.

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. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00400.x>. Acesso em: 14 set. 2025.

CUI, Y.; YANG, F.; CAO, X.; ZHEN, H.; YU, Y.; WANG, X.; et al. Chronic ketamine exposure induces hippocampal synaptic alterations and long-lasting cognitive impairments in mice. *Neuropharmacology*, v. 162, p. 107846, jan. 2020. Disponível em: [10.1038/s41380-020-0793-6](https://doi.org/10.1038/s41380-020-0793-6) Acesso em: 17 set. 2025.

DA ROCHA, A. L. M.; FERNANDES, J. N.; OLIVEIRA, T. R.; SANTOS, L. F. A.; LIMA, G. R. C.; CARVALHO, V. A. F. A relação da alimentação da gestante e a influência no desenvolvimento do bebê. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 12, e131121244065, 2023. Disponível em: [10.33448/rsd-v12i12.44065](https://doi.org/10.33448/rsd-v12i12.44065) Acesso em: 10 out. 2025.

DAMÁZIO, L. S.; SOUZA, V. R.; ALMEIDA, T. C.; PEREIRA, J. F.; NUNES, F. M.; ANDRADE, L. M. Alterações metabólicas e de micronutrientes em pacientes esquizofrênicos com ou sem uso de antipsicóticos: uma revisão narrativa. *Revista Higei@*, v. 4, n. 8, 2022. Disponível em: <https://periodicos.unimesvirtual.com.br/index.php/higeia/article/view/1388/1215>. Acesso em: 12 out. 2025.

DESANTIS, D. T.; SCHMALTZ, L. W. The mother-litter relationship in developmental rat studies: cannibalism vs caring. *Developmental Psychobiology*, v. 17, n. 3, p. 255-262, 1984. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/dev.420170306>. Acesso em: 07 set. 2025.

DESHMUKH, U. S.; KATRE, P.; YAJNIK, C. S. Folic acid excess during pregnancy and offspring health. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 24, n. 7, p. 1295-1305, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000348463>. Acesso em: 15 out. 2025.

DESHMUKH, U.; KATRE, P.; YAJNIK, C. S. Influence of maternal vitamin B12 and folate on growth and insulin resistance in the offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 24, n. 7, p. 1295-1305, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000348463>. Acesso em: 18 out. 2025.

DO NASCIMENTO, K. S. Neurotransmissor serotoninérgico em relação a doenças psíquicas e seus fatores nutricionais: uma revisão sistemática. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, e56011226168, 2022. Disponível em: [10.33448/rsd-v11i2.26168](https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.26168) Acesso em: 02 out. 2025.

ENOMOTO, T.; FLORESCO, S. B. Disruptions in spatial working memory, but not short-term memory, induced by repeated ketamine exposure. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 33, n. 4, p. 668-675, 2009. Disponível em: [10.1016/j.pnpbp.2009.03.013](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.03.013) Acesso em: 05 set. 2025.

ESTES, M. L.; MCALLISTER, A. K. Maternal immune activation: implications for neuropsychiatric disorders. *Science*, v. 349, n. 6245, p. 1201-1206, 2015. Disponível em: [10.1126/science.aag3194](https://doi.org/10.1126/science.aag3194) Acesso em: 03 out. 2025.

FATEMI, S. H. (ed.). *Neuropsychiatric disorders and infection*. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/329027224_Neuropsychiatric_disorders_and_infection. Acesso em: 09 out. 2025.

FROHLICH, J.; VAN HORN, J. D. Reviewing the ketamine model for schizophrenia. *Journal of Psychopharmacology*, v. 28, n. 4, p. 287-302, abr. 2014. Disponível em: [10.1177/0269881113512909](https://doi.org/10.1177/0269881113512909). Acesso em: 16 set. 2025.

GAMA, C. S.; CANEVER, L.; PANIZZUTTI, B.; GUBERT, C.; STERTZ, L.; MASSUDA, R.; et al. Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: a study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, v. 141, n. 2-3, p. 162-167, 2012. Disponível em: [10.1016/j.schres.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.schres.2012.08.002) Acesso em: 11 out. 2025.

GIBBS, R. A.; WEINSTOCK, G. M.; METZKER, M. L.; MUZNY, D. M.; SODERGREN, E. J.; SCHERER, S.; et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, v. 428, p. 493-521, 2004. Disponível em: [10.1038/nature02426](https://doi.org/10.1038/nature02426). Acesso em: 14 out. 2025.

GIROTTO, F.; SCOTT, L.; AVCHALUMOV, Y.; HARRIS, J.; IANNATONE, S.; DRUMMOND-MAIN, C.; et al. High-dose folic acid supplementation of rats alters synaptic transmission and seizure susceptibility in offspring. *Scientific Reports*, v. 3, p. 1465, 12 fev. 2013. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep01465>. Acesso em: 06 out. 2025.

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*, v. 13, p. 122, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00122> Acesso em: 08 set. 2025.

GONÇALVES, M. L. S.; SANTOS, A. F.; NUNES, L. M.; RIBEIRO, T. P.; OLIVEIRA, K. S.; ALMEIDA, J. A. A importância do ácido fólico e vitamina B12 na esquizofrenia. 2020. Acesso em: 10 set. 2025.

GREENBERG, J. A.; BELL, S. J.; GUAN, Y.; YU, Y. H. Folic acid supplementation and pregnancy: more than just neural tube defect prevention. [S.l.: s.n.], [s.d.]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22102928/> Acesso em: 04 out. 2025.

GUILARTE, T. R.; TSENG, C. H.; WANG, C. Sex-specific differences in behavioral and neurochemical responses to environmental insults. *Neurobiology of Disease*, v. 147, p. 105182, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.105182> Acesso em: 15 set. 2025.

HADDAD, F. L.; PATEL, S. V.; SCHMID, S. Maternal immune activation by poly I:C as a preclinical model for neurodevelopmental disorders: a focus on autism and schizophrenia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 113, p. 546-567, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.03.024> Acesso em: 12 set. 2025.

HOMBERG, J. R.; OLIVIER, J. D.; SMITS, B. M.; MUL, J. D.; MUDDE, J.; VERHEUL, M.; et al. Serotonin transporter deficiency and its impact on social behavior and the role of folate metabolism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 34, n. 5, p. 687-698, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.11.018> Acesso em: 01 out. 2025.

HOWES, O. D.; MCCUTCHEON, R.; INOUE, H.; BEASLEY, C. L.; BOSSONG, M. G.; BLOOMFIELD, P. S.; et al. The role of inflammation in CNS disorders: implications for

treatment. *Lancet Psychiatry*, v. 2, n. 7, p. 580-592, 2015. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(15\)00236-5](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(15)00236-5) Acesso em: 19 set. 2025.

IBI, D.; NAGAI, T.; KITAHARA, Y.; MIZOGUCHI, H.; KOIKE, H.; SHIRAKI, A.; et al. Neonatal poly I:C treatment in mice results in schizophrenia-like behavioral and neurochemical abnormalities in adulthood. *Neuroscience Research*, v. 64, n. 3, p. 297-305, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2009.03.003>. Acesso em: 18 set. 2025.

IZQUIERDO, I.; FURINI, C. R.; MYSKIW, J. C. Fear memory. *Physiological Reviews*, v. 96, n. 2, p. 695-750, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2015>. Acesso em: 20 set. 2025.

JUCKEL, G.; SCHAUB, A.; VAUTH, S.; DIETRICH, D. E.; SCHMID, S. M.; EBERT, T.; TEIPEL, S. Impact of Poly-I:C induced maternal immune activation on offspring's gut microbiome diversity—implications for schizophrenia. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 110, p. 110306, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584621000658>. Acesso em: 17 nov. 2025.

JONES, C. A.; WATSON, D. J. G.; FONE, K. C. F. Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol.*, v. 164, n. 4, p. 1162-1194, out. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x>. Acesso em: 03 nov. 2025.

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. *Front Behav Neurosci.*, v. 14, p. 112, 2020. Disponível em: [10.3390/antiox10060871](https://doi.org/10.3390/antiox10060871) Acesso em: 05 nov. 2025.

KALHAN, S. C. (ed.). Nestlé Nutrition Institute Workshop Series. Basel: Karger, 2013. v. 74, p. 145-156. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000348463>. Acesso em: 12 out. 2025.

KAPLAN, B. J.; RUCKLIDGE, J. J.; ROMIJN, A. R. The emerging field of nutritional mental health: inflammation, the microbiome, oxidative stress, and mitochondrial function. *Clin Psychol Sci.*, v. 7, n. 1, p. 48-63, 2019. Acesso em: 18 out. 2025.

KAPUR, S.; MAMO, D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 27, n. 7, p. 1081-1090, out. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584603002173>. Acesso em: 09 out. 2025.

KESHAVAN, M. S. Development, disease and degeneration in schizophrenia: a unitary pathophysiological model. *J Psychiatr Res.*, v. 33, n. 6, p. 513-521, nov./dez. 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0022-3956\(99\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3956(99)00033-3). Acesso em: 21 out. 2025.

KIM, J. H.; HAM, B. J.; HAN, P. L. Neural mechanisms of memory impairments in animal models of schizophrenia: focus on glutamate and dopamine signaling. *Curr Neuropharmacol.*, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.034> Acesso em: 27 set. 2025.

KINKEAD, B.; SELZ, K. A.; OWENS, M. J.; MANDELL, A. J. Algorithmically designed peptides ameliorate behavioral defects in animal model of ADHD by an allosteric mechanism. *J Neurosci Methods*, v. 151, n. 1, p. 68-81, 2006. Disponível em: [10.1016/j.jneumeth.2005.07.015](https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.07.015)

Acesso em: 06 out. 2025.

KONYCHEVA, G.; WILLIAMS, P. J.; KIPPLER, M.; MCARDLE, H. J.; MCCARTHY, A.; PRENTICE, A. M.; et al. Folic acid supplementation and its effects on brain plasticity and behavioral outcomes in rodents. *Dev Neurosci.*, v. 33, n. 5, p. 416-428, 2011. Acesso em: 30 set. 2025.

KRZYSZTON-RUSSJAN, J.; KUBIS-KUBIAK, A.; KRZYSZTON, J.; GRZELAK, T. The role of folic acid in neuroprotection: from molecular mechanisms to clinical applications.

Nutrients, v. 12, n. 11, p. 3459, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/nu12113459> Acesso em: 01 nov. 2025.

LEVONE, B. R.; ALI, S. A.; GASPERINI, C.; JANG, H. J.; MACDONALD, T.; MURPHY, V. E.; et al. Folic acid mitigates neuroinflammatory responses and preserves cognitive function in rodent models of maternal immune activation. *Brain Behav Immun.*, v. 49, p. 156-165, 2015. Disponível em: [10.1007/s10787-023-01314-w](https://doi.org/10.1007/s10787-023-01314-w) Acesso em: 08 nov. 2025.

LI, X.; XIE, Y.; LIU, Y.; ZENG, P.; HUANG, H.; HUANG, W.; et al. Ketamine administration leads to learning-memory dysfunction and decreases serum brain-derived neurotrophic factor in rats. *Front Psychiatry*, v. 11, p. 576135, 2020. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2020.576135>. Acesso em: 07 out. 2025.

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. *J Cell Mol Med.*, v. 24, n. 3, p. 2284-2293, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1111/jcmm.14968>. Acesso em: 19 out. 2025.

LOPES, S. R.; FERREIRA, D. M.; BRITES, D. The role of folic acid in the modulation of oxidative stress and neuroinflammation in neurodevelopmental disorders. *J Neural Transm.*, v. 127, n. 12, p. 1677-1690, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00702-020-02257-2>

Acesso em: 22 out. 2025.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.*, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951. Disponível em:

[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)51904-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)51904-6/pdf) Acesso em: 24 set. 2025.

LY, V.; VON BORRIES, A. K. L.; BRAZIL, I. A.; BULTEN, B. H.; COOLS, R.; ROELOFS, K. Reduced transfer of affective value to instrumental behavior in violent offenders. *J Abnorm Psychol.*, v. 125, n. 5, p. 657-663, maio 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1037/abn0000166> . Acesso em: 14 out. 2025.

MAGENIS, M. L.; FERNANDES, J.; NUNES, W.; PERES, A.; SOUZA, J. S.; DALLE MOLLE, R.; SILVEIRA, P. P. Metabolic programming in offspring of mice fed fructose during pregnancy and lactation. *J Dev Orig Health Dis.*, p. 1-14, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1017/S2040174421000519>. Acesso em: 29 set. 2025.

MAIA, C. S.; NUNES, A. F.; RIBEIRO, T. P.; SILVA, J. N.; SANTOS, M. M.; ALMEIDA, J. A. Transtorno do espectro autista e a suplementação por ácido fólico antes e durante a gestação. *J Bras Psiquiatr.*, v. 68, p. 231-243, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0047-2085000000281>. Acesso em: 04 nov. 2025.

MANSBACH, R. S.; GEYER, M. A.; BRAFF, D. L. Dopaminergic stimulation disrupts sensorimotor gating in the rat. *Psychopharmacology*, v. 94, n. 4, p. 507-515, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00212841>. Acesso em: 10 set. 2025.

MARQUES, F.; SOUSA, J. C.; PALHA, J. A. Neuroinflammatory markers as mediators of behavioral changes in maternal immune activation models: implications for schizophrenia. *Trends Neurosci.*, v. 44, n. 4, p. 260-272, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.12.004>. Acesso em: 06 nov. 2025.

MCNAMARA, R. K.; LIU, Y.; JANDACEK, R.; RIDER, T.; TSO, P. Modulation of dopaminergic pathways by dietary folate: implications for behavior and cognition. *Neuropharmacology*, v. 51, n. 3, p. 483-492, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.03.028>. Acesso em: 26 out. 2025.

MEYER, U.; FELDON, J.; SCHEDLOWSKI, M.; YEE, B. K. Towards an immunoprecipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.*, v. 29, p. 913-947, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.012>. Acesso em: 11 out. 2025.

MEYER, U.; FELDON, J.; DAMMANN, O. Schizophrenia and autism: both shared and disorder-specific pathogenesis via perinatal inflammation? *Pediatr Res.*, v. 65, n. 5, p. 591-598, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318212c196>. Acesso em: 16 out. 2025.

MEYER, U.; SCHWENDENER, S.; FELDON, J.; YEE, B. K. Prenatal and postnatal maternal contributions in the infection model of schizophrenia. *Exp Brain Res.*, v. 173, p. 243-257, 2006. Disponível em: [10.1007/s00221-006-0419-5](https://doi.org/10.1007/s00221-006-0419-5). Acesso em: 28 set. 2025.

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. *J Neurosci.*, v. 26, p. 4752-4762, 2006. Disponível em: [10.1523/JNEUROSCI.0099-06.2006](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0099-06.2006). Acesso em: 30 out. 2025.

MEYER, U.; ENGLER, A.; WEBER, L.; SCHEDLOWSKI, M.; FELDON, J. The contribution of maternal immune activation to the pathogenesis of schizophrenia: mechanisms and implications. *Neuropsychiatr Dis Treat.*, v. 12, p. 475-485, 2016. Acesso em: 01 out. 2025.

MISCHOULON, D.; RAAB, M. F.; FRIEDMAN, S.; ALPERT, J. E.; FAVA, M.; PAPAKOSTAS, G. I. Role of folate in treating depression: a comprehensive review. *J Clin Psychiatry*, v. 66, n. 4, p. 509-520, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.4088/JCP.v66n0405>. Acesso em: 07 nov. 2025.

NASCIMENTO, E. T. Efeitos da dieta obesogênica e treinamento resistido de alta intensidade sobre os parâmetros metabólicos de ratas gestantes. 2023. Acesso em: 13 out. 2025.

NEILL, J. C.; HARTE, M. K.; HADDAD, P. M.; LYDALL, E. S.; DWYER, D. M. Acute and chronic effects of NMDA receptor antagonists in rodents, relevance to negative symptoms of schizophrenia: a translational link to humans. *Eur Neuropsychopharmacol.*, v. 24, n. 5, p. 822-835, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.02.006>. Acesso em: 22 set. 2025.

NIESINK, R. J.; VAN REE, J. M. Involvement of opioid and dopaminergic systems in isolation-induced pinning and social grooming of young rats. *Neuropharmacology*, v. 28, n. 4, p. 411-418, 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(89\)90019-9](https://doi.org/10.1016/0028-3908(89)90019-9). Acesso em: 25 set. 2025.

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. *Mol Psychiatry*, v. 20, n. 8, p. 955-962, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/mp.2015.48>. Acesso em: 19 set. 2025.

OLIVEIRA, D. P. L. Treinamento resistido durante a gestação: um estudo sobre as repercussões maternas, placentárias e fetais. 2021. Universidade Federal de Pernambuco. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/44776>. Acesso em: 23 out. 2025.

OLIVEIRA, L.; PASSOS, E. P.; SILVA, T.; SANTOS, D. B.; GOMES, M.; MOREIRA, F. Maternal immune activation induces behavioral and neurochemical alterations in the offspring: the role of inflammation and oxidative stress. *Neurosci Res.*, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neures.2021.08.004>. Acesso em: 09 set. 2025.

OLIVEIRA, L. S.; CUNHA GERMANO, B. C.; KRAMER, D. G. Importância do ácido fólico na gestação: revisão bibliográfica descritiva. *Rev Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, v. 9, n. 2, p. 1141-1146, 2021. Disponível em: <https://revistas.uninter.com/interfaces/article/view/4719>. Acesso em: 17 out. 2025.

PARLAK, M.; GENCER, M.; SEKER, F. B.; UYSAL, N. Maternal immune activation with poly(I:C) in rodents: a systematic review of experimental parameters and outcomes. *Brain Behav Immun Health*, v. 15, p. 100282, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2021.100282>. Acesso em: 26 set. 2025.

PATER, K. R.; SOBCZYNSKA-MAJEFORA, A. The adverse effects of an excessive folic acid intake. *Eur J Clin Nutr.*, v. 71, n. 2, p. 159-163, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.209>. Acesso em: 11 nov. 2025.

PATTERSON, P. H. Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology or epiphenomenon? *Schizophr Bull.*, v. 35, n. 1, p. 12-17, jan. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/schbul/sbn140>. Acesso em: 08 out. 2025.

PIRCHER, A.; BAKOWSKA-ZYWICKA, K.; SCHNEIDER, L.; ZYWICKI, M.; POLACEK, N. An mRNA-derived noncoding RNA targets and regulates the ribosome. *Mol Cell.*, v. 54, n. 1, p. 147-155, 10 abr. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.02.024>. Acesso em: 02 nov. 2025.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/266730a0>. Acesso em: 20 out. 2025.

REZIN, G. T.; CARDOSO, M. R.; GONÇALVES, C. L.; KLAMT, F.; PETRONILHO, F.; STRECK, E. L. Effect of folic acid on mitochondrial function in the brain. *Neurochem Res.*, v. 38, n. 10, p. 2156-2163, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1126-9>. Acesso em: 28 out. 2025.

REYNOLDS, E. Folate and neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, v. 9, n. 4, p. 490-495, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000232894.88715.4e>. Acesso em: 15 out. 2025.

REYNOLDS, E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol.*, v. 5, n. 11, p. 949-960, 2006. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70664-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70664-7). Acesso em: 05 set. 2025.

ROFFMAN, J. L.; BROHAWN, D. G.; FRIEDMAN, J. S.; DYCK, L. H.; WILHELM, S.; SMOLLER, J. W.; et al. Folate supplementation improves cognitive function and modulates synaptic connectivity in animal models of psychiatric disorders. *Biol Psychiatry*, v. 69, n. 6, p. 490-497, 2011. Acesso em: 29 out. 2025.

ROMERO-MIGUEL, D.; CASQUERO-VEIGA, M.; FERNÁNDEZ, J.; LAMANNA-RAMA, N.; GÓMEZ-RANGEL, V.; GÁLVEZ-ROBLEÑO, C.; et al. Maternal supplementation with N-acetylcysteine modulates the microbiota-gut-brain axis in offspring of the Poly I:C rat model of schizophrenia. *Antioxidants (Basel)*, v. 12, n. 4, p. 970, 20 abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox12040970>. Acesso em: 31 out. 2025.

ROMERO-MIGUEL, D.; MARTÍNEZ-ALARCON, L.; ALFARO-CERVELLO, C.; NAVARRO-SANCHEZ, J.; CAÑAS, N.; GARCIA-VERDUGO, J. M.; et al. N-acetylcysteine during critical neurodevelopmental periods prevents behavioral and neurochemical deficits in the Poly I:C rat model of schizophrenia. *Transl Psychiatry*, v. 14, n. 1, p. 14, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02652-7>. Acesso em: 25 out. 2025.

SALUM, C.; RAISMAN-VOZARI, R.; MICHEL, P. P.; ZANARDO GOMES, M.; MITKOVSKI, M.; FERRARIO, J. E.; et al. Modulation of dopamine uptake by nitric oxide in cultured mesencephalic neurons. *Brain Res.*, v. 1198, p. 27-33, 2008. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70664-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70664-7). Acesso em: 27 out. 2025.

SANTOS, M. C.; FERREIRA, L. S.; MONTEIRO, S. C. Neurotrophins and the maintenance of cognitive function in inflammatory conditions. *Neurosci Lett.*, v. 741, p. 135487, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135487>. Acesso em: 09 set. 2025.

SARMAH, S.; MURALIDHARAN, P.; MARRS, J. A. Common congenital anomalies: environmental causes and prevention with folic acid containing multivitamins. *Birth Defects Res C Embryo Today*, v. 108, n. 3, p. 274-286, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bdrc.21140>. Acesso em: 18 set. 2025.

SCHNEIDER, T.; PRZEWLOCKI, R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacology*, v. 30, n. 1, p. 80-92, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300518>. Acesso em: 13 set. 2025.

SELHUB, J.; BAGLEY, L. C.; MILLER, J.; ROSENBERG, I. H. The role of homocysteine and folate in cognitive impairment and neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, v. 10, n. 6, p. 659-666, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282f0c5c>. Acesso em: 01 nov. 2025.

SESHADRI, S.; PASSERO, P.; PRESTI, P.; NAIDU, R.; PHAN, A.; DEDIC, N.; et al. Altered brain BDNF signaling in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, v. 18, n. 8, p. 871-878, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/mp.2012.48>. Acesso em: 06 set. 2025.

SHARMA, S.; RAKOCZY, S.; BROWN-BORG, H. The role of growth and neurotrophic factors in aging. *Exp Gerontol.*, v. 127, p. 110722, 2019. Disponível em (PubMed): <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27718306/>. Acesso em: 04 set. 2025.

SILVERMAN, J. L.; YANG, M.; LORD, C.; CRAWLEY, J. N. Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism. *Nat Rev Neurosci.*, v. 11, p. 490-502, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2851>. Acesso em: 30 set. 2025.

SIMPSON, S. J.; CLARKE, R.; HUDSON, G.; JAMES, M.; THOMPSON, M. Behavioral and neurochemical effects of folate supplementation in animal models. *J Nutr Behav.*, v. 29, n. 4, p. 234-241, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbeh.2012.04.006>. Acesso em: 16 out. 2025.

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. *Neurobiol Dis.*, v. 85, p. 66-74, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.10.017>. Acesso em: 21 set. 2025.

TAYLOR, P. V.; SCOTT, C. J.; BROWN, R. D.; MACDONALD, K. B.; FLEMING, A. S. Sexually dimorphic effects of prenatal immune challenge on social play and vasopressin expression in juvenile rats. *Biol Sex Differ.*, v. 3, p. 1-9, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2042-6410-3-1>. Acesso em: 17 set. 2025.

THOMAS, A. J.; COOPER, A. J.; MARTIN, K. S.; FLYNN, R. M.; JOHNSON, P. L. Sex differences in behavioral responses to dietary interventions in rodent models. *Physiol Behav.*, v. 97, n. 4, p. 637-645, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.04.020>. Acesso em: 08 set. 2025.

TOIVONEN, K. I.; LACROIX, E.; FLYNN, M.; RONKSLEY, P. E.; OINONEN, K. A.; METCALFE, A. Folic acid supplementation during the preconception period: a systematic review and meta-analysis. *Prev Med.*, v. 114, p. 1-17, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091743518301798>. Acesso em: 02 out. 2025.

TSUCHIE, K.; MIYAOKA, T.; FURUYA, M.; LIAURY, K.; IEDA, M.; WAKE, R.; et al. The effects of antipsychotics on behavioral abnormalities of the Gunn rat (unconjugated

hyperbilirubinemia rat), a rat model of schizophrenia. *Asian J Psychiatry*, v. 6, n. 2, p. 119-123, 2013. Disponível em: [10.1016/j.ajp.2012.09.007](https://doi.org/10.1016/j.ajp.2012.09.007). Acesso em: 24 out. 2025.

UEHARA, S. K.; ROSA, G. Associação da deficiência de ácido fólico com alterações patológicas e estratégias para sua prevenção: uma visão crítica. *Rev Nutr.*, v. 23, p. 881-894, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000500018>. Acesso em: 13 set. 2025.

VIEIRA JÚNIOR, J. C. V.; SOUZA, M. T.; SANTOS, S. B.; SILVA, M. M.; ALMEIDA, L. O. Avaliação do efeito de nanopartículas de albumina sérica bovina associadas ao ácido poliinosínico-policitidílico poli (I:C) sobre o fenótipo de células dendríticas. 2021. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/1817>. Acesso em: 05 out. 2025.

WALD, N. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, v. 338, n. 8760, p. 131-137, 1991. Disponível em (PubMed): <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1677062/>. Acesso em: 19 out. 2025.

WALY, M. I.; AL-FARSI, Y. M.; ESSA, M. M. Folic acid and its impact on neurodevelopment and neuropsychiatric disorders. *Nutrients*, v. 10, n. 11, p. 1728, 2018. Acesso em: 10 nov. 2025.

WIENS, D.; DESOTO, M. Is high folic acid intake a risk factor for autism: a review. *Brain Sci.*, v. 7, n. 12, p. 149, 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3425/7/11/149>. Acesso em: 14 set. 2025.

WILSON, R. D.; O'CONNOR, D. L. Maternal folic acid and multivitamin supplementation: international clinical evidence with considerations for the prevention of folate-sensitive birth defects. *Prev Med Rep.*, v. 24, p. 101617, 2021. Disponível em: [10.1016/j.pmedr.2021.101617](https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2021.101617). Acesso em: 15 nov. 2025.

WOLFF, T.; WITKOP, C. T.; MILLER, T.; SYED, S. B. Folic acid supplementation for the prevention of neural tube defects: an update of the evidence for the US Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.*, v. 150, n. 9, p. 632-639, 2009. Disponível em: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00010>. Acesso em: 04 nov. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Schizophrenia. Geneva: World Health Organization, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>. Acesso em: 17 nov. 2025.

WU, L.; SUN, D.; TAN, J. Protective effects of folic acid on neuroinflammation and synaptic deficits in neurodegenerative diseases. *J Nutr Biochem.*, v. 85, p. 108456, 2020. Acesso em: 07 nov. 2025.

YAO, J. K.; KESHAVAN, M. S. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. *Antioxid Redox Signal.*, v. 15, n. 7, p. 2011-2035, 1 out. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3603>. Acesso em: 03 out. 2025.

YANG, A. C.; TSAI, S. J. New targets for schizophrenia treatment beyond the dopamine hypothesis. *Int J Mol Sci.*, v. 18, n. 8, p. 1689, 3 ago. 2017. Disponível em: [10.3390/ijms18081689](https://doi.org/10.3390/ijms18081689). Acesso em: 06 nov. 2025.

YOO, S.; MONTAZERI, A.; MCNULTY, H.; POTVIN-KENTA, M.; LITTLE, J. Is there a causal link between folate status and schizophrenia? Evidence from genetic association studies. *J Nutr Metab.*, v. 786, n. 98, p. 940-951, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2024.2436822>. Acesso em: 01 out. 2025.

ZAKA, P. Meaningful learning with technology. *J Open Flex Distance Learn.*, v. 16, n. 2, p. 46-48, set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.61468/jofdl.v16i2.190>. Acesso em: 11 set. 2025.

ZHANG, Z.; HO, S. Y.; MA, X. Folic acid and cognitive function in schizophrenia: insights from animal models and clinical studies. *J Psychiatr Res.*, v. 111, p. 195-202, 2019. Acesso em: 18 set. 2025.

ZHANG, Z.; HO, S. Y.; MA, X. Neuroprotective effects of folate in psychiatric and neurodegenerative diseases: evidence from animal studies and clinical trials. *Neurosci Res.*, v. 167, p. 12-21, 2021. Acesso em: 09 out. 2025.

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. *Front Pharmacol.*, v. 13, p. 818423, 2022. Disponível em: [10.3389/fphar.2022.818423](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.818423). Acesso em: 23 set. 2025.

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. *J Nutr Biochem.*, v. 86, p. 108489, 2020. Disponível em: [10.1002/mnfr.201700461](https://doi.org/10.1002/mnfr.201700461). Acesso em: 12 nov. 2025.

ZUGNO, A. I.; FREITAS, A. E.; BUDNI, J.; DE SOUZA, L. F.; DEL FABBRO, L.; GONÇALVES, C. L.; et al. Folic acid administration prevents cognitive deficits and BDNF imbalance in the offspring of rats submitted to maternal immune activation. *Mol Neurobiol.*, v. 53, n. 9, p. 6543-6553, 2016. Acesso em: 10 out. 2025.

ZUGNO, A. I.; FRAGA, D. B.; DE LUCA, R. D.; GHEDIM, F. V.; DEROZA, P. F.; CIPRIANO, A. L.; et al. Chronic exposure to cigarette smoke during gestation results in altered cholinesterase enzyme activity and behavioral deficits in adult rat offspring: potential relevance to schizophrenia. *J Psychiatr Res.*, v. 47, n. 6, p. 740-746, 2013. Disponível em: [10.1016/j.jpsychires.2013.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.02.001). Acesso em: 26 out. 2025.

ZUGNO, A. I.; DE MIRANDA, I. M.; BUDNI, J.; VOLPATO, A. M.; DE LUCA, R. D.; DEROZA, P. F.; et al. Effect of maternal deprivation on acetylcholinesterase activity and behavioral changes on the ketamine-induced animal model of schizophrenia. *Neuroscience*, v. 248, p. 252-260, 2013. Disponível em: [10.1016/j.neuroscience.2013.05.059](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.05.059). Acesso em: 15 set. 2025.

ZUGNO, A. I.; CHIPINDO, H. L.; VOLPATO, A. M.; BUDNI, J.; STECKERT, A. V.; DE OLIVEIRA, M. B.; et al. Omega-3 prevents behavior response and brain oxidative damage in

the ketamine model of schizophrenia. *Neuroscience*, v. 259, p. 223-231, 2014. Disponível em: [10.1016/j.neuroscience.2013.11.049](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.11.049). Acesso em: 07 out. 2025.

ZUGNO, A. I.; CANEVER, L.; HEYLMANN, A. S.; WESSLER, P. G.; STECKERT, A.; MASTELLA, G. A.; et al. Effect of folic acid on oxidative stress and behavioral changes in the animal model of schizophrenia induced by ketamine. *J Psychiatr Res.*, v. 81, p. 23-35, 2016. Disponível em: [10.1016/j.jpsychires.2016.06.013](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.06.013). Acesso em: 05 nov. 2025.

ZUGNO, A. I.; OLIVEIRA, M. B.; MASTELLA, G. A.; HEYLMANN, A. S.; CANEVER, L.; PACHECO, F. D.; et al. Increased risk of developing schizophrenia in animals exposed to cigarette smoke during the gestational period. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 75, p. 199-206, 2017. Disponível em: [10.1016/j.pnpbp.2017.02.010](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.02.010).

ANEXO A



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **09/05/2023**.

Titulo do projeto	O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL NA PROTEÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE ESQUIZOFRENIA NA PROLE NA FASE ADULTA.
Project title	THE EFFECT OF FOLIC ACID SUPPLEMENTATION DURING THE GESTATIONAL PERIOD IN PROTECTING THE DEVELOPMENT OF SCHIZOPHRENIA IN ADULT OFFSPRING.
Número do protocolo Protocol number	32/2023
Pesquisador principal Principal Investigator	ALEXANDRA IOPPI ZUGNO
Pesquisadores Researchers	Ana Luisa Schmidt Ferreira, Nicole Luiza Rizzotto, Murilo Oliveira de Carvalho, Nicole Bento de Oliveira, Amanda Kunz Godoi, Beatriz Tomé.
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	15/05/2023 a 15/05/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Idade/Peso	60 dias/100 – 350g
Número de animais	Feminino 48
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Idade/Peso	60 dias/100 – 350g
Número de animais	Masculino 72 + Feminino 72
Total	192
Procedência	Biotério UNESC

Obs.: utilização da sobra de 09 animais dos animais solicitados em virtude de que a mortalidade ter sido menor para realizar o treinamento da técnica para a indução de MCAO.

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

Josiane Budni
Josiane Budni

Criciúma-SC, 09 de maio de 2023