

Antioxidante resveratrol na modulação da via da quinurenina, um metabólito do triptofano em células gliais humanas

The antioxidant resveratrol modulates kynurenine pathways in human glial cells

El antioxidante resveratrol en la modulación de la vía de la quinurenina, un metabolito del triptofano en las células gliales humanas

Recebido: 24/06/2022 | Revisado: 02/07/2022 | Aceito: 08/07/2022 | Publicado: 17/07/2022

Paulina Ampessan Maccari

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8793-0993>

Universidade de Caxias do Sul, Brasil

E-mail: nutricionistapaulinamaccari@gmail.com

Ana Paula Vargas Visentin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5206-5285>

Universidade de Caxias do Sul, Brasil

E-mail: apvbragagnollo@ucs.br

Pedro Henrique Zatti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0424-0557>

Universidade de Caxias do Sul, Brasil

E-mail: phzatti@ucs.br

Mirian Salvador

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9404-0262>

Universidade de Caxias do Sul, Brasil

E-mail: msalvado@ucs.br

Catia Santos Branco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3709-3004>

Universidade de Caxias do Sul, Brasil

E-mail: csbranc1@ucsbr

Resumo

A depressão é considerada um problema de saúde pública e é uma das principais causas de incapacidade profissional ou social em todo o mundo. Antioxidantes são substâncias conhecidas por seus efeitos preventivos ou terapêuticos em várias doenças, incluindo a depressão. Esses benefícios podem ser explicados pela capacidade inerente dessas moléculas de modular as vias de sinalização celular. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos neuroprotetores do resveratrol em um modelo *in vitro* de depressão. Estudos experimentais foram realizados com células gliais U-87 MG derivadas da linhagem do cérebro humano. Diferentes concentrações de resveratrol foram utilizadas na presença ou ausência de quinurenina, um metabólito do aminoácido triptofano necessário para a síntese de serotonina. A viabilidade celular foi avaliada determinando a capacidade das células para reduzir o composto MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol 2-il] -2,5-difeniltetrazolina), além da avaliação morfológica celular. Para avaliar o nível de estresse oxidativo, as células gliais tratadas foram submetidas ao teste TBARS para quantificar a peroxidação lipídica. Doses de quinurenina de 100 e 200 μM foram citotóxicas, reduzindo a viabilidade das células gliais e alterando a morfologia celular. Essa redução foi acompanhada por aumento do dano oxidativo aos lipídios. O resveratrol (10 μM) se mostrou preventivo na manutenção da viabilidade das células gliais quando tratadas com quinurenina 100 μM . Os resultados poderão colaborar para o entendimento dos mecanismos envolvidos na depressão, contribuindo com o novo enfoque da capacidade dos polifenóis, compostos naturalmente encontrados na dieta, em tornarem-se agentes terapêuticos adjuvantes para o tratamento de distúrbios neuropsiquiátricos.

Palavras-chave: Antioxidantes; Polifenóis; Resveratrol; Depressão; Estresse oxidativo.

Abstract

Depression is considered a public health problem and is one of the main causes of professional or social disability worldwide. Antioxidants are substances known for their preventive or therapeutic effects on various diseases, including depression. These benefits can be explained by the inherent ability of these molecules to modulate cell signaling pathways. This study aimed to evaluate the neuroprotective effects of resveratrol in an *in vitro* model of depression. Experimental studies were performed with U-87 MG glial cells derived from the human brain lineage. Different concentrations of resveratrol were used in the presence or absence of kynurenine, a metabolite of the amino acid tryptophan necessary for the synthesis of serotonin. Cell viability was evaluated by determining the ability of cells to reduce the MTT compound (3-[4,5-dimethylthiazol 2-yl]-2,5-diphenyltetrazoline bromide), in addition to cell

morphological evaluation. To assess the level of oxidative stress, treated glial cells were subjected to the TBARS test to quantify lipid peroxidation. Kynurenine doses of 100 and 200 μM were cytotoxic, reducing glial cell viability and altering cell morphology. This reduction was accompanied by increased oxidative damage to lipids. Resveratrol (10 μM) was shown to be preventive in maintaining the viability of glial cells when treated with 100 μM kynurenine. The results may contribute to the understanding of the mechanisms involved in depression, contributing to the new focus on the ability of polyphenols, compounds naturally found in the diet, to become adjuvant therapeutic agents for the treatment of neuropsychiatric disorders.

Keywords: Antioxidants; Polyphenols; Resveratrol; Depression; Oxidative stress.

Resumen

La depresión es considerada un problema de salud pública y es una de las principales causas de incapacidad laboral o social a nivel mundial. Los antioxidantes son sustancias conocidas por sus efectos preventivos o terapéuticos en diversas enfermedades, incluida la depresión. Estos beneficios pueden explicarse por la capacidad inherente de estas moléculas para modular las vías de señalización celular. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos neuroprotectores del resveratrol en un modelo in vitro de depresión. Se realizaron estudios experimentales con células gliales U-87 MG derivadas del linaje del cerebro humano. Se utilizaron diferentes concentraciones de resveratrol en presencia o ausencia de quinurenina, un metabolito del aminoácido triptófano necesario para la síntesis de serotonina. La viabilidad celular se evaluó determinando la capacidad de las células para reducir el compuesto MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol 2-il]-2,5-difeniltetrazolina), además de la evaluación morfológica celular. Para evaluar el nivel de estrés oxidativo, las células gliales tratadas se sometieron a la prueba TBARS para cuantificar la peroxidación lipídica. Las dosis de quinurenina de 100 y 200 μM fueron citotóxicas, redujeron la viabilidad y alteraron la morfología celular. Esta reducción estuvo acompañada por un aumento del daño oxidativo a los lípidos. Se demostró que el resveratrol (10 μM) es preventivo en el mantenimiento de la viabilidad cuando se trata con quinurenina 100 μM . Los resultados pueden contribuir a la comprensión de los mecanismos involucrados en la depresión, contribuyendo al nuevo enfoque sobre la capacidad de los polifenoles para convertirse en agentes terapéuticos adyuvantes en trastornos neuropsiquiátricos.

Palabras clave: Antioxidantes; Polifenoles; Resveratrol; Depresión; Estrés oxidativo.

1. Introdução

Pesquisas demonstram que muitas doenças estão relacionadas com alimentação. A deficiência de nutrientes em doenças crônicas está associada a ingestão inadequada de alimentos essenciais ao longo da vida (Holben & Marshall, 2017). Os distúrbios neuropsiquiátricos fazem parte desse grupo. A depressão, um dos transtornos mais comuns (de Souza & Machado-de-Sousa, 2017), é considerada um problema de saúde pública, caracterizada por transtornos mentais, sendo uma das principais causas de inaptidão profissional e social. Universalmente, estima-se que 300 milhões de pessoas são afetadas por esta doença, em maior parte as mulheres são mais acometidas do que os homens (World Health Organization, 2017).

O aminoácido triptofano (Trp) é um componente essencial da dieta humana (Kałużna-Czaplińska et al., 2019). Seu papel é determinante em muitas funções metabólicas, especialmente em nível de sistema nervoso central (SNC). Este pode ser levado para SNC onde será convertido em serotonina (Keszthelyi et al., 2012). Uma pequena quantidade de Trp é armazenada no corpo, sendo necessária ingestão diária de cerca 5 mg/kg corporal para suprir as demandas do organismo, tendo em vista que se a quantidade for superior a essa ou inferior pode ser prejudicial à saúde (Strasser et al., 2016). Os alimentos que possuem quantidades significativas de Trp são: ovos, leite, carne, soja, batata, cereais, brócolis, couve-flor, berinjela, kiwi, ameixa, banana, nozes, peixes, frutos do mar e tomates (Melhem & Taleb, 2021).

A deficiência de Trp pode causar baixos níveis de serotonina e assim favorecer a insônia (Kaczor & Skalski, 2016), depressão, ansiedade (Kikuchi et al., 2021) e também impulsividade, irritabilidade e incapacidade de concentração (Roth et al., 2021), eventos comuns em pacientes com quadro depressivo. Logo, a ingestão dietética deste aminoácido é considerada de grande relevância, uma vez que atua na síntese de serotonina (5-HT) e melatonina (Palego et al., 2016). Esse também é usado para ajudar a resolver distúrbios cognitivos, ansiedade ou doenças neurodegenerativas. Além disso, a redução da secreção de serotonina está associada à obesidade, anorexia e bulimia nervosa (Russo et al., 2009) condições que podem acometer o paciente com depressão.

Algumas pesquisas revelam o uso de vitaminas e antioxidantes nas condições neuropsiquiátricas tendo resultados benéficos. A vitamina C, um sinergista de zinco, mantém os recursos antioxidantes do cérebro, atividade sináptica e desintoxicação em humanos (Gromova et al., 2017). Além das vitaminas, outros antioxidantes não enzimáticos são também encontrados nos alimentos *in natura*, como os polifenóis.

O resveratrol é um composto polifenólico (trans-3, 4', 5-trihidroxiestilbeno) que ocorre naturalmente em alimentos como uvas, ervas, mirtilo, chocolates e nozes (Malaguarnera, 2019; Meng et al., 2021). Estudos sugerem que este composto fenólico é um forte antioxidante na atenuação do estresse oxidativo, apresentando propriedades anti-inflamatórias, anti carcinogênicas e neuroprotetoras (Nalagoni & Karnati, 2016). Embora o resveratrol seja um polifenol bastante estudado, seus efeitos sobre a depressão ainda são pouco conhecidos.

Recentes estudos demonstram uma relação entre estresse oxidativo e doenças, incluindo desordens neurológicas, neurodegenerativas e neuropsiquiátricas, como a depressão (Salim, 2017). O estresse oxidativo desempenha um papel essencial no estímulo inflamatório, através da ativação de diversas citocinas pró-inflamatórias (Hussain et al., 2016). Uma das hipóteses que explica a associação entre estresse oxidativo, inflamação e depressão é o metabolismo da quinurenina. A inflamação ativa a via da quinurenina, um desvio na formação de serotonina a partir de Trp, acarretando em: a) aumento nos níveis de 3-hidroxiquinurenina (3HQ) e ácido quinolínico (AQ), metabólitos potencialmente neurotóxicos; e b) diminuição nos níveis de ácido quinurênico (KynA), um composto altamente neuroprotetor (Anderson & Maes, 2014). Essa mudança neurotóxica relativa no equilíbrio dos metabólitos da quinurenina tem sido associada a depressão (Cho et al., 2017).

O efeito dos antioxidantes na modulação da via metabólica da quinurenina permanece por ser elucidado. Nesse contexto, objetivo deste trabalho foi avaliar o possível efeito do resveratrol na neuroproteção de células gliais em modelo *in vitro* de depressão.

2. Metodologia

2.1 Reagentes

Para a realização desse trabalho, foi utilizado resveratrol e L-quinurenina, ambos adquiridos do Sigma-Aldrich Co. St. (Louis, MO, USA).

2.2 Linhagem Celular e Desenho Experimental

Os estudos foram realizados utilizando-se como modelo cultura de células gliais U-87 MG (ATTC® HTB-14™) proveniente de linhagem cerebral humana. A escolha dessa linhagem se deu em função do envolvimento das células da micróglia com a etiologia da depressão (Jia et al., 2021). A linhagem foi cultivada em meio EMEM (*Dulbecco's modified Eagle Medim*) suplementada com 15% soro fetal bovino inativado, 0,2mg/ml de l-glutamina, 100 UI/ml penicilina e 100 microgramas/ml de estreptomicina. A cultura foi mantida a 37°C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. As células foram tratadas com L-quinurenina (0,01; 0,1; 1; 10; 100 e 200 µM) na presença ou ausência de resveratrol em diferentes concentrações (10; 25; 50; 100; 250 e 500 µM) durante 24 horas. Um controle de solvente foi feito na concentração de 0,1% (v/v) utilizando DMSO.

2.3 Viabilidade Celular – MTT

A viabilidade celular da linhagem U-87 MG sob diferentes condições de tratamento foi avaliada através da determinação da capacidade das células em reduzir o composto MTT (3-[4,5-dimetiltiazol 2-il]-2,5 difenil brometo de tetrazolina) de acordo com metodologia descrita por Denizot e Lang (1986). Para isso, as células foram lavadas com tampão

PBS e então semeadas em 0,1 ml de meio de cultura contendo MTT. Após, as células foram incubadas por 3 horas. A solução de MTT foi então retirada e os cristais formados foram dissolvidos em 0,1 ml de dimetilsulfóxido (DMSO). Os resultados foram expressos em percentual (%) do controle.

2.4 Análise de Morfologia Celular

Alterações na morfologia celular foram observadas em frascos de cultura após 24h de diferentes tratamentos. As imagens foram obtidas utilizando o microscópio invertido (Optiphas-403F, USA).

2.5 Avaliação dos Níveis de Estresse Oxidativo

As células glias tratadas com quinurenina na presença e/ou ausência de resveratrol foram submetidas a análise dos níveis de estresse oxidativo. Foi realizado a quantidade dos produtos finais da peroxidação lipídica, os quais são capazes de reagir com TBARS, formando um produto de coloração rosa, que foi lido espectrofotometricamente a 530nm, segundo metodologia de Wills ED (Wills, 1966). Os resultados foram expressos em nmol de TBARS/mg de proteínas.

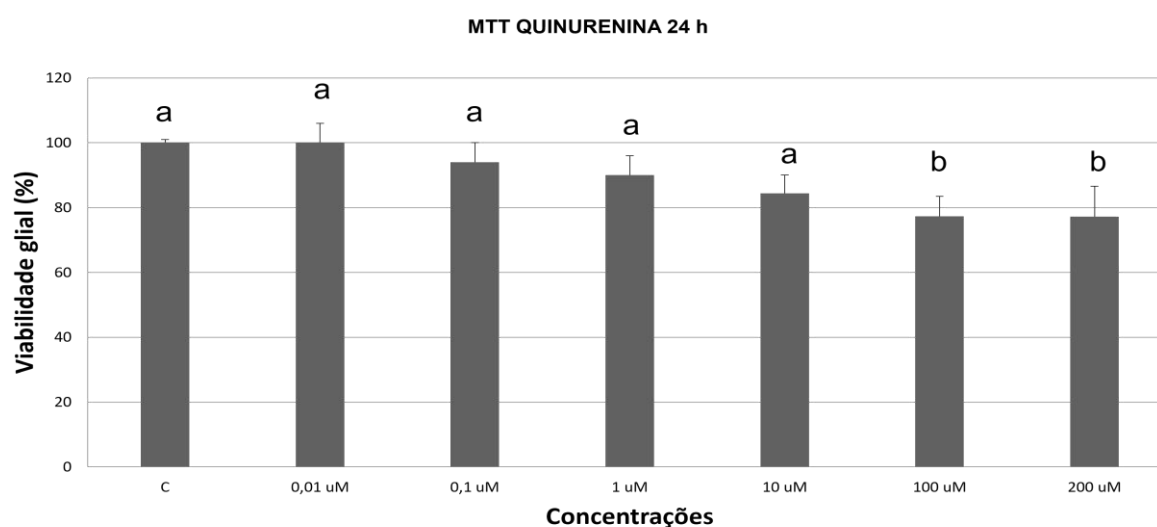
2.6 Análise Estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão de três testes independentes. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, versão 22.0) para Windows (Illinois, EUA). Os dados apresentados distribuição normal e as possíveis diferenças foram analisadas utilizando análise de variância (ANOVA) seguindo de pós-teste de Tukey. Os resultados foram considerados significativos para um $p < 0,05$.

3. Resultados

A viabilidade das células tratadas com quinurenina durante 24h encontra-se na Figura 1.

Figura 1: Viabilidade de células glias U87 tratadas com concentrações de L- quinurenina em 24 horas de exposição avaliadas pelo teste de MTT.

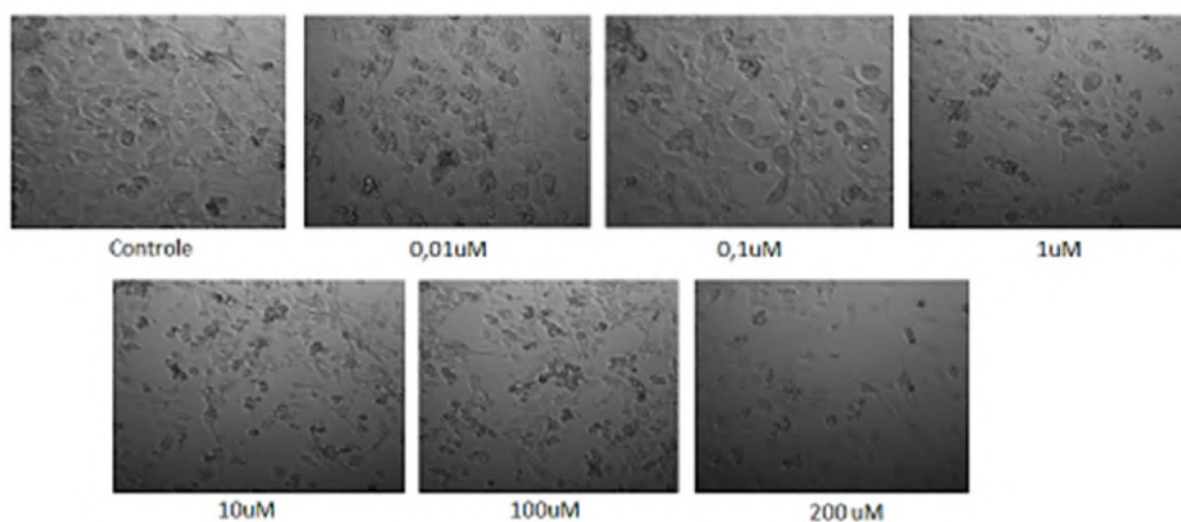


A porcentagem de viabilidade foi calculada pelo número de absorbância da amostra / absorbância do controle \times 100. Letras diferentes indicam diferença estatística por ANOVA e pós-teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Dados do trabalho elaborado pelos autores.

Observa-se que as doses de quinurenina até 100 μM não foram capazes de reduzir significativamente a viabilidade das células gliais. Por outro lado, em doses mais altas (100 e 200 μM) a viabilidade foi reduzida em 23% ($p < 0,05$). Essa redução, no entanto, não foi dose-dependente.

As alterações da viabilidade observadas pelo ensaio de MTT foram acompanhadas pelas alterações morfológicas mostradas nas fotomicrografias (Figura 2). A partir da dose de 100 μM é possível observadas alterações na confluência celular sendo que na dose de 200 μM observa-se redução no número de células.

Figura 2: Fotografias da morfologia das células tratadas com concentrações crescentes de quinurenina durante 24 horas

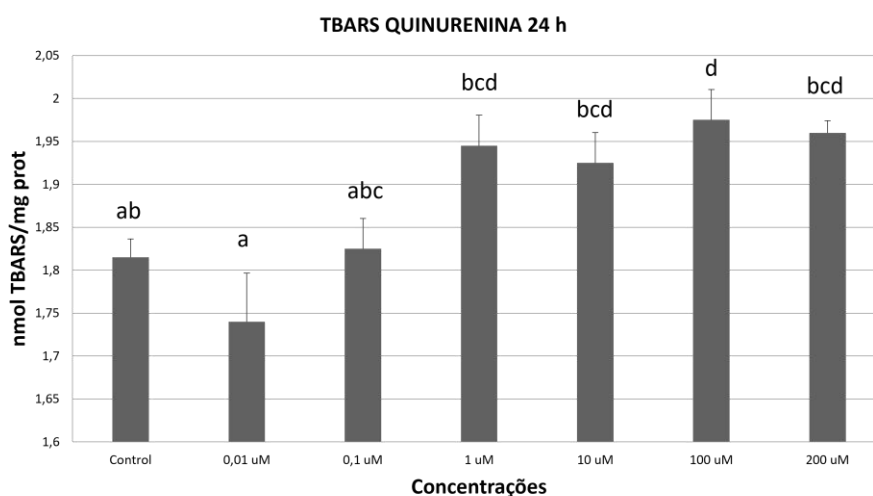


Ampliação de 40 vezes. Fonte: Autores

A fim de verificar se a redução da viabilidade tem relação com o estresse oxidativo foi quantificado os níveis de TBARS, um marcador de danos oxidativos aos lipídeos.

Na Figura 3 observa-se que a partir da dose 1 μM de quinurenina houve aumento de 7,16% nos níveis de TBARS em relação ao controle. As concentrações mais altas testadas (100 e 200 μM) induziram um aumento de 8,81% e 7,98% em relação ao controle, indicando que o efeito da quinurenina não é dose-dependente. Esses dados permitem inferir que, embora tendo manutenção da viabilidade, a célula já apresenta indícios de danos oxidativos.

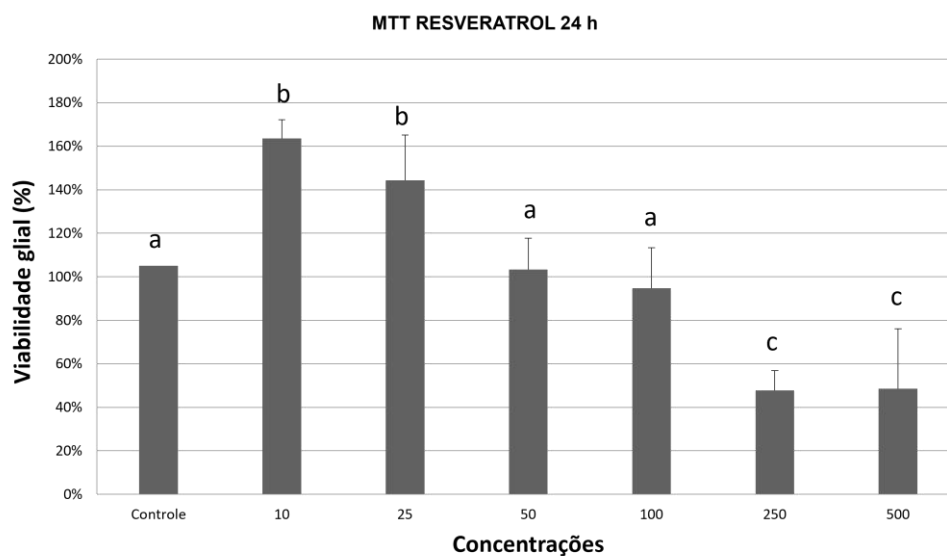
Figura 3: Peroxidação lipídica em células gliais U87 tratadas com concentrações de L-quinurenina



Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente por ANOVA e pós-teste de Turkey ($p < 0,05$). Fonte: Elaborado pelos autores.

Na Figura 4 estão apresentados os resultados de viabilidade celular glial com resveratrol. As células tratadas com as concentrações de 10 μ M e 25 μ M exibiram um aumento na taxa de proliferação de 60 a 40% respectivamente. Já as concentrações de 50 μ M e 100 μ M não foram citotóxicas, tendo resultados semelhantes ao controle de células não-tratadas. Por outro lado, 250 μ M e 500 μ M reduziram a viabilidade glial em torno de 50% em relação ao controle celular.

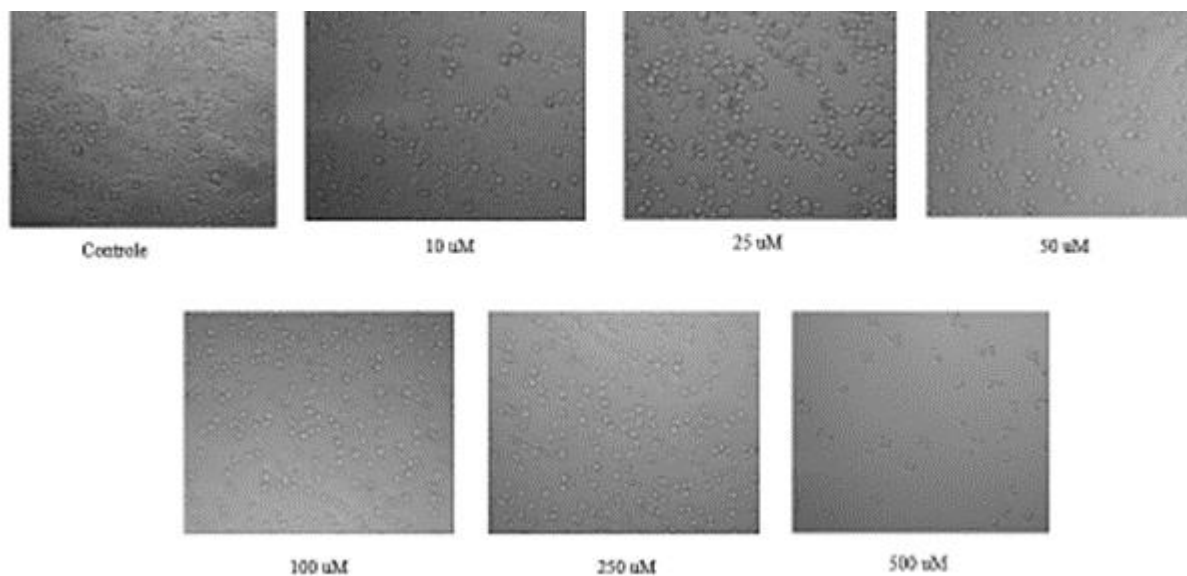
Figura 4: Viabilidade de células gliais U87 tratadas com concentrações de resveratrol em 24 horas de exposição avaliadas pelo teste de MTT.



A porcentagem de viabilidade foi calculada pelo número de absorbância de amostra / absorbância do controle x 100. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por ANOVA e pós teste de Turkey ($p < 0,05$). Resultados foram normalizados pelo controle de solvente (DMSO). Fonte: Dados do trabalho elaborado pelos autores.

Paralelamente, as células glias tratadas com resveratrol não sofreram alterações morfológicas significativas nas menores doses (10, 25 e 50 μM). A partir de 100 μM houve alterações na morfologia, com efeito mais expressivo para as doses 250 e 500 μM (Figura 5).

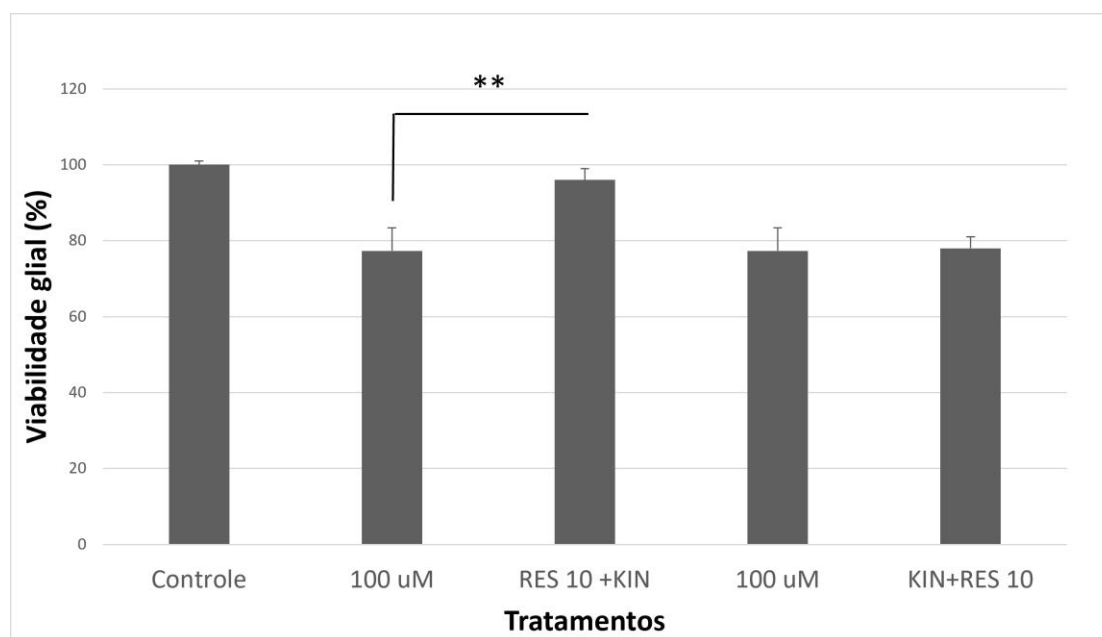
Figura 5: Fotos da morfologia das células tratadas com concentrações crescentes de resveratrol



Ampliação de 40 vezes. Fonte: Autores

A partir dos resultados obtidos com quinurenina foi escolhido a dose de 100 μM para as análises envolvendo o antioxidante resveratrol. Já para o resveratrol, foi escolhida a dose de 10 μM , que é a dose máxima efetivamente capaz de aumentar a proliferação celular em 50% (EC_{50}) para administrar anteriormente e posteriormente a exposição das células com quinurenina por 24 horas. Esses dados estão mostrados na Figura 6.

Figura 6: Viabilidade de células glias U87 tratadas com resveratrol (RES) 10 μ M antes e após a exposição de quinerunina (KIN) 100 μ M em 24 horas avaliadas pelo teste de MTT



A porcenta
100. **Dif
controle de

Observou-se que o resveratrol manteve a viabilidade glial em 96% antes da exposição à quinurenina 100 μ M, mostrando que a EC de resveratrol é capaz de aumentar a viabilidade, exercendo efeito preventivo. No entanto, o resveratrol não foi capaz de reverter a redução da viabilidade induzida pela quinurenina no pós-tratamento, embora tenha mantido a viabilidade em 78%, sem significância estatística.

4. Discussão

Os compostos fenólicos, dentre eles o resveratrol, amplamente encontrado em alimentos como a uva e seus derivados, o cacau e o amendoim, são considerados excelentes antioxidantes (Galiniak et al., 2019), estando associados à redução da incidência de uma série de doenças vinculadas a danos oxidativos, como as desordens do SNC (Visentin et al., 2020; Santos et al., 2022). As doenças neuropsiquiátricas estão incluídas nesse grupo. Tais enfermidades geram sofrimento para os indivíduos acometidos, para as famílias e para a sociedade, tornando-se uma problemática de saúde pública.

Uma das doenças neuropsiquiátricas mais comuns é a depressão. Estima-se que 322 milhões de pessoas são afetadas por esta doença, acometendo principalmente o sexo feminino. No Brasil, mais de onze milhões de pessoas sofrem desse distúrbio, colocando-o na segunda maior posição entre os países do continente americano (World Health Organization, 2017). Múltiplos fatores contribuem para o risco individual de desenvolvimento da depressão, variando de fatores genéticos a comportamento individual e características do contexto social de um indivíduo (Ettman et al., 2022). Além desses fatores, tem sido especulado que os antioxidantes parecem exercer influência nos mecanismos bioquímicos envolvidos com a etiologia da depressão, embora os mecanismos exatos ainda precisem de mais investigação.

Um recente trabalho do nosso grupo demonstrou que mulheres depressivas climatéricas apresentaram ingestão diminuída de compostos fenólicos. Esses achados são importantes, uma vez que tais compostos se correlacionaram

negativamente com sintomas depressivos (Oliveira et al., 2019). Uma das hipóteses que explicam a associações entre depressão e estresse oxidativo é o metabolismo da quinurenina, o qual reduz os níveis de serotonina no SNC.

Os efeitos da quinurenina na cultura de células de mamíferos são pouco estudados. Um estudo feito com células de baço murino suplementado com ácido quinurênico (AQ), um neuroprotetor endógeno produzido na via secundária da quinurenina, demonstrou que a dose de 5000 μM de AQ foi citotóxica, tendo reduzido a viabilidade celular pelo ensaio de MTT em torno de 35% (Małaczewska et al., 2016). Em nosso estudo, foi encontrado uma significância na redução da viabilidade celular com doses de 100 e 200 μM de quinurenina (substrato para produção de AQ), sendo, portanto, menores que as do estudo citado.

A literatura tem demonstrado os efeitos do resveratrol na modulação de fatores associados à saúde, tanto na prevenção quando para tratamento complementar de diversas patologias (Rauf et al., 2018; Galiniak et al., 2019; Tian & Liu, 2020). Uma das maneiras de exercer seus efeitos benéficos é através da minimização dos danos oxidativos.

Dentre as biomoléculas que podem ser lesadas pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) estão os lipídios, moléculas amplamente distribuídas nas membranas celulares e que podem ser quantificadas pelos níveis de TBARS, um marcador para avaliação do estresse oxidativo (Czerska et al., 2015). Rana et al. (2016) demonstraram, em modelo animal de depressão, um aumento significativo no dano ao lipídico no cérebro dos animais depressivos, confirmando o papel do estresse oxidativo na depressão. Um outro estudo, dessa vez conduzido por Gao et al. (2014), investigou os efeitos do resveratrol em culturas de neurônios corticais primários. Os resultados do ensaio MTT indicaram que o resveratrol (50 a 100 μM) protegeu significativamente os neurônios da morte celular estresse oxidativo-induzida, corroborando os dados obtidos em nosso estudo. Adicionalmente, nossos dados estão de acordo com o estudo de Hu et al. (2017), que demonstrou proteção em células neuronais pré-tratadas com resveratrol quando expostas ao estresse oxidativo.

Em outro estudo recente do nosso grupo demonstramos que o resveratrol, quando administrado na concentração de 10 μM em linhagem U87 por 1 hora, é capaz de reduzir a viabilidade neuroglial (Santos et al., 2022). Esse resultado pode ser explicado pela citotoxicidade exibida por esse polifenol na abordagem aguda, diferentemente de quando utilizado por períodos maiores, como o empregado no presente estudo. É importante destacar que o tempo de multiplicação da linhagem U87 é de aproximadamente 24 horas, e esse é o tempo necessário para que a divisão celular complete o seu ciclo, dando a oportunidade de a célula reparar-se ou não, dependendo da extensão do dano.

A partir dos dados obtidos, é possível inferir que o antioxidante resveratrol (10 μM por 24 horas) modula positivamente a dinâmica do microambiente glial, podendo representar uma alternativa terapêutica na prevenção do risco de desenvolvimento de depressão associada ao metabolismo disfunção de triptofano. Embora promissores, esses resultados ainda precisam ser validados em modelos *in vivo*.

5. Conclusão

O presente trabalho avaliou, em células gliais humanas, o efeito do resveratrol na via da quinurenina, um metabólito do triptofano que é necessário para síntese de serotonina, neurotransmissor diminuído na depressão. O resveratrol é um antioxidante presente em diversos alimentos e exibe efeito neuroprotetor em alguns estudos prévios.

Nesse trabalho foi demonstrado que o resveratrol exerceu efeito predominantemente preventivo, não sendo necessariamente terapêutico. Embora preliminares, os resultados poderão colaborar para um melhor entendimento dos mecanismos bioquímicos envolvidos na depressão.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS; 19/2551-0001738-3) e a Coordenação de Apoio de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

- Anderson, G., & Maes, M. (2014). Oxidative/Nitrosative Stress and Immuno-inflammatory Pathways in Depression: Treatment Implications. *Current Pharmaceutical Design*, 20(23), 3812–3847. <https://doi.org/10.2174/13816128113196660738>
- Cho, H. J., Savitz, J., Dantzer, R., Teague, T. K., Drevets, W. C., & Irwin, M. R. (2017). Sleep disturbance and kynurenine metabolism in depression. *Journal of Psychosomatic Research*, 99, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2017.05.016>
- Czerska, M., Mikołajewska, K., Zieliński, M., Gromadzińska, J., & Wąsowicz, W. (2015). Today's oxidative stress markers. *Medycyna Pracy*, 66(3), 393–405. <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00137>
- de Souza, I. M., & Machado-de-Sousa, J. P. (2017). Brazil: world leader in anxiety and depression rates. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 39(4), 384–384. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2017-2300>
- Denizot, F., & Lang, R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. *Journal of Immunological Methods*, 89(2), 271–277. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90368-6](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90368-6)
- Ettman, C. K., Adam, G. P., Clark, M. A., Wilson, I. B., Vivier, P. M., & Galea, S. (2022). Wealth and depression: A scoping review. *Brain and Behavior*, 12(3). <https://doi.org/10.1002/brb3.2486>
- Galiniak, S., Aebischer, D., & Bartusik-Aebischer, D. (2019). Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochimica Polonica*. https://doi.org/10.18388/abp.2018_2749
- Gao, D., Huang, T., Jiang, X., Hu, S., Zhang, L., & Fei, Z. (2014). Resveratrol protects primary cortical neuron cultures from transient oxygen-glucose deprivation by inhibiting MMP-9. *Molecular Medicine Reports*, 9(6), 2197–2204. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2086>
- Gromova, O. A., Torshin, I. Y., Pronin, A. V., & Kilchevsky, M. A. (2017). Synergistic application of zinc and vitamin C to support memory, attention and the reduction of the risk of the neurological diseases. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii Im. S.S. Korsakova*, 117(7), 112. <https://doi.org/10.17116/jnevro201711771112-119>
- Holben, D. H., & Marshall, M. B. (2017). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Food Insecurity in the United States. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 117(12), 1991–2002. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2017.09.027>
- Hu, W., Yang, E., Ye, J., Han, W., & Du, Z. (2017). Resveratrol protects neuronal cells from isoflurane-induced inflammation and oxidative stress-associated death by attenuating apoptosis via Akt/p38 MAPK signaling. *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5527>
- Hussain, S., Khan, F., Cao, W., Wu, L., & Geng, M. (2016). Seed Priming Alters the Production and Detoxification of Reactive Oxygen Intermediates in Rice Seedlings Grown under Sub-optimal Temperature and Nutrient Supply. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00439>
- Jia, X., Gao, Z., & Hu, H. (2021). Microglia in depression: current perspectives. *Science China Life Sciences*, 64(6), 911–925. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1815-6>
- Kaczor, M., & Skalski, M. (2016). Treatment of behavioral sleep problems in children and adolescents – literature review. *Psychiatria Polska*, 50(3), 571–584. <https://doi.org/10.12740/PP/41294>
- Kałużna-Czaplińska, J., Gałtarek, P., Chirumbolo, S., Chartrand, M. S., & Bjørklund, G. (2019). How important is tryptophan in human health? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(1), 72–88. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1357534>
- Keszthelyi, D., Troost, F. J., Jonkers, D. M., van Donkelaar, E. L., Dekker, J., Buurman, W. A., & Masclee, A. A. (2012). Does acute tryptophan depletion affect peripheral serotonin metabolism in the intestine? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(3), 603–608. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.028589>
- Kikuchi, A. M., Tanabe, A., & Iwahori, Y. (2021). A systematic review of the effect of L-tryptophan supplementation on mood and emotional functioning. *Journal of Dietary Supplements*, 18(3), 316–333. <https://doi.org/10.1080/19390211.2020.1746725>
- Małaczewska, J., Siwicki, A. K., Wójcik, R. M., Turski, W. A., & Kaczorek, E. (2016). The effect of kynurenic acid on the synthesis of selected cytokines by murine splenocytes – in vitro and ex vivo studies. *Central European Journal of Immunology*, 1, 39–46. <https://doi.org/10.5114/cej.2016.58815>
- Malaguarnera. (2019). Influence of Resveratrol on the Immune Response. *Nutrients*, 11(5), 946. <https://doi.org/10.3390/nu11050946>
- Melhem, N. J., & Taleb, S. (2021). Tryptophan: From Diet to Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9904. <https://doi.org/10.3390/ijms22189904>
- Meng, T., Xiao, D., Muhammed, A., Deng, J., Chen, L., & He, J. (2021). Anti-Inflammatory Action and Mechanisms of Resveratrol. *Molecules*, 26(1), 229. <https://doi.org/10.3390/molecules26010229>
- Nalagani, C. S. R., & Karnati, P. R. (2016). Protective effect of resveratrol against neuronal damage through oxidative stress in cerebral hemisphere of

aluminum and fluoride treated rats. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(2), 78–82. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0009>

Oliveira, N. G. de, Teixeira, I. T., Theodoro, H., & Branco, C. S. (2019). Dietary total antioxidant capacity as a preventive factor against depression in climacteric women. *Dementia & Neuropsychologia*, 13(3), 305–311. <https://doi.org/10.1590/1980-57642018dn13-030007>

Palego, L., Betti, L., Rossi, A., & Giannaccini, G. (2016). Tryptophan Biochemistry: Structural, Nutritional, Metabolic, and Medical Aspects in Humans. *Journal of Amino Acids*, 2016, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2016/8952520>

Rana, P., Sharma, A. K., Jain, S., Deshmukh, P., Bhattacharya, S. K., Banerjee, B. D., & Mediratta, P. K. (2016). Comparison of fluoxetine and 1-methyl-L-tryptophan in treatment of depression-like illness in *Bacillus Calmette-Guerin*-induced inflammatory model of depression in mice. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 27(6). <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2015-0120>

Rauf, A., Imran, M., Butt, M. S., Nadeem, M., Peters, D. G., & Mubarak, M. S. (2018). Resveratrol as an anti-cancer agent: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(9), 1428–1447. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1263597>

Roth, W., Zadeh, K., Vekariya, R., Ge, Y., & Mohamadzadeh, M. (2021). Tryptophan Metabolism and Gut-Brain Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 2973. <https://doi.org/10.3390/ijms22062973>

Russo, S. J., Wilkinson, M. B., Mazei-Robison, M. S., Dietz, D. M., Maze, I., Krishnan, V., Renthal, W., Graham, A., Birnbaum, S. G., Green, T. A., Robison, B., Lesselyong, A., Perrotti, L. I., Bolanos, C. A., Kumar, A., Clark, M. S., Neumaier, J. F., Neve, R. L., Bhakar, A. L., & Nestler, E. J. (2009). Nuclear Factor B Signaling Regulates Neuronal Morphology and Cocaine Reward. *Journal of Neuroscience*, 29(11), 3529–3537. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6173-08.2009>

Salim, S. (2017). Oxidative Stress and the Central Nervous System. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 360(1), 201–205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>

Santos, J. M. dos, Visentin, A. P. V., Scariot, F. J., Echeverrigaray, S., Salvador, M., & Branco, C. S. (2022). Efeito de diferentes polifenóis frente a neurotoxicidade induzida por ácido quinolínico em células gliais U87-MG. *Research, Society and Development*, 11(1), e28811124865. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.24865>

Strasser, B., Gostner, J. M., & Fuchs, D. (2016). Mood, food, and cognition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 19(1), 55–61. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000237>

Tian, B., & Liu, J. (2020). Resveratrol: a review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(4), 1392–1404. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10152>

Visentin, A. P. V., Colombo, R., Scotton, E., Fracasso, D. S., da Rosa, A. R., Branco, C. S., & Salvador, M. (2020). Targeting Inflammatory-Mitochondrial Response in Major Depression: Current Evidence and Further Challenges. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–20. <https://doi.org/10.1155/2020/2972968>

Wills, E. (1966). Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochemical Journal*, 99(3), 667–676. <https://doi.org/10.1042/bj0990667>

World Health Organization. (2017). *World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals*. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255336/9789241565486-eng.pdf>