

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA

Vanessa Sovrani

**Efeitos glioprotetores do resveratrol em modelos experimentais de envelhecimento,
hiperglicemia e imunossupressão em células astrogliais**

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Sovrani, Vanessa
Efeitos glioprotetores do resveratrol em modelos
experimentais de envelhecimento, hiperglicemia e
imunossupressão em células astrogliais / Vanessa
Sovrani. -- 2022.
163 f.
Orientador: André Quincozes dos Santos.

Coorientador: Guilhian Leipnitz.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:
Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Ciências Biológicas. 2. Bioquímica. 3.
Neurociências. I. dos Santos, André Quincozes, orient.
II. Leipnitz, Guilhian, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Vanessa Sovrani

Efeitos glioprotetores do resveratrol em modelos experimentais de envelhecimento, hiperglicemia e imunossupressão em células astrogliais

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. André Quincozes dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Guilhian Leipnitz

Porto Alegre

2022

“Estou entre aqueles que pensam que a ciência tem uma grande beleza.”

Marie Curie

Agradecimentos

À UFRGS e ao Departamento de Bioquímica pela possibilidade de realizar essa incrível e desafiadora etapa. Ao CNPq, CAPES e FAPERGS pelo financiamento e concessão da bolsa para que essa pesquisa pudesse ser realizada.

Ao André, meu orientador, que abriu as portas de seu laboratório em um dos momentos mais difíceis da minha carreira e me incentivou em todas as etapas para a conclusão deste trabalho. Muito obrigada pela oportunidade, pela confiança, pela orientação e pelos ensinamentos durante essa trajetória!

Ao Guilhian e CA, por serem o apoio que eu precisava quando o doutorado parecia estar perdido. Guilhian, muito obrigada também pela coorientação, pelo incentivo e por deixar as portas do seu laboratório sempre abertas para colaboração.

À Lari, minha coorientadora de coração, por todos os experimentos, correções, colaborações e até mesmo histórias engraçadas nos corredores da Bioquímica. O LabGlio não seria o mesmo sem você!

Aos colegas e amigos do LabGlio, pelo acolhimento e pela colaboração em todos os momentos compartilhados. Aprendi muito com vocês e levo grandes amigos deste laboratório!

Aos colaboradores e funcionários da Bioquímica por todo o trabalho que mantém o departamento em funcionamento.

A todos que colaboraram na realização dos experimentos desta tese.

Aos meus amigos que foram parte fundamental desse trabalho, por fornecerem um suporte e carinho imensos. Jéssica, Giselle, Marcelo, Deizi, Ana, Carmem, Sarah, Regina... Cada um de vocês está em um canto do mundo, mas mesmo de longe foram muitas vezes o meu ponto de apoio. Sem vocês eu não teria conseguido!

À Herta, minha mãe científica, que acabou se tornando a minha segunda mãe. Muito obrigada pela primeira iniciação científica e por todo o apoio, amor e cuidado.

À Cláudia e Bruna, minha psiquiatra e minha psicóloga, por todo o cuidado e paciência nesses anos. Vocês foram fundamentais para que eu pudesse estar aqui hoje!

À Cafeína, minha gata (mas o agradecimento também poderia ser à molécula), que foi minha companheira no período de pandemia e deixou tudo um pouco mais leve.

Ao João, meu namorado, que chegou de forma totalmente inesperada na minha vida e trouxe muito apoio, amor, cuidado e companheirismo.

À Vânia, minha irmã, por me apoiar sempre em qualquer lugar que eu esteja e saber que sempre quando eu voltar para casa eu terei um ponto de apoio.

À Cândida, minha mãe, uma das minhas principais incentivadoras. Muito obrigada por todo o amor, carinho, apoio e suporte durante toda a trajetória que eu tive até chegar aqui. Eu tenho o maior orgulho em dizer que essa tese não é minha, é nossa!

Por fim, a todos que colaboraram de alguma forma para que eu chegasse até aqui. Foram tantas pessoas envolvidas nesse processo de crescimento pessoal e profissional que talvez não caberiam aqui nestas páginas de agradecimentos. Muito obrigada a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização desta tese!

SUMÁRIO

PARTE I	1
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
LISTA DE ABREVIATURAS	4
INTRODUÇÃO	6
1. Sistema nervoso central	6
1.1. Astrócitos	7
1.1.1. Marcadores astrogliais.....	9
1.1.2. Sistema glutamatérgico	10
1.1.3. Fatores tróficos.....	11
2. Estresse oxidativo	11
3. Resposta inflamatória	13
4. Células astrogliais no processo de envelhecimento.....	15
5. Células astrogliais e alterações no metabolismo da glicose	17
6. Células astrogliais e imunossupressão.....	18
7. Glioproteção e moléculas glioprotetoras	20
7.1. Resveratrol	21
JUSTIFICATIVA	24
OBJETIVOS	25
Objetivo Geral.....	25
Objetivos específicos	25
PARTE II	26
CAPÍTULO I	27

CAPÍTULO II.....	40
CAPÍTULO III.....	72
CAPÍTULO IV.....	102
PARTE III	117
DISCUSSÃO	118
CONCLUSÕES	137
PERSPECTIVAS.....	138
REFERÊNCIAS.....	139
LISTA DE FIGURAS.....	154
ANEXOS	155

PARTE I

RESUMO

As células astrogliais são fundamentais para a manutenção da homeostase do sistema nervoso central (SNC), participando ativamente da síntese, liberação e captação de neurotransmissores, do metabolismo energético celular, dos sistemas de defesa antioxidante, da resposta inflamatória, da formação e manutenção da barreira hematoencefálica, assim como da liberação de fatores tróficos. Devido a essas características, os astrócitos tem se tornado um importante alvo de estudos para a homeostasia do SNC. Baseado nisso, destacamos a utilização de moléculas glioprotetoras, incluindo o resveratrol, como estratégias terapêuticas de modulação astrogliar em condições crônicas, tais como doenças neurológicas e imunológicas, diabetes e no processo de envelhecimento. Nesse sentido, o objetivo desta tese foi avaliar os efeitos da exposição a longo prazo de resveratrol em condições experimentais de envelhecimento, hiperglicemia e imunossupressão ($IFN\alpha/\beta R^{-/-}$) *in vitro*, caracterizando o potencial glioprotetor desta molécula e os seus potenciais mecanismos de ação em cada modelo experimental. Verificamos a modulação da expressão da proteína cinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK), da heme oxigenase-1 (HO-1), do fator nuclear κB (NF κB), do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), do coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PGC-1 α) e da sirtuína 1 (SIRT1), além da modulação de parâmetros astrogliais relacionados com a homeostase celular, como controle do estresse oxidativo, redução de citocinas pró-inflamatórias e aumento de citocinas anti-inflamatórias. Assim, a análise dos nossos resultados demonstra que o resveratrol possui mecanismos de ação glioprotetores comuns nos modelos experimentais avaliados. Nossos achados reforçam seu efeito glioprotetor, assim como seus mecanismos adjacentes e integram uma nova abordagem com perfil preventivo de utilização a longo prazo do resveratrol.

Palavras-chave: Células astrogliais, Envelhecimento, Glioproteção, Hiperglicemia, Imunossupressão, Resveratrol.

ABSTRACT

Astroglial cells are fundamental in maintaining the homeostasis of the central nervous system (CNS), particularly by the synthesis, release, and uptake of neurotransmitters; cellular energy metabolism; antioxidant defense; inflammatory response; formation and maintenance of the blood-brain barrier; as well as the release of trophic factors. Due to these characteristics, astrocytes have become an important study target for CNS studies. Based on that, we highlight the use of glioprotective molecules, including resveratrol, as therapeutic strategies for astroglial modulation in chronic conditions, such as neurological and immunological diseases, diabetes, and in the aging process. In this sense, this study aimed to evaluate the effects of long-term exposure to resveratrol under *in vitro* experimental conditions of aging, hyperglycemia, and immunosuppression (IFN α / β R^{-/-}), as well as to verify the glioprotective potential of this molecule and its potential mechanisms in each experimental model. We verified the modulation of AMP-activated protein kinase (AMPK), heme oxygenase 1 (HO-1), nuclear factor κ B (NF κ B), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC-1 α), and sirtuin 1 (SIRT1) pathways, in addition to the modulation of astroglial parameters related to cell homeostasis, such as the balance of oxidative stress, reduction of pro-inflammatory cytokines and increase of anti-inflammatory cytokines. Thus, the analysis of our results demonstrates that resveratrol has common glioprotective action mechanisms in the evaluated experimental models. Finally, our results reinforce the glioprotective effect of resveratrol, as well as its adjacent mechanisms, and integrate a new approach with a preventive profile for long-term use.

Keywords: Aging, Astroglial cells, Glioprotection, Hyperglycemia, Immunosuppression, Resveratrol.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPK	Proteína cinase ativada por monofosfato de adenosina
AGE	Produto final de glicação avançada
AQP4	Aquaporina-4
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hematoencefálica
CAT	Catalase
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
Cx	Conexinas gliais
DAMP	Padrões moleculares associados a danos
EAAC1	Transportador de glutamato
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GCL	Glutamato-cisteína ligase
GDNF	Fator neurotrófico derivado de células da glia
GFAP	Proteína glial fibrilar ácida
GLAST	Transportador glutamato-aspartato
GLT-1	Transportador de glutamato 1
GLUT1	Transportador de glicose 1
GR	Glutathione redutase
GS	Glutamina sintetase
GSH	Glutathione reduzida
HO-1	Heme oxigenase-1
IFN	Interferon

IL	Interleucina
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
NFκB	Fator nuclear κB
NGF	Fator de crescimento nervoso
NLRP3	Proteína 3 com domínio de pirina da família NLR
Nrf2	Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2
PAMP	Padrões moleculares associados a patógenos
PARP	Poli (ADP-ribose) polimerase
PGC-1α	Coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama
PI3K	Fosfoinosítido 3-cinase
RAGE	Receptor para produtos de glicação avançada
RSV	Resveratrol
SIRT1	Sirtuína 1
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
TLR	Receptor do tipo <i>toll like</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

INTRODUÇÃO

1. Sistema nervoso central

A complexidade do cérebro é notável pelo número de células, aproximadamente 200 bilhões, distribuídas em uma área limitada, mas extremamente importante morfológica e funcionalmente (Verkhatsky et al., 2019). Esta complexidade está obviamente relacionada a inúmeros processos fisiológicos e patológicos, por isso, o entendimento do funcionamento do sistema nervoso central (SNC) é uma área crucial dentro do campo da Neurociência (DiLuca & Olesen, 2014).

O SNC é uma estrutura bilateral e essencialmente simétrica, com duas partes principais, a medula espinal e o encéfalo (Kandel et al., 2014). Neste contexto, o hipotálamo é uma importante região encefálica que controla vários processos fisiológicos, como metabolismo, reprodução e ritmo circadiano. Esta estrutura é um centro integrador crucial do SNC, responsável pela regulação das atividades homeostáticas, incluindo o balanço energético sistêmico (Saper & Lowell, 2014). Sua capacidade de adaptação a sinais fisiológicos e ao ambiente demonstram que o hipotálamo possui uma notável capacidade de sofrer transformações dinâmicas não só durante o desenvolvimento, mas também na idade adulta. Assim, a desregulação de funções hipotalâmicas pode predispor indivíduos à distúrbios metabólicos (Bhusal et al., 2022; Santos et al., 2018).

Esses sinais e ações em diferentes regiões cerebrais são realizados por células neurais interconectadas. Em relação a essa extensa população de células, podemos verificar duas classes principais no sistema nervoso: os neurônios e as células gliais. Os neurônios são as unidades básicas do encéfalo especializadas na condução de sinais elétricos a longa distância, responsáveis pela recepção e transmissão de sinais,

carregando as informações e distribuindo para as células adjacentes (Kandel et al., 2014). O encéfalo também possui as células gliais, que são fundamentais para a manutenção da homeostasia do SNC, particularmente devido a comunicação entre neurônios e astrócitos (Verkhratsky et al., 2019). Esta funcionalidade é fundamental tanto para o contexto fisiológico, quando as células gliais realizam suas tarefas de modulação, sinalização e homeostasia, bem como para o contexto patológico, quando essas células podem sofrer remodelação reativa a fim de preservar, reparar e restaurar a homeostase cerebral (Verkhratsky et al., 2019).

As células gliais podem ser divididas em duas principais classes: microglia e macroglia. As células microglicais fazem parte do sistema imunológico residente no SNC, enquanto as macroglicais correspondem aos (1) oligodendrócitos e células precursoras de oligodendrócitos, (2) células de Schwann, (3) células ependimais e (4) astrócitos. Os oligodendrócitos e células de Schwann estão relacionados ao processo de mielinização e transmissão/comunicação com os axônios, enquanto as células ependimais revestem os ventrículos cerebrais (Kandel et al., 2014). Os astrócitos foram o objetivo deste estudo e serão detalhados a seguir.

1.1. Astrócitos

Os astrócitos integram importantes funções fisiológicas, participando ativamente de sistemas de neurotransmissão, bem como coordenando processos metabólicos, sinalização hormonal e integração de sistemas neurais centrais e periféricos (Bélanger et al., 2011; García-Cáceres et al., 2019). Assim, entre as principais funções desempenhadas pelos astrócitos destacam-se: a formação e manutenção da barreira hematoencefálica (BHE), suporte metabólico aos neurônios através do metabolismo da glicose, glicogênio e ciclo glutamato-glutamina, regulação

de neurotransmissores, participação na homeostase iônica, liberação de fatores tróficos e de crescimento para neurônios e outras células gliais, produção e liberação de mediadores inflamatórios e participação na homeostase redox (Bélanger et al., 2011; Kandel et al., 2014; Quincozes-Santos et al., 2021).

Como os astrócitos oferecem suporte para os neurônios e demais células gliais, o estudo das características morfofuncionais e bioquímicas dessas células pode auxiliar na compreensão de mecanismos fisiopatológicos, tornando os astrócitos importantes alvos de estudos para diferentes condições do SNC. Nesse sentido, a cultura de astrócitos constitui um importante instrumento para estudo dessas características, bem como de processos bioquímicos como sinalização de cálcio, liberação e síntese de gliotransmissores (Galland et al., 2019; Quincozes-Santos et al., 2021). As culturas primárias de astrócitos permitem o estudo dessas células em condições basais ou de injúria, sendo demonstrado que a cultura primária de astrócitos compartilha características de expressão gênica em relação a astrócitos recém-isolados (Galland et al., 2019; Hertz et al., 2017). Além disso, culturas de astrócitos de ratos maduros representam uma poderosa ferramenta para a investigação das propriedades celulares, bioquímicas e moleculares de astrócitos no envelhecimento cerebral (Bellaver et al., 2017). Também é importante destacar, que uma alternativa ao uso de culturas primárias é o uso de linhagens celulares, como as células C6. As células astrogliais C6 têm sido empregadas para estudos neuroquímicos e constituem um modelo confiável para estudos de funcionalidade astrogliar, sendo descritas na literatura para estudos de diferentes parâmetros astrocitários (Arús et al., 2017; Bobermin et al., 2012; Quincozes-Santos et al., 2013). Após determinado número de passagens, aproximadamente 100, elas apresentam um perfil altamente preditivo de células astrogliais, como a expressão da proteína S100B, da proteína ácida fibrilar glial (GFAP), atividade da enzima

glutamina sintetase (GS) e metabolismo do glutamato (Benda et al., 1968; dos Santos et al., 2006; Galland et al., 2019). Portanto, as células C6, assim como astrócitos *in vitro*, vêm sendo utilizados amplamente para avaliar parâmetros astrogliais, como captação de glutamato, resposta ao estresse oxidativo/função redox, resposta inflamatória e vias de sinalização.

1.1.1. Marcadores astrogliais

Células astrogliais podem atuar de forma citotóxica ou citoprotetora, dependendo de seu fenótipo de ativação, por isso existem importantes fatores expressos por estas células que estão diretamente relacionados com esse desempenho funcional e constituem importantes marcadores para distinção de condições fisiológicas ou patológicas do SNC (Jurga et al., 2021).

Os marcadores astrogliais podem ser expressos como proteínas de membrana, proteínas intracelulares ou marcadores de metabolismo energético (Jurga et al., 2021). Neste sentido, a GFAP é considerada uma proteína estrutural marcadora clássica de astrócitos. Embora seja expressa de forma diversa em células de diferentes regiões cerebrais, sua função está relacionada ao suporte mecânico dos astrócitos e da BHE (Jurga et al., 2021; Liedtke et al., 1996). Nesse contexto, dois outros filamentos intermediários também são importantes na manutenção da estabilidade celular, vimentina e nestina (Bozic et al., 2021).

Astrócitos mantêm a homeostase iônica, energética e de neurotransmissão através do transporte seletivo de moléculas via canais transmembrana e transporte de proteínas. Por isso, a expressão de algumas dessas proteínas pode ser utilizada para monitorar o estado funcional destas células. Nesse contexto, as conexinas gliais (Cx), particularmente a Cx43, formam canais de junções comunicantes que estabelecem uma

rede de comunicação glial (Jurga et al., 2021). Em relação às proteínas transmembrana, outro importante marcador de astrócitos é a aquaporina 4 (AQP4), uma proteína canal que está presente nas extremidades dos astrócitos, onde promove a regulação do transporte de água através da BHE, em conjunto com a homeostase de íons K^+ (Bozic et al., 2021; Sharma et al., 2015).

1.1.2. Sistema glutamatérgico

O glutamato é um neurotransmissor essencial para o funcionamento do SNC, desempenhando um importante papel no metabolismo energético cerebral, em vias de sinalização e, portanto, na homeostase cerebral (Bélangier et al., 2011; Hertz, 2006). Os astrócitos são essenciais nas sinapses glutamatérgicas, uma vez que desempenham um papel essencial na sua regulação através da captação, metabolismo e liberação deste neurotransmissor (Anderson & Swanson, 2000; Schousboe & Waagepetersen, 2005). Nesse sentido, os níveis extracelulares de glutamato são regulados principalmente pelos astrócitos através de dois principais transportadores em roedores: transportador de glutamato tipo 1 (GLT-1) e transportador glutamato-aspartato (GLAST) (Anderson & Swanson, 2000). Esses transportadores são abundantes em astrócitos, mas com expressão variável de acordo com o tipo celular e região do SNC (Bozic et al., 2021; Jurga et al., 2021). No entanto, as células astrogliais C6 expressam principalmente o transportador carreador de aminoácidos excitatórios 1 (EAAC1) (Murphy et al., 2009; Quincozes-Santos et al., 2017).

Além disso, o metabolismo do glutamato também está diretamente associado a GS, uma enzima encontrada predominantemente em astrócitos no SNC, sendo portanto, um clássico marcador astrocitário (Bozic et al., 2021; Jurga et al., 2021). A GS desempenha um papel fundamental no ciclo glutamato-glutamina, em relação a

conversão do glutamato em glutamina (Jurga et al., 2021). Considerando o papel da GS no metabolismo glutamatérgico, alterações na sua funcionalidade podem afetar a concentração de glutamato nos astrócitos, prejudicando sua capacidade de captar o glutamato do meio extracelular (Hertz, 2006). Nesse sentido o declínio na expressão ou atividade da GS pode estar relacionado a diversas doenças no SNC (Matés et al., 2002).

1.1.3. Fatores tróficos

Os fatores tróficos são geralmente peptídeos ou pequenas proteínas secretadas que suportam o crescimento, sobrevivência e diferenciação das células do SNC (Pöyhönen et al., 2019). Como já descrito anteriormente, os astrócitos participam do processo de liberação de fatores tróficos para o SNC, seja para os neurônios ou para as demais células da glia (Bélanger et al., 2011; Kandel et al., 2014; Quincozes-Santos et al., 2021). Entre os fatores tróficos sintetizados e liberados pelos astrócitos, podemos citar o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator neurotrófico derivado de células da glia (GDNF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e proteína S100B que promovem a sobrevivência celular, bem como a plasticidade sináptica (Matias et al., 2019). Estes fatores tróficos também podem ter como alvo outras células da glia e/ou células da BHE, participando assim da diferenciação, ativação e metabolismo dessas regiões (Farina et al., 2007). Além disso, devido a seu papel de manutenção das células do SNC, os fatores tróficos também desempenham papéis significativos durante distúrbios neurodegenerativos (Pöyhönen et al., 2019).

2. Estresse oxidativo

O SNC mantém uma alta taxa metabólica e conseqüentemente uma grande produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio

(ERN) (Salim, 2017), podendo ocorrer frequentemente um desequilíbrio entre a produção dessas espécies reativas e as defesas antioxidantes (Chen et al., 2020). Neste sentido, as ERO/ERN podem fornecer um rápido mecanismo de modulação para o estado redox de proteínas de sinalização, canais iônicos, transportadores e fatores de transcrição (Aguilera et al., 2018; Quincozes-Santos et al., 2021). Embora as ERO/ERN desempenhem funções moduladoras em condições fisiológicas, a produção excessiva dessas espécies pode contribuir para o desenvolvimento e progressão de quadros patológicos (Chen et al., 2020; Quincozes-Santos et al., 2021).

Assim, embora os astrócitos em certas condições patológicas possam ser uma das principais fontes de ERO/ERN, eles também produzem uma resposta antioxidante efetiva que colabora e/ou mantém a homeostasia redox do SNC (Chen et al., 2020). Nesse sentido, a glutatona (GSH) contribui como uma importante defesa antioxidante cerebral. A GSH pode neutralizar radicais livres de forma não-enzimática ou servir de substrato para a enzima antioxidante glutatona peroxidase (GPx) (Dringen, 2000). A GSH atua em vários processos celulares para manutenção redox, metabolismo de nutrientes, proliferação celular e transdução de sinal (Aquilano et al., 2014). Além disso, os astrócitos apresentam níveis mais elevados de GSH em relação aos neurônios, logo desempenham um importante papel na defesa antioxidante do SNC (Bélanger & Magistretti, 2009; Dringen, 2000).

Os astrócitos também possuem enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), e glutatona redutase (GR) (Chen et al., 2020). Em conjunto, essas defesas apresentam um papel crucial na homeostase cerebral e a depleção delas, assim como o aumento do estresse oxidativo, pode estar intimamente relacionada à resposta inflamatória nas células gliais (Lee et al., 2010; Quincozes-Santos et al., 2021).

Em uma situação de dano oxidativo, pode ocorrer a indução de uma importante proteína, a heme oxigenase 1 (HO-1), que participa da defesa celular contra o estresse oxidativo, além de ser um importante alvo terapêutico correlacionado a estratégias neuroprotetoras (Jazwa & Cuadrado, 2010). Essa indução está relacionada à ativação de vários fatores de transcrição, como o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) (Bolaños, 2016). Mudanças no balanço redox também estão associadas ao coativador 1-alfa do receptor gama ativado por proliferador de peroxissomo (PGC-1 α). O PGC-1 α possui múltiplos alvos, sendo capaz de simultaneamente induzir a transcrição de muitos genes envolvidos no metabolismo energético e homeostase redox/função mitocondrial (Rius-Pérez et al., 2020).

3. Resposta inflamatória

Estresse oxidativo e inflamação são processos fortemente relacionados, sendo as células gliais um ponto chave para tal conexão. As respostas inflamatórias em células gliais podem ser desencadeadas por diferentes estímulos, incluindo padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), padrões moleculares associados a danos (DAMPs), citocinas e outros insultos moleculares (Sofroniew, 2020). Esses estímulos podem ser reconhecidos por receptores de reconhecimento específicos, em particular os receptores do tipo *Toll* (TLRs), que são expressos por células astrogliais e podem desencadear respostas imunes (Quincozes-Santos et al., 2021; Sofroniew, 2020).

Dessa forma, os astrócitos têm sido reconhecidos como componentes essenciais da imunidade inata do SNC porque expressam muitos receptores de reconhecimento de padrões, sendo capazes de detectar e responder a uma ampla gama de danos e sinais moleculares de patógenos (Han et al., 2021). Os astrócitos também secretam mediadores inflamatórios, incluindo citocinas, quimiocinas e prostaglandinas, que

medeiam a comunicação com outras células neurais durante as respostas imunes. Essa afinidade de mediadores inflamatórios impactará o ambiente circundante, participando na ativação inflamatória de outras células gliais e no recrutamento de células imunes periféricas (Han et al., 2021). Além disso, essas células produzem interferons (especialmente interferon tipo I – IFN, também chamado de IFN- α/β) e expressam seus receptores (Colombo & Farina, 2016).

Durante o processo inflamatório também ocorre a indução de importantes fatores de transcrição, como o fator nuclear da cadeia κ de linfócitos B (NF κ B). A ativação do NF κ B é essencial na regulação de diversos genes que abrangem processos fundamentais em astrócitos, como resposta a danos, controle metabólico, captação do glutamato e resposta imune (Dresselhaus & Meffert, 2019). Sob a mediação do NF κ B, as células astrogliais participam da resposta inflamatória cerebral por meio da síntese e liberação de vários mediadores inflamatórios, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas (IL), quimiocinas e prostaglandinas (Jensen et al., 2013). A liberação de TNF- α é o primeiro sinal para outros mediadores que atuam na fase aguda da resposta inflamatória, como a interleucina 1 β (IL-1 β) (Zelová & Hošek, 2013). A IL-1 β , assim como a IL-6, além de atuarem ativando outros mediadores inflamatórios, também atuam na indução da resposta imune sistêmica (Jensen et al., 2013; Zelová & Hošek, 2013).

Além disso, vários mecanismos celulares podem ser ativados em resposta a este processo inflamatório, incluindo a expressão das enzimas ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Colombo & Farina, 2016; Jensen et al., 2013). Dentro desse contexto também podem ocorrer alterações em relação ao sistema adenosinérgico. A adenosina está envolvida em diversas funções durante processos inflamatórios, desde a inibição da ativação de leucócitos até proteção tecidual (Boison

et al., 2010). Seus efeitos são mediados pela interação e ativação dos receptores adenosinérgicos: A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃ e essa ativação no SNC está associada a funções como aumento de comunicação neurônio-glia e redução do processo inflamatório (Boison et al., 2010; Haskó et al., 2008).

Nesse contexto, uma região cerebral bastante relevante relacionada com a resposta inflamatória é o hipotálamo. O hipotálamo, como descrito acima, pode integrar sinais periféricos e participar da geração e manutenção da inflamação crônica, além de responder e se adaptar a estressores externos, assim como responder a uma heterogeneidade de imunomoduladores, como o IFN (Burfeind et al., 2016; Hori et al., 1998). Portanto, astrócitos hipotalâmicos podem ser células chave na resposta inflamatória, particularmente por que eles podem promover o reparo ou exacerbar tais ações, impactando diretamente a homeostasia do SNC (Colombo & Farina, 2016).

Assim, os astrócitos podem surgir como importantes alvos terapêuticos para atenuar diferentes processos inflamatórios, uma vez que respostas inflamatórias excessivas e crônicas estão associadas a diversos processos patológicos do SNC (Quincozes-Santos et al., 2021). Neste sentido, astrócitos hipotalâmicos vem ganhando significativo destaque no campo da Neurociência nos últimos anos (Camandola, 2018; Chao et al., 2022; Chowen et al., 2016).

4. Células astrogiais no processo de envelhecimento

O envelhecimento é um processo biológico natural, intrinsecamente relacionado a alterações metabólicas e caracterizado pelo acúmulo de danos oxidativos e inflamatórios, além de alterações na expressão gênica e na atividade de diversas vias de sinalização, que por sua vez impactam nas respostas homeostáticas do organismo (Jyothi et al., 2015; Liu et al., 2021). Metabolismo e envelhecimento podem afetar-se

mutuamente e durante o envelhecimento ocorrem mudanças significativas no metabolismo energético do corpo, onde o hipotálamo desempenha um papel importante (Liu et al., 2021). Evidências crescentes têm destacado um papel crítico dos astrócitos nas funções homeostáticas hipotalâmicas, particularmente durante o processo de envelhecimento (Chao et al., 2022; S. K. Kim et al., 2017; C. L. Santos et al., 2018). Além disso, evidências sugerem que insultos microinflamatórios alteram a regulação hipotalâmica, resultando em desequilíbrio metabólico e progressão do envelhecimento (Cai & Khor, 2019).

Cérebros envelhecidos exibem mudanças heterogêneas na morfologia dos astrócitos e expressão de GFAP, além de disfunção da homeostase mitocondrial/redox, neuroinflamação, excitotoxicidade e alterações no metabolismo da glicose (Jyothi et al., 2015; Palmer & Ousman, 2018). Durante o processo de envelhecimento, os astrócitos podem adotar um estado reativo, com aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias, produção excessiva de ERO/ERN, assim como eventuais alterações na expressão da GFAP (Douglass et al., 2017; C. L. Santos et al., 2018; Sofroniew & Vinters, 2010), que potencialmente levam à ocorrência de neurotoxicidade e neuroinflamação (G. Zhang et al., 2013).

Em relação ao processo de envelhecimento, os astrócitos maduros apresentam um aumento geral na expressão de componentes da sinalização inflamatória e uma diminuição nas vias citoprotetoras (Bobermin et al., 2020; Santos et al., 2018). Além disso, com a progressão do envelhecimento, a expressão de marcadores de senescência, incluindo p21, também aumenta. A proteína p21 promove a parada do ciclo celular em células senescentes e a inibição deste marcador é reconhecida como uma importante forma de tratar patologias relacionadas com a idade (Papismadov et al., 2017).

5. Células astrogliais e alterações no metabolismo da glicose

Em astrócitos, as alterações do metabolismo da glicose podem induzir uma série de respostas, como desbalanço redox, inflamação e alteração em vias de sinalização que impactam a homeostase cerebral (Sovrani et al., 2021). Muitos estudos mostram que altas concentrações de glicose induzem um aumento da expressão de GFAP (Kiguchi et al., 2017), sugerindo uma associação entre neuroinflamação relacionada a hiperglicemia e alteração na funcionalidade glial. Além disso, alterações significativas em marcadores astrocitários foram relatadas em modelos experimentais de hiperglicemia, incluindo aumento do transportador de glutamato, assim como diminuição na liberação de S100B e atividade da GS (Nardin et al., 2007; Quincozes-Santos et al., 2017; Richa et al., 2017).

Neste sentido, vale destacar que a hiperglicemia e alterações metabólicas observadas em alguns pacientes com diabetes tipo II podem estar associadas à senescência celular. Além disso, complicações associadas ao diabetes podem contribuir para a progressão do processo de envelhecimento (Narasimhan et al., 2021).

A hiperglicemia também está associada a maior geração de ERO/ERN. A geração destas espécies reativas ocorre por meio de diferentes mecanismos que incluem auto-oxidação da glicose, aumento do fluxo metabólico pela via do sorbitol, geração de produtos finais de glicação avançada (AGEs) e disfunção mitocondrial, potencialmente levando a astrogliose, dano neuronal e perda da integridade da BHE (Giacco & Brownlee, 2010; Liyanagamage & Martinus, 2020).

Vale destacar que em astrócitos, altas concentrações de glicose induzem resposta inflamatória, por regulação e/ou aumento da liberação de TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, VEGF e complemento C3 (Quincozes-Santos et al., 2017; Wang et al., 2012; Zhao et al., 2018) e diminuição da citocina anti-inflamatória IL-10 (Quincozes-Santos et al.,

2017). Além disso, a alta produção de AGEs também desencadeia importantes alterações inflamatórias, devido a sua interação com receptores de produtos finais de glicação avançada (RAGE) (Chu et al., 2016).

Nesse sentido, o estresse oxidativo e a neuroinflamação demonstram ter um papel significativo na fisiopatologia dos distúrbios do metabolismo da glicose, sendo a conexão entre funções imune e metabólica caracterizada como imunometabolismo, onde estímulos inflamatórios são capazes de modular a captação de glicose, assim como vias metabólicas associadas (Robb et al., 2020). Essas alterações metabólicas, por sua vez, suportam o gasto de energia para a resposta imune. É importante ressaltar que a sinalização de NFκB está no centro da neuroinflamação induzida por hiperglicemia (Quincozes-Santos et al., 2017; J. Wang et al., 2012), sendo uma importante via de sinalização que conecta inflamação e estresse oxidativo (Aguilera et al., 2018), podendo mediar então as alterações imunometabólicas (Robb et al., 2020).

Com base nesses achados, os astrócitos se mostram como importantes alvos celulares para estudos de processos fisiopatológicos e estratégias preventivas de distúrbios do metabolismo da glicose no SNC (Sovrani et al., 2021).

6. Células astrogliais e imunossupressão

Como mencionado anteriormente, as células astrogliais são capazes de sintetizar e liberar mediadores inflamatórios e expressam importantes receptores imunológicos. Neste sentido, o IFN tipo I é uma citocina pleiotrópica que foi originalmente identificada por suas propriedades antivirais, mas agora é também reconhecido como regulador da imunidade inata e têm sido implicado na patogênese de um espectro de distúrbios relacionados ao SNC (McGlasson et al., 2015). Os astrócitos, assim como os neurônios e outras células gliais, podem produzir IFN tipo I, que por sua vez atua nas

células via receptor IFN α / β R, levando à ativação de várias vias de sinalização que induzem a transcrição de genes pró-inflamatórios (Tan et al., 2021). O IFN também pode contribuir com a ativação dos astrócitos (P. Clarke et al., 2019). No entanto, a falta de receptores de interferon tipo I também pode estar relacionada à progressão de várias doenças (Axtell & Steinman, 2008; González-Navajas et al., 2012).

A produção inapropriada ou crônica de IFN do tipo I pelas células do SNC pode causar uma variedade de doenças, incluindo doenças autoimunes e infecções crônicas e congênitas (Crow et al., 2015; Tan et al., 2021). O hipotálamo também pode responder a uma heterogeneidade de imunomoduladores, como o IFN, que pode alterar a atividade cerebral para exercer atividade de sinalização sobre o sistema imunológico (Rosin & Kurrasch, 2019). Em astrócitos, o silenciamento da sinalização de IFN resultou em uma expressão diminuída de quimiocinas e menor número de células inflamatórias infiltradas no SNC (Ding et al., 2015).

Camundongos depletados de receptores de interferon tipo I IFN α / β R^{-/-} (A129) que não possuem componentes-chave da imunidade inata podem ser altamente suscetíveis a infecções e/ou doenças imunológicas (Lazear et al., 2016). No entanto, esses camundongos possuem outros mecanismos inflamatórios de sinalização para compensar a ausência do receptor IFN α / β R.

Dentro desse contexto, muitos estudos se concentram no desenvolvimento de terapias específicas para o tratamento de diferentes condições fisiopatológicas do SNC, demonstrando que as células gliais podem representar uma nova base para entender, prevenir e tratar essas condições. Assim, caracterizar o papel destas células, bem como identificar alvos terapêuticos, pode contribuir com o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento e prevenção em futuras terapias (Quincozes-Santos et al., 2021). Além disso, poucos estudos demonstram o papel dos astrócitos hipotalâmicos sob

imunossupressão, mas acredita-se que eles podem modular a resposta imune para compensar os efeitos imunossupressores, que podem estar associados a diversas condições/doenças.

7. Glioproteção e moléculas glioprotetoras

Devido as funções reguladoras intrínsecas observadas nos astrócitos, as alterações morfofuncionais destas células estão intimamente relacionadas à gliotoxicidade, uma condição que envolve alterações celulares e moleculares nas células gliais, podendo mediar efeitos tóxicos e afetar neurônios e/ou outras células gliais. Eventos gliotóxicos, incluindo estresse metabólico, inflamação, excitotoxicidade e estresse oxidativo, bem como seus mecanismos relacionados, estão fortemente associados à patogênese de doenças neurológicas, psiquiátricas e infecciosas (Quincozes-Santos et al., 2021). Mesmo em condições clínicas diferentes, a maioria das doenças do SNC afetam importantes parâmetros da funcionalidade astrocitária, tais como inflamação, homeostase redox e desbalanço metabólico e de neurotransmissores.

Por outro lado, temos outra função intrinsecamente ligada a estas células, também relacionada à homeostase do SNC, a glioproteção. Esta função está associada a respostas específicas das células gliais, pelas quais elas podem proteger a si mesmas e/ou aos neurônios, resultando em uma melhora geral do funcionamento do SNC (Quincozes-Santos et al., 2021). Assim, devido a essas características, os astrócitos se tornaram um alvo de estudos de processos fisiopatológicos e estratégias preventivas para estas condições (Figura 1). Moléculas glioprotetoras podem prevenir ou melhorar disfunções gliais, representando um potencial alvo para terapias direcionadas a essa classe celular. Uma variedade de moléculas vem sendo investigada como potenciais

mediadores de efeitos glioprotetores (Quincozes-Santos et al., 2021; Sovrani et al., 2021), e o resveratrol é uma dessas moléculas promissoras.

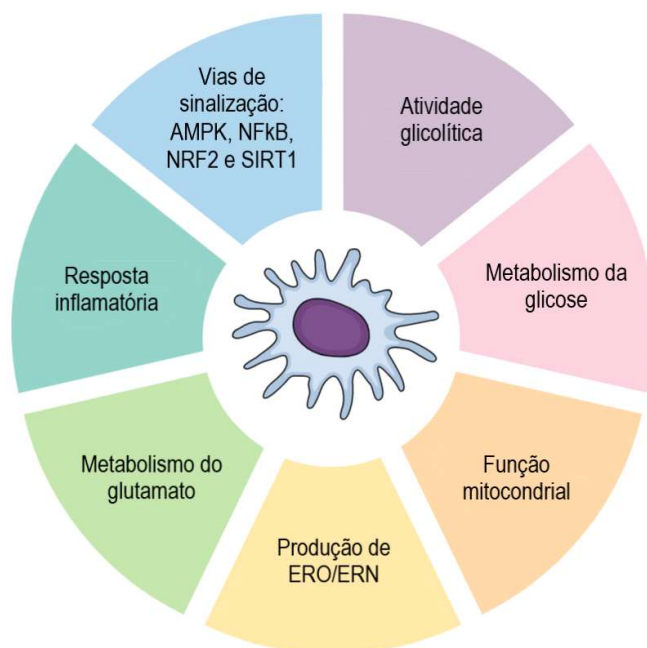


Figura 1. Representação esquemática dos principais alvos terapêuticos utilizados nos estudos de astrócitos em diferentes modelos fisiopatológicos. Adaptado de Sovrani et al., 2021.

7.1. Resveratrol

O resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno, RSV) é um polifenol da família dos estilbenos (Figura 2) sintetizado por uma variedade de plantas, como uvas, amendoins e mirtilos (Baur & Sinclair, 2006). O isômero trans é considerado mais estável do ponto de vista estereoquímico e portanto mais utilizado para avaliação de seus efeitos biológicos (Gambini et al., 2015). Neste sentido, o resveratrol vem sendo intensamente estudado há algumas décadas em um grande espectro de áreas de investigação terapêutica, despertando a atenção para seu uso em áreas de medicamentos e suplementos alimentares (Kulkarni & Cantó, 2015).

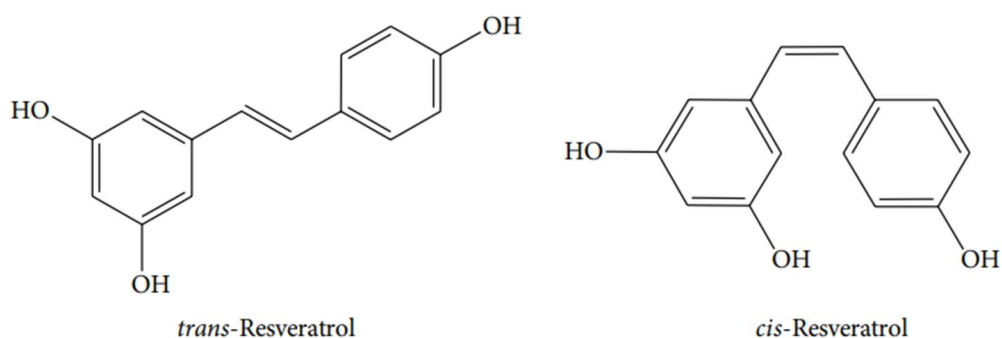


Figura 2. Estruturas químicas do *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol (Gambini et al., 2015).

O resveratrol possui importantes efeitos biológicos já descritos na literatura, sendo reconhecido como uma molécula multialvo devido a sua interação direta e/ou indireta com diferentes alvos moleculares, responsáveis pela modulação de diversas vias de sinalização celular (Malaguarnera, 2019). Os alvos moleculares deste polifenol podem ser divididos entre aqueles que são modulados diretamente pela interação com o resveratrol, como a aromatase, ou aqueles que são modulados indiretamente através de alterações nos níveis de expressão, como fatores de transcrição, mediadores inflamatórios, enzimas antioxidantes e genes relacionados à senescência (Kulkarni & Cantó, 2015; Malaguarnera, 2019). Os efeitos do resveratrol estão associados a diferentes vias de sinalização, que podem influenciar a funcionalidade celular, como por exemplo os fatores de transcrição: Nrf2 e NFκB, bem como as proteínas HO-1, sirtuína 1 (SIRT1), fosfoinositídeo 3-cinase (PI3K), proteína cinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) e receptores de adenosina (Bastianetto et al., 2015; Bobermin et al., 2019; Quincozes-Santos et al., 2013).

O resveratrol previne danos oxidativos em várias situações patológicas, controlando a inflamação e mantendo a homeostase redox celular, incluindo em

astrócitos, onde é capaz de reduzir a reatividade astrocitária, e por consequência o estresse oxidativo/nitrosativo e a resposta inflamatória (Bellaver et al., 2016; Bobermin et al., 2017, 2019; Quincozes-Santos et al., 2013; X. Wang et al., 2020). Além disso, o resveratrol é capaz de aumentar a liberação de fatores tróficos, particularmente BDNF e GDNF, pelos astrócitos sob estímulo inflamatório (Bobermin et al., 2019).

Tratamentos *in vitro* com resveratrol induziram respostas gliais, como redução da ativação microglial, assim como diminuição de mediadores inflamatórios e manutenção da homeostase redox após diferentes insultos estressores (Arús et al., 2017; Bellaver et al., 2016; Bobermin et al., 2017, 2019; Tufekci et al., 2021; X. Wang et al., 2020). Em camundongos, a administração a longo prazo com resveratrol apresentou efeitos positivos sobre o metabolismo celular desses animais, através da ativação da SIRT1 e do PGC-1 α (Lagouge et al., 2006). Além disso, o tratamento a longo prazo com resveratrol resultou em melhora cognitiva em animais envelhecidos, através da diminuição na expressão de várias vias pró-inflamatórias no cérebro (Garrigue et al., 2021).

JUSTIFICATIVA

A partir dos elementos apresentados na Introdução desta tese, verifica-se que embora o resveratrol seja descrito como uma importante molécula protetora, os seus efeitos em células astrogliais relacionados a exposição de longo prazo ainda não estão totalmente caracterizados. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial terapêutico da administração de longo prazo de resveratrol na expressão de marcadores gliais e vias de sinalização associadas a resposta inflamatória e a homeostase redox em modelos experimentais *in vitro* de envelhecimento, hiperglicemia e imunossupressão. Com isso, pretendemos estabelecer o potencial glioprotetor do resveratrol nos diferentes modelos experimentais, demonstrando as alterações astrogliais geradas por cada um dos modelos e ampliando assim a relevância do resveratrol no contexto de glioproteção.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar o potencial glioprotetor do resveratrol e seus mecanismos de ação em modelos experimentais de envelhecimento, hiperglicemia e imunossupressão em células astrogliais *in vitro*, focando em parâmetros metabólicos, inflamatórios, redox e mitocondriais.

Objetivos específicos

- a. Verificar o potencial glioprotetor do resveratrol em cultura de astrócitos hipotalâmicos primários obtidas de ratos Wistar envelhecidos, assim como avaliar as alterações metabólicas, inflamatórias e oxidativas nessas condições;
- b. Analisar os efeitos da exposição ao resveratrol em células astrogliais C6 frente a elevados níveis de glicose, com foco nas atividades anti-inflamatória e antioxidante e potenciais mecanismos subjacentes do resveratrol;
- c. Investigar os potenciais efeitos neuroimunomoduladores e protetores do resveratrol em culturas de astrócitos hipotalâmicos obtidos de camundongos deficientes do receptor de interferon tipo I (INF- α/β);
- d. Realizar uma revisão de literatura sobre os mecanismos fisiopatológicos associados a alterações do metabolismo da glicose em astrócitos, assim como discutir potenciais moléculas glioprotetoras relacionadas a esses distúrbios.

PARTE II

CAPÍTULO I

Artigo publicado no periódico *Molecular and Cellular Biochemistry*

*Effects of long-term resveratrol treatment in hypothalamic astrocyte cultures from
aged rats*

Vanessa Sovrani, Larissa Daniele Bobermin, Camila Leite Santos, Morgana Brondani,
Carlos-Alberto Gonçalves, Guilhian Leipnitz, André Quincozes-Santos

CAPÍTULO II

Manuscrito a ser submetido

Glioprotective effects of resveratrol against high glucose in astroglial cells

Vanessa Sovrani, Larissa Daniele Bobermin, Filipe Renato Pereira Dias, Rômulo

Rodrigo de Souza Almeida, Krista Minéia Wartchow, Nicolas Manzke Glänzel,

Carlos-Alberto Gonçalves, Guilhian Leipnitz, André Quincozes-Santos

CAPÍTULO III

Manuscrito submetido ao periódico *Neurochemical Research*

Neuroimmunomodulatory and protective effects of resveratrol in hypothalamic astrocyte cultures obtained from interferon receptor knockout (IFN α / β R^{-/-}) mice

Vanessa Sovrani, Larissa Daniele Bobermin, Patrícia Sesterheim, Ester Rezena,
Matheus Sinhorelli Ciocari, Carlos Alexandre Netto, Carlos-Alberto Gonçalves,
Guilhian Leipnitz, André Quincozes-Santos

CAPÍTULO IV

Artigo de revisão publicado no periódico *Neurotoxicity Research*

Potential Glioprotective Strategies Against Diabetes-Induced Brain Toxicity

Vanessa Sovrani, Larissa Daniele Bobermin, Izaviany Schmitz, Guilhian Leipnitz,

André Quincozes-Santos

PARTE III

DISCUSSÃO

Os astrócitos desempenham importantes funções para manutenção da homeostase do SNC, participando do metabolismo de neurotransmissores/gliotransmissores, da síntese e liberação de mediadores inflamatórios, fornecendo defesas antioxidantes, contribuindo para a formação e manutenção da BHE, assim como realizando a liberação de fatores tróficos (Quincozes-Santos et al., 2021). Além disso, no hipotálamo, uma região crucial do SNC, os astrócitos destacam-se devido a integração de sinais periféricos, além de respostas a estressores externos e adaptações dinâmicas em diferentes fases da vida (Rosin & Kurrasch, 2019; Santos et al., 2018). No entanto, durante processos de estresse metabólico e envelhecimento, os astrócitos podem passar por mudanças neuroquímicas, com possíveis alterações na expressão de proteínas do citoesqueleto, aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias e produção excessiva de ERO/ERN (Sofroniew & Vinters, 2010). Dessa forma, devido a suas ações tanto em condições fisiológicas quanto patológicas, a busca por moléculas que modulem funções gliais pode representar um potencial foco na manutenção da homeostasia do SNC (Quincozes-Santos et al., 2021). Nesse contexto, nosso grupo de pesquisa tem demonstrado que o resveratrol regula importantes funções astrogliais, particularmente associadas a defesa antioxidante e resposta inflamatória (Bellaver et al., 2016; Bobermin et al., 2015, 2019; A. Q. dos Santos et al., 2006; Quincozes-Santos et al., 2013).

Os efeitos biológicos do resveratrol vem sendo intensamente estudados nas últimas décadas em um grande espectro de áreas de investigação terapêutica, despertando a atenção para seu uso como medicamento e/ou suplemento alimentar (Kulkarni & Cantó, 2015; Quincozes-Santos et al., 2021; Sovrani et al., 2021). Neste

sentido, o resveratrol é reconhecido como uma molécula multialvo devido a sua interação direta e/ou indireta com diferentes alvos moleculares, responsáveis pela modulação de diversas vias de sinalização celular e, conseqüentemente, efeitos biológicos, que no caso das células gliais, podem contribuir para redução da reatividade astrocitária (Bellaver et al., 2016; Bobermin et al., 2017, 2019; Malaguarnera, 2019; Quincozes-Santos et al., 2013; X. Wang et al., 2020). Assim, o resveratrol se apresenta como uma molécula promissora para o SNC, não somente pela modulação de vias oxidativas e inflamatórias, mas principalmente pela multiplicidade de alvos nos quais essa molécula pode atuar (Miguel et al., 2021).

Corroborando com esses achados, esta tese teve como objetivo avaliar o efeito do resveratrol sob: 1) condições de envelhecimento, em astrócitos hipotalâmicos isolados de ratos Wistar com 1 ano de idade; 2) condições de hiperglicemia em células C6, uma vez que esta linhagem celular tem sido descrita como um importante modelo de estudos de função astrocitária; e 3) condições de imunossupressão, em astrócitos hipotalâmicos isolados de camundongos A129, depletados de receptores de interferon tipo I ($IFN\alpha/\beta R^{-/-}$). Com isso, esperamos contribuir na elucidação do potencial glioprotetor do resveratrol nos diferentes modelos experimentais, demonstrando as alterações astrogliais geradas por cada um dos modelos, ampliando assim a relevância do resveratrol no contexto de glioproteção. Assim, esta tese está dividida em quatro capítulos, sendo que em três deles avaliamos os efeitos do resveratrol e em um deles revisamos o potencial do resveratrol e de outros compostos naturais como estratégia glioprotetora em condições hiperglicêmicas.

O envelhecimento é caracterizado por um acúmulo gradual de processos oxidativos em biomoléculas e organelas celulares, levando à perda progressiva da integridade estrutural e funcional das células. Durante o envelhecimento, ocorrem

mudanças no metabolismo energético do corpo, nas quais o hipotálamo desempenha um papel importante (Liu et al., 2021). A regulação hipotalâmica, por sua vez, pode ser alterada por insultos microinflamatórios, que resultam em desequilíbrio metabólico e na progressão do envelhecimento (Cai & Khor, 2019). Esses processos envolvem uma remodelação do hipotálamo, que está intimamente relacionada à funcionalidade astrocitária e alterações na transcrição gênica (S. K. Kim et al., 2017; Quincozes-Santos et al., 2021; C. L. Santos et al., 2018).

Quando analisamos os marcadores gliais em nosso estudo, verificamos que GFAP foi regulada negativamente após o tratamento com resveratrol. Como os astrócitos envelhecidos possuem maior expressão de GFAP, devido a maior reatividade observada nessas células (L. E. Clarke et al., 2018; Liddelow et al., 2017), nossos resultados sugerem que o resveratrol pode proteger os astrócitos da ativação relacionada ao envelhecimento. Nesse sentido, outra importante proteína expressa por astrócitos e que atualmente vem sendo utilizada como marcador astrocitário é a AQP4. Esta proteína que constitui um canal de água que, além de exercer importante papel na homeostase da água no SNC, também está relacionada a neuroinflamação e processos neurodegenerativos (Fukuda & Badaut, 2012; Salman et al., 2021; Yang et al., 2017). Em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa, verificou-se uma maior expressão de AQP4 em astrócitos maduros em comparação com células neonatais (Bobermin et al., 2020), demonstrando assim que a regulação negativa da AQP4 verificada em nosso estudo pode estar relacionada ao papel do resveratrol na manutenção da homeostase astrocitária.

Outra importante função dos astrócitos na homeostasia do SNC está relacionada ao metabolismo do glutamato, uma vez que esse neurotransmissor excitatório desempenha relevante papel no metabolismo energético cerebral (Bélanger et al., 2011;

Hertz, 2006). Particularmente no hipotálamo, o glutamato tem sido associado à regulação neuroendócrina e ao comportamento alimentar (Oliet, 2001). No entanto, esse neurotransmissor pode ser tóxico quando permanece em níveis elevados na fenda sináptica (Maragakis & Rothstein, 2004; Rodríguez-Campuzano & Ortega, 2021), além disso a hipofunção e regulação negativa dos transportadores de glutamato podem estar associadas a condições patológicas e ao processo de envelhecimento.

O GLAST é um importante transportador de glutamato presente nas células da glia, mas o principal transportador de glutamato no cérebro é o GLT-1, responsável por mais de 90% da captação de glutamato (Rodríguez-Campuzano & Ortega, 2021). Observamos que o tratamento com resveratrol aumentou a expressão de GLAST e GLT-1 em astrócitos hipotalâmicos envelhecidos. O aumento induzido pelo resveratrol na captação de glutamato foi relatado em estudos anteriores do nosso grupo (de Almeida et al., 2007; A. Q. dos Santos et al., 2006; Quincozes-Santos & Gottfried, 2011), o que pode estar relacionado ao aumento da expressão de transportadores de glutamato encontrado no presente estudo. É importante notar que a atividade dos transportadores de glutamato pode ser prejudicada por danos oxidativos (Trotti et al., 1998) e respostas inflamatórias, que também são atenuadas pelo resveratrol (Bellaver et al., 2014).

Além de aumentar a expressão dos transportadores de glutamato, o resveratrol também aumentou a expressão da GS, enzima astrocitária responsável pela conversão de glutamato em glutamina (Brusilow et al., 2010). Em trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa, demonstramos que a expressão da GS diminuiu em astrócitos cultivados de maneira dependente da idade, demonstrando que o resveratrol pode atuar como fator preventivo nesse processo (C. L. Santos et al., 2018; Souza et al., 2015). Nesse contexto, o metabolismo do glutamato também pode ser modulado por

glicocorticoides, através da diminuição da captação de glutamato, assim como da atividade e expressão da GS pelos astrócitos (Kazazoglou et al., 2021; Virgin et al., 1991). Nesse sentido, verificamos uma regulação negativa dos receptores de glicocorticoides após o tratamento com resveratrol, o que pode representar um mecanismo adicional pelo qual o resveratrol exerce um papel homeostático no metabolismo do glutamato. Além disso, as ações dos glicocorticoides no hipotálamo podem fornecer um sinal integrador ligando o estresse com a regulação da homeostase energética (Tasker, 2006).

Com a progressão do envelhecimento, a expressão de marcadores de senescência, incluindo p21, também aumenta. A proteína p21 promove a parada do ciclo celular em células senescentes, e a inibição desse marcador é reconhecida como uma importante forma de tratamento de patologias relacionadas à idade (Papismadov et al., 2017). É importante ressaltar que observamos uma regulação negativa da p21 pelo tratamento a longo prazo com resveratrol em astrócitos hipotalâmicos. A progressão do envelhecimento também é caracterizada por respostas inflamatórias (Franceschi et al., 2018). Nesse sentido, astrócitos hipotalâmicos derivados de animais maduros apresentam um perfil pró-inflamatório (C. L. Santos et al., 2018), podendo levar a indução de inflamação crônica no hipotálamo (Cai & Khor, 2019). O NFκB possui um papel chave na reatividade dos astrócitos, assim como na inflamação hipotalâmica relacionada à idade (Liu et al., 2021; Y. Zhang et al., 2017). A melhoria de vários aspectos metabólicos tem sido associada a inibição do NFκB, uma vez que muitas citocinas inflamatórias são induzidas através desse fator de transcrição. Assim, a regulação negativa da expressão de NFκB pelo resveratrol pode ser eficaz na redução da microinflamação hipotalâmica (Cai & Khor, 2019) e nossos achados demonstram que astrócitos hipotalâmicos derivados de animais envelhecidos tratados com

resveratrol apresentaram uma regulação negativa de vários mediadores pró-inflamatórios, incluindo TNF- α , IL-1 β e COX-2, e uma regulação positiva da citocina anti-inflamatória IL-10. Além disso, verificamos a modulação positiva dos receptores de adenosina, que foram associados anteriormente à atividade anti-inflamatória mediada por resveratrol em um estudo do nosso grupo (Bobermin et al., 2019).

Os astrócitos também podem mediar respostas imunes por meio da expressão de receptores de reconhecimento de padrões (Sofroniew, 2020). Em doenças neurodegenerativas e lesões do SNC, ligantes endógenos e exógenos desencadeiam a sinalização de TLR, levando à transcrição de citocinas inflamatórias (L. Li et al., 2021). Assim, a regulação negativa de TLR4 após o tratamento com resveratrol pode estar associada a uma modulação negativa de respostas inflamatórias.

Além disso, o resveratrol diminuiu a expressão de S100B, que pode atuar como um fator extracelular que ativa o RAGE (Donato et al., 2009). A ativação de RAGE por seus ligantes induz a liberação de citocinas, interleucinas e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio nas células gliais, promovendo mudanças na regulação redox (J. Kim et al., 2012). No entanto, estudos recentes demonstram que a ativação do RAGE também contribui para a comunicação neurônio-astrócito (Kamynina et al., 2021).

O processo de envelhecimento leva à disfunção mitocondrial e desequilíbrio da homeostase redox, com envolvimento significativo dos estresses oxidativo e nitrosativo (Cobley et al., 2018; Palmer & Ousman, 2018). Nesse sentido, as defesas antioxidantes relacionadas às células gliais apresentam papéis importantes para a proteção e reparo do cérebro e são essenciais para controlar a homeostase energética (Douglass et al., 2017). O sistema antioxidante astrocitário também envolve a síntese de GSH, que depende da enzima glutamato-cisteína ligase (GCL). É importante ressaltar que os

neurônios são dependentes da GSH astrocitária para sua própria defesa antioxidante (Mulica et al., 2021). Em nosso estudo, verificamos um aumento na expressão de PGC-1 α e GCL, assim como SOD1 e SOD2, indicando melhora das defesas antioxidantes em astrócitos hipotalâmicos de ratos Wistar envelhecidos pelo tratamento com resveratrol. Além disso, cérebros envelhecidos apresentam níveis mais elevados de poli (ADP-ribose) polimerase-1 (PARP) e iNOS (Cobley et al., 2018; Jeong et al., 2018), os quais foram regulados negativamente em nosso modelo experimental, reforçando a ação antioxidante do resveratrol.

As vias de sinalização atuam como reguladores chave da sobrevivência celular e das respostas a diferentes estímulos, fisiológicos e/ou patológicos. O resveratrol pode ser eficaz para prevenir alterações funcionais de astrócitos relacionadas à idade por diferentes vias de sinalização, incluindo Nrf2/HO-1, PI3K/Akt, AMPK e NF κ B (Bastianetto et al., 2015; Bellaver et al., 2016; Bobermin et al., 2019; Quincozes-Santos et al., 2013). O Nrf2 é um fator de transcrição essencial responsivo a sinais metabólicos, inflamatórios e redox, atuando como mecanismo regulador da homeostase desses sistemas. A HO-1, cuja expressão gênica pode ser regulada pelo Nrf2, atua na produção de respostas celulares em condições estressoras (Hayes & Dinkova-Kostova, 2014; Quincozes-Santos et al., 2013). Nossos dados corroboraram com esses mecanismos, uma vez que o tratamento com resveratrol foi capaz de aumentar a expressão de Nrf2 e HO-1. SIRT1 e PI3K, que representam importantes efetores metabólicos, também foram regulados positivamente pelo resveratrol, potencialmente participando da resposta glioprotetora induzida em astrócitos hipotalâmicos (Sarubbo et al., 2018; Zia et al., 2021). Nesse sentido, a diminuição da expressão de AMPK também está de acordo com esses dados, uma vez que a AMPK está diretamente associada a sinalização

do NF κ B, possuindo um relevante papel na sinalização e regulação do processo de envelhecimento (Salminen & Kaarniranta, 2012).

Por fim, o resveratrol é um polifenol com reconhecidas atividades anti-inflamatória e antioxidante, bem como com efeitos benéficos descritos em muitos tecidos, mas o foco de vários estudos com esse composto se baseia na estratégia de tratamentos agudos. Se considerarmos os tratamentos de longo prazo, eles podem ter outros efeitos benéficos, como por exemplo uma abordagem preventiva. Estudos clínicos com pacientes suplementados a longo prazo sugerem que dietas ricas em polifenóis parecem ser uma estratégia nutricional eficaz para várias condições metabólicas (Hou et al., 2019).

Durante o processo de envelhecimento é frequente o desenvolvimento e/ou progressão de diferentes desordens metabólicas. Nesse sentido, o diabetes tipo II representa a condição metabólica mais comum em idosos, sendo um dos problemas de saúde mais difundido nessas faixas etárias (Longo et al., 2019). A hiperglicemia e as alterações metabólicas observadas em alguns pacientes com diabetes tipo II podem estar associadas à senescência celular. Além disso, a senescência celular induzida pelo diabetes contribui para várias complicações hiperglicêmicas (Narasimhan et al., 2021).

Distúrbios do metabolismo da glicose/hiperglicemia impactam significativamente o SNC. Em astrócitos, estas condições podem induzir muitas respostas, incluindo desequilíbrio redox, inflamação e alterações em várias vias de sinalização, impactando significativamente a homeostase cerebral (Sovrani et al., 2021). Nesses distúrbios, o resveratrol já vem sendo apresentado como uma estratégia protetora para os danos ocasionados pela hiperglicemia. Em modelos de animais diabéticos, o resveratrol mostrou efeitos protetores no declínio cognitivo e degeneração (Jing et al., 2013; X. Ma et al., 2020; Zheng et al., 2016), incluindo a atenuação da

ativação astrocitária no hipocampo (Jing et al., 2013). *In vitro*, o tratamento com resveratrol induziu respostas gliais, como redução da ativação microglial, bem como diminuição de mediadores inflamatórios e manutenção do estado redox após diferentes insultos em células astrogliais (Bellaver et al., 2016; Bobermin et al., 2017, 2019; X. Wang et al., 2020). No entanto, os efeitos a longo prazo do resveratrol ainda não foram delineados em células astrogliais em condições de hiperglicemia, sendo que quando administrado em regime de longo prazo *in vivo*, animais tratados com resveratrol apresentaram uma melhora no desempenho cognitivo no modelo animal de envelhecimento, o que poderia contar com os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do resveratrol (Garrigue et al., 2021; León et al., 2017; N. Ma & Zhang, 2022).

O transporte de glicose para as células astrogliais ocorre através do transportador de glicose 1 (GLUT1) (Koepsell & Vallon, 2020). Embora nossos achados tenham mostrado que altos níveis de glicose estimularam a captação de glicose nas células astrogliais, isso não foi acompanhado por uma regulação positiva da expressão de GLUT1, indicando um efeito na atividade do transportador pela maior disponibilidade de substrato. É importante ressaltar que o resveratrol diminuiu os níveis de RNAm de GLUT1 em condições de alta glicose e manteve a captação de glicose semelhante à observada em condições de controle (níveis normais de glicose). Assim, esses resultados indicam que o resveratrol pode evitar uma entrada excessiva de glicose nas células astrogliais sob altos níveis de glicose. Esses dados estão de acordo com estudos anteriores, que demonstraram a capacidade do resveratrol em diminuir a captação de glicose dependente de GLUT1 (Gwak et al., 2015; León et al., 2017).

O metabolismo da glicose no citoplasma astrogliar resulta em produtos como lactato, metilglioxal e glutatona, que modulam receptores e canais nas células neurais (Bélanger et al., 2011; Gonçalves et al., 2019). Em relação ao lactato, o resveratrol não

impediu o aumento de seus níveis extracelulares, sugerindo que o resveratrol pode atuar principalmente limitando o transporte de glicose ao invés do metabolismo nas células astrogliais. O lactato pode ser considerado um fator de sinalização na captação de glicose, uma vez que a diminuição da síntese de lactato pode sinalizar para a célula a necessidade de aumento da captação de glicose para ser oxidada e fornecer derivados energéticos para o metabolismo astrocitário e neuronal (Gonçalves et al., 2019).

Além do metabolismo da glicose, os astrócitos também participam ativamente de outra importante cooperação metabólica, o ciclo glutamato-glutamina (Bélanger et al., 2011), no qual captam o glutamato e o convertem em glutamina (Bak et al., 2006). Estudos anteriores mostraram um aumento da captação de glutamato em células astrogliais expostas a altas concentrações de glicose (Quincozes-Santos et al., 2017; Tramontina et al., 2012), o que está de acordo com nossos dados. No entanto, observamos que os níveis de RNAm de EAAC1 foram diminuídos em condições de alta glicose, independentemente da presença de resveratrol. Assim, as mudanças na atividade dos transportadores de glutamato podem estar relacionadas à glicação (Tramontina et al., 2012), modulação em seu estado redox (Trotti et al., 1998) e sua translocação para a membrana plasmática (Robinson, 2006). Além disso, a expressão gênica da GS não foi afetada por nossos tratamentos, mas anteriormente encontramos uma diminuição na atividade da GS sob flutuações nas concentrações de glicose no meio extracelular de culturas astrogliais (A. Q. dos Santos et al., 2006; Quincozes-Santos et al., 2017).

Conforme mencionado anteriormente, as células astrogliais participam ativamente da resposta inflamatória e são capazes de responder a essas citocinas, uma vez que também expressam seus receptores. De acordo com estudos anteriores, observamos uma resposta pró-inflamatória por altos níveis de glicose nas células

astrogliais C6 (Quincozes-Santos et al., 2017; Sovrani et al., 2021). No presente estudo demonstramos um importante efeito anti-inflamatório do resveratrol, modulando tanto a expressão gênica quanto a liberação de mediadores inflamatórios em condições de hiperglicemia. Além disso, o resveratrol pode exercer efeito anti-inflamatório através da modulação de IL-10 e COX-2 (Garrigue et al., 2021; Sovrani et al., 2021).

A atividade transcricional do NFκB pode modular a inflamação, o estresse oxidativo e a captação de glutamato, sendo o NFκB um potencial mecanismo molecular integrador da atividade astrocitária, inclusive em condições de estresse metabólico (Ghosh et al., 2011; Quincozes-Santos et al., 2017). Dessa forma, em nosso estudo, reforçamos seu envolvimento na atividade anti-inflamatória do resveratrol, uma vez que o NFκB p65 teve sua expressão reduzida pelo resveratrol *per se* e sob alta exposição à glicose. O inflamassoma NLRP3 e os receptores TLR são outros importantes atores moleculares na sinalização inflamatória (L. Li et al., 2021; Tufekci et al., 2021). Nesse sentido, a diminuição na expressão de NLRP3 observada na presença de resveratrol pode contribuir para o efeito anti-inflamatório deste composto (Tufekci et al., 2021). A regulação positiva de TLR4 em células astrogliais, como observamos para hiperglicemia, pode alterar a suscetibilidade das células a estímulos inflamatórios. Nesse contexto, já foi demonstrado que a hiperglicemia pode alterar as vias de sinalização intracelular na ativação do TLR4, potencializando a resposta inflamatória (Chistyakov et al., 2019). Nossos dados mostraram que o resveratrol modula as expressões de TLR4 e TLR2, corroborando estudos anteriores que sugerem a inibição de TLR como uma potencial estratégia terapêutica para neuroinflamação e suas complicações (Ahmad et al., 2018; Haroon et al., 2017).

Níveis elevados de glicose estão classicamente associados à produção excessiva de ERO/ERN e potencialmente à sinalização do NFκB (Gonçalves et al., 2019;

Tomlinson & Gardiner, 2008). Nesse sentido, mostramos que a atividade da SOD foi levemente diminuída em condições de alta concentração de glicose e na presença de resveratrol, embora não tenhamos observado a atividade antioxidante do resveratrol *per se*, conforme publicado anteriormente por nosso grupo (Arús et al., 2017; Quincozes-Santos et al., 2017). No entanto, o resveratrol impediu a diminuição na expressão de PGC-1 α induzida pela hiperglicemia. O aumento na expressão de PGC-1 α pelo resveratrol já foi descrita anteriormente, onde o aumento na expressão gênica foi acompanhado por um aumento na proteína PGC-1 α (Lagouge et al., 2006), que também desempenha um papel fundamental no controle do metabolismo energético celular (Katsouri et al., 2012; X. Yang et al., 2017). Assim, ele também pode representar um importante alvo molecular nos efeitos glioprotetores do resveratrol contra estímulos neurotóxicos associados à hiperglicemia.

A hiperglicemia aumenta a produção de óxido nítrico através do aumento na expressão e atividade da iNOS em modelos animais, potencializando o estresse oxidativo/nitrosativo (Richa et al., 2017; P. Yang et al., 2010). Além disso, o aumento da expressão de iNOS nas células gliais representa uma marca registrada da neuroinflamação, outro evento comum associado a distúrbios do metabolismo da glicose (Moreira et al., 2007; Richa et al., 2017; Sovrani et al., 2021). Nesse sentido, foi proposto que a modulação da expressão de iNOS pode ter um efeito protetor na lesão neuronal e glial (Song et al., 2017) e, de fato, observamos que o resveratrol impediu o aumento na expressão de iNOS em células astrogliais.

Alterações na sinalização de Nrf2 e HO-1 foram relatados no cérebro de animais submetidos a modelos de diabetes mellitus (Moreira et al., 2007; Sajja et al., 2017). Em nosso estudo, o resveratrol aumentou a expressão gênica de Nrf2 e HO-1, além de proteger a regulação negativa de Nrf2 induzida pela hiperglicemia. O resveratrol tem

sido considerado um importante indutor de Nrf2, que medeia respostas citoprotetoras ativando a expressão de genes como HO-1, SOD e EAAC1 (Hayes & Dinkova-Kostova, 2014) e a supressão da sinalização de NFκB (Ahmad et al., 2018). Assim, a sinalização Nrf2/HO-1 tem sido relatada como mediador chave dos efeitos glioprotetores do resveratrol, pois confere resistência celular em condições estressoras (Arús et al., 2017; Bobermin et al., 2022; Quincozes-Santos et al., 2013; Wakabayashi et al., 2010).

Assim, através de nossos resultados, podemos observar o potencial glioprotetor do resveratrol administrado a longo prazo em culturas de células astrogliais C6 em condições de hiperglicemia, através da modulação de importantes alvos moleculares associados a glioproteção, como PGC-1 α , NFκB e Nrf2. Além disso, nossos dados reforçam as células astrogliais como alvos celulares para estratégias de proteção contra várias condições neurotóxicas, incluindo distúrbios do metabolismo da glicose.

A resposta astrocitária pode promover a homeostase celular ou exacerbar algumas respostas inflamatórias no SNC, dependendo do momento e do contexto molecular (Colombo & Farina, 2016). A resposta dos astrócitos envolve alterações fenotípicas e moleculares que podem indicar a progressão de várias patologias cerebrais, incluindo condições inflamatórias e o IFN pode contribuir para a ativação dos astrócitos (P. Clarke et al., 2019; Escartin et al., 2021). Embora os mecanismos de resposta astrocitária em alguns contextos já estejam bem delineados, ainda não se sabe claramente como essas células respondem sob condições de deleção da sinalização do receptor de um desses importantes fatores, o IFN.

O IFN é um mediador chave da resposta imune inata e adaptativa, que foi identificado por suas propriedades antivirais, mas agora também tem sido associado à patogênese de um espectro de distúrbios do SNC (McGlasson et al., 2015). Os

astrócitos, assim como os neurônios e outras células gliais, podem produzir IFN tipo I, que por sua vez atua nas células via receptor $IFN\alpha/\beta R$, levando à ativação de várias vias de sinalização que induzem a transcrição de genes pró-inflamatórios (Owens et al., 2014; Tan et al., 2021).

A produção inapropriada ou crônica de IFN do tipo I pelas células do SNC pode causar uma variedade de doenças, incluindo doenças autoimunes e infecções crônicas e congênitas (Crow et al., 2015; Tan et al., 2021). Estudos tem demonstrado que a ativação na sinalização do IFN tipo I pode conferir maior resistência à infecção viral, mas pode causar inflamação crônica (McGlasson et al., 2015). No entanto, a deleção do receptor $IFN\alpha/\beta R$ alterou o fenótipo glial em modelo animal com doença de Alzheimer (Minter et al., 2016).

Nesse sentido, nós buscamos caracterizar os efeitos do resveratrol em culturas primárias de astrócitos hipotalâmicos obtidas de camundongos neonatos depletados do receptor de interferon tipo I ($IFN\alpha/\beta R^{-/-}$), que pode perturbar a funcionalidade astrocitária, contribuindo para a progressão de muitas doenças, além de investigar os efeitos do resveratrol nas alterações astrocitárias relacionadas com os modelos experimentais de envelhecimento e hiperglicemia. Neste sentido, este modelo celular pode contribuir com a investigação de potenciais efeitos neuroimunomoduladores e protetores do resveratrol, que têm sido associados à supressão da expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo $IFN-\beta$ (Kang et al., 2022).

Em culturas de astrócitos de camundongos $IFN\alpha/\beta R^{-/-}$, o resveratrol aumentou a expressão de ambos os transportadores de glutamato GLAST e GLT-1, além de aumentar a expressão de GS. Em estudos anteriores, demonstramos o efeito positivo do resveratrol na liberação de glutamato em astrócitos sob ativação imune induzida por lipopolissacarídeo (LPS) (Bellaver et al., 2015). Assim, reforçamos o efeito glioprotetor

do resveratrol na homeostase do glutamato sob diferentes condições imunológicas *in vitro*.

O resveratrol também foi capaz de diminuir os níveis de RNAm e/ou liberação das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e proteína quimioatrativa de monócitos-1 (MCP-1), corroborando com estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (Bobermin et al., 2019, 2022). Embora o resveratrol tenha demonstrado diminuir a produção de IL-6 (Bobermin et al., 2022; M. . Wang et al., 2001), em astrócitos IFN α / β R^{-/-} houve um aumento tanto da expressão quanto da liberação dessa citocina. É importante notar que o IFN tipo I parece desempenhar um papel facilitador na expressão de IL-6 e os camundongos IFN α / β R^{-/-} apresentam uma resposta deficiente de IL-6 (Murray et al., 2015). Particularmente considerando o hipotálamo, a IL-6 regula as funções neuroendócrinas (X. Li et al., 2009). Portanto, o aumento induzido pelo resveratrol na expressão e liberação de IL-6 em astrócitos IFN α / β R^{-/-} pode contribuir para efeitos protetores. Além disso, o resveratrol diminuiu não apenas a expressão de NF κ B, mas também de importantes alvos transcricionais desse fator de transcrição, incluindo citocinas, COX-2, iNOS e p21, sugerindo uma regulação negativa dessa via. Embora a expressão de p21 tenha sido relacionada à senescência celular, seus papéis imunológicos também foram descritos (Tusell et al., 2005). É importante notar que PARP-1 pode promover respostas inflamatórias regulando positivamente a sinalização de NF κ B (Pazzaglia & Pioli, 2019). Além disso, assim como nos demais modelos experimentais, o resveratrol também modulou os receptores de adenosina nos astrócitos IFN α / β R^{-/-}. Assim, a regulação negativa desses genes corrobora com a atividade anti-inflamatória do resveratrol (Bobermin et al., 2019).

Processos inflamatórios também podem comprometer o suporte trófico mediado por astrócitos, que é essencial para a plasticidade e regulação dos neurotransmissores,

integridade da BHE e homeostase do SNC (Lima Giacobbo et al., 2019). O resveratrol regulou negativamente o VEGF que é considerado o principal regulador da permeabilidade vascular e pode levar a alterações de integridade da BHE (Argaw et al., 2012). No entanto, o resveratrol induziu a liberação de GDNF, um importante fator trófico derivado de astrócitos que pode melhorar a função da BHE, além de promover crescimento neuronal (Hamby & Sofroniew, 2010). O resveratrol também modulou a expressão e liberação do fator de crescimento nervoso (NGF), que pode estimular a resposta glial, incluindo a produção de defesas antioxidantes e mediadores inflamatórios (Goss et al., 1998). Como a secreção de fatores tróficos pode modular propriedades metabólicas, imunes e antioxidantes dos astrócitos pode-se especular que os efeitos do resveratrol sobre os fatores tróficos podem ser um mecanismo compensatório para melhorar a resposta glial em camundongos A129 que tenham a resposta imune comprometida.

Conforme observado nos demais modelos experimentais, o resveratrol também foi relatado como um indutor de genes que controlam a homeostase redox, incluindo GCL, SOD, PGC-1 α (Bobermin et al., 2022; Dias et al., 2022; Sovrani et al., 2022). Verificamos redução na expressão de PARP e iNOS, que estão relacionadas a danos ao SNC (Cobley et al., 2018; Jeong et al., 2018). Além disso, o resveratrol aumentou a expressão da mitofusina, responsável pela regulação dos eventos de fusão-fissão associados à rede mitocondrial (H. Chen et al., 2003). Contribuindo com este efeito sobre a plasticidade mitocondrial, o resveratrol também regulou positivamente a citrato sintase, podendo assim contribuir na manutenção do equilíbrio redox celular.

Orquestrando esses mecanismos neuroquímicos bioquímicos, particularmente em relação aos mecanismos glioprotetores, observamos os efeitos do resveratrol nas vias de sinalização Nrf2, HO-1, SIRT1, PI3K e Akt. Além das vias já descritas

anteriormente nos demais modelos experimentais, SIRT1 e PI3K/Akt representam importantes efetores metabólicos e têm implicações importantes na sobrevivência celular e respostas ao estresse oxidativo (Sarubbo et al., 2018; Zia et al., 2021). Nesse sentido, as expressões gênicas moduladas pelo resveratrol em astrócitos hipotalâmicos IFN α / β R^{-/-} podem sugerir alvos citoprotetores centrais do resveratrol no cérebro, reforçando sua atividade glioprotetora.

Assim, a análise dos nossos resultados demonstra que o resveratrol possui mecanismos de ação glioprotetores comuns nos modelos experimentais avaliados. Observamos a modulação vias de sinalização como AMPK, HO-1, NF κ B, Nrf2, PGC-1 α e SIRT1, além da modulação de parâmetros astrogliais relacionados com a homeostase celular, como por exemplo, controle do estresse oxidativo, redução de citocinas pró-inflamatórias e aumento de citocinas anti-inflamatórias nos modelos de envelhecimento, hiperglicemia e imunossupressão *in vitro*.

A utilização de moléculas glioprotetoras pode promover proteção melhorando as funções gliais e evitando toxicidade em diferentes condições. Embora o resveratrol tenha demonstrado importantes efeitos glioprotetores é importante destacar outras moléculas naturais como carotenoides, catequinas, isoflavonas, ácido lipoico, polissacarídeos e sulforafane que demonstraram ser efetivas estratégias glioprotetoras em condições de hiperglicemia (Sovrani et al., 2021). Assim, nosso artigo de revisão intitulado *Potential Glioprotective Strategies Against Diabetes-Induced Brain Toxicity* contribuiu para reforçar compostos naturais como importantes estratégias glioprotetoras relacionadas a diabetes e hiperglicemia (Sovrani et al., 2021). Particularmente em relação ao resveratrol, esta revisão demonstrou que a administração desta molécula resultou em melhora de importantes parâmetros funcionais em células astrogliais, reforçando assim, seu potencial glioprotetor.

Além disso, evidências clínicas de pacientes em uso de suplementos alimentares ou nutricionais sugerem que dietas ricas em polifenóis, como por exemplo a dieta mediterrânea, podem ser uma estratégia nutricional eficiente contra o processo de envelhecimento e doenças neurometabólicas (Hou et al., 2019).

Como os distúrbios neurológicos são a principal causa de incapacidade e a segunda principal causa de morte em todo o mundo, o aumento do número de pessoas acometidas por tais condições implica na necessidade de recursos e políticas públicas substancialmente aumentados para o manejo de portadores de doenças neurológicas (DiLuca & Olesen, 2014; Feigin et al., 2019). A carga de distúrbios neurológicos é grande e crescente, representando um desafio para a sustentabilidade dos sistemas de saúde e, embora haja uma grande quantidade de conhecimento disponível sobre o manejo dessas condições, a intervenção e redução dessa carga se faz necessária através do desenvolvimento de novas terapias e/ou estratégias de prevenção (Feigin et al., 2019), como por exemplo o resveratrol, que apresentou importantes efeitos glioprotetores descritos neste estudo.

Por fim, esta tese evidenciou que a modulação dos astrócitos também pode representar um alvo potencial para terapias, uma vez que a manutenção da funcionalidade dos mesmos e suas propriedades protetoras endógenas são essenciais para a homeostase do SNC, devido a estas células desempenharem papéis importantes na progressão ou resolução de inúmeras condições cerebrais. Particularmente no hipotálamo, a disfunção astrocitária e a resposta inflamatória podem influenciar a regulação do processo alimentar e da homeostasia celular/tecidual, impactando o metabolismo, a integridade corporal e a imunidade (Guijarro et al., 2006). Esses achados reforçam o efeito glioprotetor do resveratrol, assim como seus mecanismos

adjacentes, e integram uma nova abordagem de tratamento a longo prazo, devido a seu potencial preventivo-terapêutico.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta tese a partir da ação do resveratrol e dos modelos experimentais avaliados nos permitem concluir que:

- O tratamento a longo prazo com resveratrol constitui uma potencial estratégia glioprotetora;
- O efeito glioprotetor do resveratrol foi observado em diferentes modelos experimentais *in vitro* com foco nas células astrogliais;
- O resveratrol modulou importantes parâmetros bioquímicos astrogliais que foram alterados pelo processo do envelhecimento;
- Alterações no metabolismo da glicose promovem importantes alterações bioquímicas e moleculares em células astrogliais, sendo essas alterações moduladas pelo resveratrol;
- Outras moléculas naturais podem representar importantes estratégias glioprotetoras frente a condições de hiperglicemia;
- O resveratrol foi capaz de modular genes associados à funcionalidade e resposta inflamatória dos astrócitos hipotalâmicos de camundongos imunossuprimidos;
- Os mecanismos de ação do resveratrol nos modelos experimentais avaliados corroboram com aqueles já descritos na literatura, incluindo a modulação das vias de sinalização: AMPK, HO-1, NFκB, Nrf2, PGC-1α e SIRT1.

PERSPECTIVAS

- Desenvolvimento de novas estratégias glioprotetoras com moléculas naturais;
- Estudos em cultura de células focados em mecanismos bioquímicos utilizando inibidores nas principais vias de ação do resveratrol;
- Novas abordagens para a investigação da utilização do resveratrol como uma estratégia glioprotetora a longo prazo, como estudos *in vivo* com administração de resveratrol em roedores.

REFERÊNCIAS

- Aguilera, G., Colín-González, A. L., Rangel-López, E., Chavarría, A., & Santamaría, A. (2018). Redox Signaling, Neuroinflammation, and Neurodegeneration. *Antioxidants & Redox Signaling*, 28(18), 1626–1651. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7099>
- Ahmad, S. F., Ansari, M. A., Nadeem, A., Alzahrani, M. Z., Bakheet, S. A., & Attia, S. M. (2018). Resveratrol Improves Neuroimmune Dysregulation Through the Inhibition of Neuronal Toll-Like Receptors and COX-2 Signaling in BTBR T+ Ipr3tf/J Mice. *Neuromolecular Medicine*, 20(1), 133–146. <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8483-0>
- Anderson, C. M., & Swanson, R. A. (2000). Astrocyte glutamate transport: Review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia*, 32(1), 1–14. [https://doi.org/10.1002/1098-1136\(200010\)32:1<1::AID-GLIA10>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1098-1136(200010)32:1<1::AID-GLIA10>3.0.CO;2-W)
- Aquilano, K., Baldelli, S., & Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- Argaw, A. T., Asp, L., Zhang, J., Navrazhina, K., Pham, T., Mariani, J. N., Mahase, S., Dutta, D. J., Seto, J., Kramer, E. G., Ferrara, N., Sofroniew, M. V., & John, G. R. (2012). Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. *Journal of Clinical Investigation*, 122(7), 2454–2468. <https://doi.org/10.1172/JCI60842>
- Arús, B. A., Souza, D. G., Bellaver, B., Souza, D. O., Gonçalves, C. A., Quincozes-Santos, A., & Bobermin, L. D. (2017). Resveratrol modulates GSH system in C6 astroglial cells through heme oxygenase 1 pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 428(1–2), 67–77. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2917-5>
- Axtell, R. C., & Steinman, L. (2008). Type 1 Interferons Cool the Inflamed Brain. *Immunity*, 28(5), 600–602. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.04.006>
- Bak, L. K., Schousboe, A., & Waagepetersen, H. S. (2006). The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. *Journal of Neurochemistry*, 98(3), 641–653. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03913.x>
- Bastianetto, S., Ménard, C., & Quirion, R. (2015). Neuroprotective action of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1852(6), 1195–1201. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.09.011>
- Baur, J. A., & Sinclair, D. A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(6), 493–506. <https://doi.org/10.1038/nrd2060>
- Bélanger, M., Allaman, I., & Magistretti, P. J. (2011). Brain energy metabolism: Focus on Astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metabolism*, 14(6), 724–738. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.016>
- Bélanger, M., & Magistretti, P. J. (2009). The role of astroglia in neuroprotection. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(3), 281–295. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2009.11.3/mbelanger>

- Bellaver, B., Bobermin, L. D., Souza, D. G., Rodrigues, M. D. N., de Assis, A. M., Wajner, M., Gonçalves, C. A., Souza, D. O., & Quincozes-Santos, A. (2016). Signaling mechanisms underlying the glioprotective effects of resveratrol against mitochondrial dysfunction. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1862(9), 1827–1838. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.06.018>
- Bellaver, B., Souza, D. G., Bobermin, L. D., Souza, D. O., Gonçalves, C.-A., & Quincozes-Santos, A. (2015). Resveratrol Protects Hippocampal Astrocytes Against LPS-Induced Neurotoxicity Through HO-1, p38 and ERK Pathways. *Neurochemical Research*, 40(8), 1600–1608. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1636-8>
- Bellaver, B., Souza, D. G., Souza, D. O., & Quincozes-Santos, A. (2014). Resveratrol increases antioxidant defenses and decreases proinflammatory cytokines in hippocampal astrocyte cultures from newborn, adult and aged Wistar rats. *Toxicology in Vitro*, 28(4), 479–484. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.01.006>
- Bellaver, B., Souza, D. G., Souza, D. O., & Quincozes-Santos, A. (2017). Hippocampal Astrocyte Cultures from Adult and Aged Rats Reproduce Changes in Glial Functionality Observed in the Aging Brain. *Molecular Neurobiology*, 54(4), 2969–2985. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9880-8>
- Benda, P., Lightbody, J., Sato, G., Levine, L., & Sweet, W. (1968). Differentiated Rat Glial Cell Strain in Tissue Culture. *Science*, 161(3839), 370–371. <https://doi.org/10.1126/science.161.3839.370>
- Bhusal, A., Rahman, M. H., & Suk, K. (2022). Hypothalamic inflammation in metabolic disorders and aging. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79(1), 32. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-04019-x>
- Bobermin, L. D., de Souza Almeida, R. R., Weber, F. B., Medeiros, L. S., Medeiros, L., Wyse, A. T. S., Gonçalves, C.-A., & Quincozes-Santos, A. (2022). Lipopolysaccharide Induces Gliotoxicity in Hippocampal Astrocytes from Aged Rats: Insights About the Glioprotective Roles of Resveratrol. *Molecular Neurobiology*. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02664-8>
- Bobermin, L. D., Hansel, G., Scherer, E. B. S., Wyse, A. T. S., Souza, D. O., Quincozes-Santos, A., & Gonçalves, C.-A. (2015). Ammonia impairs glutamatergic communication in astroglial cells: protective role of resveratrol. *Toxicology in Vitro*, 29(8), 2022–2029. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.08.008>
- Bobermin, L. D., Quincozes-Santos, A., Guerra, M. C., Leite, M. C., Souza, D. O., Gonçalves, C. A., & Gottfried, C. (2012). Resveratrol Prevents Ammonia Toxicity in Astroglial Cells. *PLoS ONE*, 7(12), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052164>
- Bobermin, L. D., Roppa, R. H. A., Gonçalves, C. A., & Quincozes-Santos, A. (2020). Ammonia-Induced Glial-Inflammation. *Molecular Neurobiology*, 57(8), 3552–3567. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-01985-4>
- Bobermin, L. D., Roppa, R. H. A., & Quincozes-Santos, A. (2019). Adenosine receptors as a new target for resveratrol-mediated glioprotection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1865(3), 634–647. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.01.004>

- Bobermin, L. D., Souza, D. O., Gonçalves, C.-A., & Quincozes-Santos, A. (2017). Resveratrol prevents ammonia-induced mitochondrial dysfunction and cellular redox imbalance in C6 astroglial cells. *Nutritional Neuroscience*, *21*(4), 276–285. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1284375>
- Boison, D., Chen, J.-F., & Fredholm, B. B. (2010). Adenosine signaling and function in glial cells. *Cell Death & Differentiation*, *17*(7), 1071–1082. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.131>
- Bolaños, J. P. (2016). Bioenergetics and redox adaptations of astrocytes to neuronal activity. *Journal of Neurochemistry*, *139*(S2), 115–125. <https://doi.org/10.1111/jnc.13486>
- Bozic, I., Savic, D., & Lavrnja, I. (2021). Astrocyte phenotypes: Emphasis on potential markers in neuroinflammation. *Histology and Histopathology*, *36*(3), 267–290. <https://doi.org/10.14670/HH-18-284>
- Brusilow, S. W., Koehler, R. C., Traystman, R. J., & Cooper, A. J. L. (2010). Astrocyte glutamine synthetase: Importance in hyperammonemic syndromes and potential target for therapy. *Neurotherapeutics*, *7*(4), 452–470. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.015>
- Burfeind, K. G., Michaelis, K. A., & Marks, D. L. (2016). The central role of hypothalamic inflammation in the acute illness response and cachexia. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *54*, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.10.038>
- Cai, D., & Khor, S. (2019). “Hypothalamic Microinflammation” Paradigm in Aging and Metabolic Diseases. *Cell Metabolism*, *30*(1), 19–35. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.021>
- Camandola, S. (2018). Astrocytes, emerging stars of energy homeostasis. *Cell Stress*, *2*(10), 246–252. <https://doi.org/10.15698/cst2018.10.157>
- Chao, D. H. M., Kirchner, M. K., Pham, C., Foppen, E., Denis, R. G. P., Castel, J., Morel, C., Montalban, E., Hassouna, R., Bui, L.-C., Renault, J., Mouffle, C., García-Cáceres, C., Tschöp, M. H., Li, D., Martin, C., Stern, J. E., & Luquet, S. H. (2022). Hypothalamic astrocytes control systemic glucose metabolism and energy balance. *Cell Metabolism*, *34*(10), 1532-1547.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.09.002>
- Chen, H., Detmer, S. A., Ewald, A. J., Griffin, E. E., Fraser, S. E., & Chan, D. C. (2003). Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *Journal of Cell Biology*, *160*(2), 189–200. <https://doi.org/10.1083/jcb.200211046>
- Chen, Y., Qin, C., Huang, J., Tang, X., Liu, C., Huang, K., Xu, J., Guo, G., Tong, A., & Zhou, L. (2020). The role of astrocytes in oxidative stress of central nervous system: A mixed blessing. *Cell Proliferation*, *53*(3). <https://doi.org/10.1111/cpr.12781>
- Chistyakov, D. V., Azbukina, N. V., Astakhova, A. A., Polozhintsev, A. I., Sergeeva, M. G., & Reiser, G. (2019). Toll-like receptors control p38 and JNK MAPK signaling pathways in rat astrocytes differently, when cultured in normal or high glucose concentrations. *Neurochemistry International*, *131*, 104513.

<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.104513>

- Chowen, J. A., Argente-Arizón, P., Freire-Regatillo, A., Frago, L. M., Horvath, T. L., & Argente, J. (2016). The role of astrocytes in the hypothalamic response and adaptation to metabolic signals. *Progress in Neurobiology*, *144*, 68–87. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.03.001>
- Chu, J. M. T., Lee, D. K. M., Wong, D. P. K., Wong, G. T. C., & Yue, K. K. M. (2016). Methylglyoxal-induced neuroinflammatory response in in vitro astrocytic cultures and hippocampus of experimental animals. *Metabolic Brain Disease*, *31*(5), 1055–1064. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9849-3>
- Clarke, L. E., Liddelow, S. A., Chakraborty, C., Münch, A. E., Heiman, M., & Barres, B. A. (2018). Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(8), E1896–E1905. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800165115>
- Clarke, P., Zhuang, Y., Berens, H. M., Leser, J. S., & Tyler, K. L. (2019). Interferon Beta Contributes to Astrocyte Activation in the Brain following Reovirus Infection. *Journal of Virology*, *93*(10). <https://doi.org/10.1128/JVI.02027-18>
- Cobley, J. N., Fiorello, M. L., & Bailey, D. M. (2018). 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology*, *15*, 490–503. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.01.008>
- Colombo, E., & Farina, C. (2016). Astrocytes: Key Regulators of Neuroinflammation. *Trends in Immunology*, *37*(9), 608–620. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.06.006>
- Crow, M. K., Olfieriev, M., & Kirou, K. A. (2015). Targeting of type I interferon in systemic autoimmune diseases. *Translational Research*, *165*(2), 296–305. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.10.005>
- de Almeida, L. M. V., Piñeiro, C. C., Leite, M. C., Brolese, G., Tramontina, F., Feoli, A. M., Gottfried, C., & Gonçalves, C.-A. (2007). Resveratrol increases glutamate uptake, glutathione content, and S100B secretion in cortical astrocyte cultures. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *27*(5), 661–668. <https://doi.org/10.1007/s10571-007-9152-2>
- Dias, F. R. P., de Souza Almeida, R. R., Sovrani, V., Thomaz, N. K., Gonçalves, C. A., Quincozes-Santos, A., & Bobermin, L. D. (2022). Glioprotective Effects of Resveratrol Against BMAA-Induced Astroglial Dysfunctions. *Neurotoxicity Research*, *40*(2), 530–541. <https://doi.org/10.1007/s12640-022-00492-9>
- DiLuca, M., & Olesen, J. (2014). The Cost of Brain Diseases: A Burden or a Challenge? *Neuron*, *82*(6), 1205–1208. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.05.044>
- Ding, X., Yan, Y., Li, X., Li, K., Ciric, B., Yang, J., Zhang, Y., Wu, S., Xu, H., Chen, W., Lovett-Racke, A. E., Zhang, G.-X., & Rostami, A. (2015). Silencing IFN- γ Binding/Signaling in Astrocytes versus Microglia Leads to Opposite Effects on Central Nervous System Autoimmunity. *The Journal of Immunology*, *194*(9), 4251–4264. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303321>
- Donato, R., Sorci, G., Riuzzi, F., Arcuri, C., Bianchi, R., Brozzi, F., Tubaro, C., & Giambanco, I. (2009). S100B's double life: Intracellular regulator and extracellular signal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell*

Research, 1793(6), 1008–1022. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.11.009>

- dos Santos, A. Q., Nardin, P., Funchal, C., Vieira de Almeida, L. M., Jacques-Silva, M. C., Wofchuk, S. T., Gonçalves, C.-A., & Gottfried, C. (2006). Resveratrol increases glutamate uptake and glutamine synthetase activity in C6 glioma cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 453(2), 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2006.06.025>
- Douglass, J. D., Dorfman, M. D., Fasnacht, R., Shaffer, L. D., & Thaler, J. P. (2017). Astrocyte IKK β /NF- κ B signaling is required for diet-induced obesity and hypothalamic inflammation. *Molecular Metabolism*, 6(4), 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.01.010>
- Dresselhaus, E. C., & Meffert, M. K. (2019). Cellular Specificity of NF- κ B Function in the Nervous System. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01043>
- Dringen, R. (2000). Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology*, 62(6), 649–671. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(99\)00060-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(99)00060-X)
- Escartin, C., Galea, E., Lakatos, A., O’Callaghan, J. P., Petzold, G. C., Serrano-Pozo, A., Steinhäuser, C., Volterra, A., Carmignoto, G., Agarwal, A., Allen, N. J., Araque, A., Barbeito, L., Barzilai, A., Bergles, D. E., Bonvento, G., Butt, A. M., Chen, W.-T., Cohen-Salmon, M., ... Verkhratsky, A. (2021). Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nature Neuroscience*, 24(3), 312–325. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4>
- Farina, C., Aloisi, F., & Meinl, E. (2007). Astrocytes are active players in cerebral innate immunity. *Trends in Immunology*, 28(3), 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.it.2007.01.005>
- Feigin, V. L., Nichols, E., Alam, T., Bannick, M. S., Beghi, E., Blake, N., Culpepper, W. J., Dorsey, E. R., Elbaz, A., Ellenbogen, R. G., Fisher, J. L., Fitzmaurice, C., Giussani, G., Glennie, L., James, S. L., Johnson, C. O., Kassebaum, N. J., Logroscino, G., Marin, B., ... Vos, T. (2019). Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, 18(5), 459–480. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X)
- Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P., Giuliani, C., & Santoro, A. (2018). Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(10), 576–590. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0059-4>
- Fukuda, A. M., & Badaut, J. (2012). Aquaporin 4: a player in cerebral edema and neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 771. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-279>
- Galland, F., Seady, M., Taday, J., Smaili, S. S., Gonçalves, C. A., & Leite, M. C. (2019). Astrocyte culture models: Molecular and function characterization of primary culture, immortalized astrocytes and C6 glioma cells. *Neurochemistry International*, 131, 104538. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.104538>
- Gambini, J., Inglés, M., Olaso, G., Lopez-Grueso, R., Bonet-Costa, V., Gimeno-Mallench, L., Mas-Bargues, C., Abdelaziz, K. M., Gomez-Cabrera, M. C., Vina,

- J., & Borrás, C. (2015). Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2015/837042>
- García-Cáceres, C., Balland, E., Prevot, V., Luquet, S., Woods, S. C., Koch, M., Horvath, T. L., Yi, C., Chowen, J. A., Verkhratsky, A., Araque, A., Bechmann, I., & Tschöp, M. H. (2019). Role of astrocytes, microglia, and tanycytes in brain control of systemic metabolism. *Nature Neuroscience*, 22(1), 7–14. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0286-y>
- Garrigue, P., Mounien, L., Champion, S., Mouhajir, Y., Pechere, L., Guillet, B., Landrier, J.-F., & Seree, E. (2021). Long-term administration of resveratrol at low doses improves neurocognitive performance as well as cerebral blood flow and modulates the inflammatory pathways in the brain. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 97, 108786. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108786>
- Ghosh, M., Yang, Y., Rothstein, J. D., & Robinson, M. B. (2011). Nuclear factor- κ B contributes to neuron-dependent induction of glutamate transporter-1 expression in astrocytes. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(25), 9159–9169. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0302-11.2011>
- Giacco, F., & Brownlee, M. (2010). Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research*, 107(9), 1058–1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>
- Gonçalves, C.-A., Rodrigues, L., Bobermin, L. D., Zanotto, C., Vizuete, A., Quincozes-Santos, A., Souza, D. O., & Leite, M. C. (2019). Glycolysis-Derived Compounds From Astrocytes That Modulate Synaptic Communication. *Frontiers in Neuroscience*, 12(1035). <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.01035>
- González-Navajas, J. M., Lee, J., David, M., & Raz, E. (2012). Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nature Reviews Immunology*, 12(2), 125–135. <https://doi.org/10.1038/nri3133>
- Goss, J. R., O'Malley, M. E., Zou, L., Styren, S. D., Kochanek, P. M., & DeKosky, S. T. (1998). Astrocytes Are the Major Source of Nerve Growth Factor Upregulation Following Traumatic Brain Injury in the Rat. *Experimental Neurology*, 149(2), 301–309. <https://doi.org/10.1006/exnr.1997.6712>
- Guijarro, A., Laviano, A., & Meguid, M. M. (2006). Hypothalamic integration of immune function and metabolism. In *Progress in Brain Research* (pp. 367–405). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(06\)53022-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(06)53022-5)
- Gwak, H., Haegeman, G., Tsang, B. K., & Song, Y. S. (2015). Cancer-specific interruption of glucose metabolism by resveratrol is mediated through inhibition of Akt/GLUT1 axis in ovarian cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, 54(12), 1529–1540. <https://doi.org/10.1002/mc.22227>
- Hamby, M. E., & Sofroniew, M. V. (2010). Reactive astrocytes as therapeutic targets for CNS disorders. *Neurotherapeutics*, 7(4), 494–506. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.07.003>
- Han, R. T., Kim, R. D., Molofsky, A. V., & Liddelow, S. A. (2021). Astrocyte-immune

- cell interactions in physiology and pathology. *Immunity*, 54(2), 211–224. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.01.013>
- Haroon, E., Miller, A. H., & Sanacora, G. (2017). Inflammation, Glutamate, and Glia: A Trio of Trouble in Mood Disorders. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 42(1), 193–215. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.199>
- Haskó, G., Linden, J., Cronstein, B., & Pacher, P. (2008). Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(9), 759–770. <https://doi.org/10.1038/nrd2638>
- Hayes, J. D., & Dinkova-Kostova, A. T. (2014). The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. *Trends in Biochemical Sciences*, 39(4), 199–218. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.02.002>
- Hertz, L. (2006). Glutamate, a neurotransmitter—And so much more. *Neurochemistry International*, 48(6–7), 416–425. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.12.021>
- Hertz, L., Chen, Y., & Song, D. (2017). Astrocyte Cultures Mimicking Brain Astrocytes in Gene Expression, Signaling, Metabolism and K⁺ Uptake and Showing Astrocytic Gene Expression Overlooked by Immunohistochemistry and In Situ Hybridization. *Neurochemical Research*, 42(1), 254–271. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1828-x>
- Hori, T., Katafuchi, T., Take, S., & Shimizu, N. (1998). Neuroimmunomodulatory Actions of Hypothalamic Interferon- α . *Neuroimmunomodulation*, 5(3–4), 172–177. <https://doi.org/10.1159/000026334>
- Hou, C. Y., Tain, Y. L., Yu, H. R., & Huang, L. T. (2019). The effects of resveratrol in the treatment of metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms20030535>
- Jazwa, A., & Cuadrado, A. (2010). Targeting Heme Oxygenase-1 for Neuroprotection and Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Current Drug Targets*, 11(12), 1517–1531. <https://doi.org/10.2174/1389450111009011517>
- Jensen, C. J., Massie, A., & De Keyser, J. (2013). Immune Players in the CNS: The Astrocyte. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 8(4), 824–839. <https://doi.org/10.1007/s11481-013-9480-6>
- Jeong, Y., Son, Y., Han, N.-K., Choi, H.-D., Park, J.-K., Kim, N., Lee, Y.-S., & Lee, H.-J. (2018). Impact of Long-Term RF-EMF on Oxidative Stress and Neuroinflammation in Aging Brains of C57BL/6 Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 2103. <https://doi.org/10.3390/ijms19072103>
- Jing, Y. H., Chen, K. H., Kuo, P. C., Pao, C. C., & Chen, J. K. (2013). Neurodegeneration in streptozotocin-induced diabetic rats is attenuated by treatment with resveratrol. *Neuroendocrinology*, 98(2), 116–127. <https://doi.org/10.1159/000350435>
- Jurga, A. M., Paleczna, M., Kadluczka, J., & Kuter, K. Z. (2021). Beyond the GFAP-Astrocyte Protein Markers in the Brain. *Biomolecules*, 11(9), 1361. <https://doi.org/10.3390/biom11091361>
- Jyothi, H. J., Vidyadhara, D. J., Mahadevan, A., Philip, M., Parmar, S. K., Manohari,

- S. G., Shankar, S. K., Raju, T. R., & Alladi, P. A. (2015). Aging causes morphological alterations in astrocytes and microglia in human substantia nigra pars compacta. *Neurobiology of Aging*, *36*(12), 3321–3333. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.024>
- Kamynina, A., Esteras, N., Koroev, D. O., Angelova, P. R., Volpina, O. M., & Abramov, A. Y. (2021). Activation of RAGE leads to the release of glutamate from astrocytes and stimulates calcium signal in neurons. *Journal of Cellular Physiology*, *236*(9), 6496–6506. <https://doi.org/10.1002/jcp.30324>
- Kandel, E. r., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (2014). *Principles of neural science*.
- Kang, N., Shi, Y., Song, J., Gao, F., Fan, M., Jin, W., Gao, Y., & Lv, P. (2022). Resveratrol reduces inflammatory response and detrimental effects in chronic cerebral hypoperfusion by down-regulating stimulator of interferon genes/TANK-binding kinase 1/interferon regulatory factor 3 signaling. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.868484>
- Katsouri, L., Blondrath, K., & Sastre, M. (2012). Peroxisome proliferator-activated receptor- γ cofactors in neurodegeneration. *IUBMB Life*, *64*(12), 958–964. <https://doi.org/10.1002/iub.1097>
- Kazazoglou, T., Panagiotou, C., Mihailidou, C., Kokkinopoulou, I., Papadopoulou, A., & Moutsatsou, P. (2021). Glutamine synthetase regulation by dexamethasone, RU486, and compound A in astrocytes derived from aged mouse cerebral hemispheres is mediated via glucocorticoid receptor. *Molecular and Cellular Biochemistry*. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04236-9>
- Kiguchi, N., Ding, H., Peters, C. M., Kock, N. D., Kishioka, S., Cline, J. M., Wagner, J. D., & Ko, M.-C. (2017). Altered expression of glial markers, chemokines, and opioid receptors in the spinal cord of type 2 diabetic monkeys. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1863*(1), 274–283. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.10.007>
- Kim, J., Wan, C. K., J. O'Carroll, S., Shaikh, S. B., & Nicholson, L. F. B. (2012). The role of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in neuronal differentiation. *Journal of Neuroscience Research*, *90*(6), 1136–1147. <https://doi.org/10.1002/jnr.23014>
- Kim, S. K., Nabekura, J., & Koizumi, S. (2017). Astrocyte-mediated synapse remodeling in the pathological brain. *Glia*, *65*(11), 1719–1727. <https://doi.org/10.1002/glia.23169>
- Koepsell, H., & Vallon, V. (2020). Glucose transporters in brain in health and disease. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, *472*(9), 1299–1343. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02441-x>
- Kulkarni, S. S., & Cantó, C. (2015). The molecular targets of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, *1852*(6), 1114–1123. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.10.005>
- Lagouge, M., Arghmann, C., Gerhart-Hines, Z., Meziane, H., Lerin, C., Daussin, F., Messadeq, N., Milne, J., Lambert, P., Elliott, P., Geny, B., Laakso, M., Puigserver, P., & Auwerx, J. (2006). Resveratrol Improves Mitochondrial Function and

- Protects against Metabolic Disease by Activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell*, 127(6), 1109–1122. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.013>
- Lazear, H. M., Govero, J., Smith, A. M., Platt, D. J., Fernandez, E., Miner, J. J., & Diamond, M. S. (2016). A Mouse Model of Zika Virus Pathogenesis. *Cell Host & Microbe*, 19(5), 720–730. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.03.010>
- Lee, M., Cho, T., Jantaratnotai, N., Wang, Y. T., McGeer, E., & McGeer, P. L. (2010). Depletion of GSH in glial cells induces neurotoxicity: relevance to aging and degenerative neurological diseases. *The FASEB Journal*, 24(7), 2533–2545. <https://doi.org/10.1096/fj.09-149997>
- León, D., Uribe, E., Zambrano, A., & Salas, M. (2017). Implications of Resveratrol on Glucose Uptake and Metabolism. *Molecules*, 22(3), 398. <https://doi.org/10.3390/molecules22030398>
- Li, L., Acioglu, C., Heary, R. F., & Elkabes, S. (2021). Role of astroglial toll-like receptors (TLRs) in central nervous system infections, injury and neurodegenerative diseases. *Brain, Behavior, and Immunity*, 91, 740–755. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.10.007>
- Li, X., Bai, L., Yang, Y., Luo, W., Hu, W., Chen, J., Mao, C., & Liu, C. (2009). Effects of IL-6 secreted from astrocytes on the survival of dopaminergic neurons in lipopolysaccharide-induced inflammation. *Neuroscience Research*, 65(3), 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2009.07.007>
- Liddelw, S. A., Guttenplan, K. A., Clarke, L. E., Bennett, F. C., Bohlen, C. J., Schirmer, L., Bennett, M. L., Münch, A. E., Chung, W. S., Peterson, T. C., Wilton, D. K., Frouin, A., Napier, B. A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M. S., Rowitch, D. H., Dawson, V. L., Dawson, T. M., ... Barres, B. A. (2017). Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*, 541(7638), 481–487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
- Liedtke, W., Edelman, W., Bieri, P. L., Chiu, F.-C., Cowan, N. J., Kucherlapati, R., & Raine, C. S. (1996). GFAP Is Necessary for the Integrity of CNS White Matter Architecture and Long-Term Maintenance of Myelination. *Neuron*, 17(4), 607–615. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80194-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80194-4)
- Lima Giacobbo, B., Doorduyn, J., Klein, H. C., Dierckx, R. A. J. O., Bromberg, E., & de Vries, E. F. J. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Molecular Neurobiology*, 56(5), 3295–3312. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1283-6>
- Liu, T., Xu, Y., Yi, C.-X., Tong, Q., & Cai, D. (2021). The hypothalamus for whole-body physiology: from metabolism to aging. *Protein & Cell*. <https://doi.org/10.1007/s13238-021-00834-x>
- Liyanagamage, D. S. N. K., & Martinus, R. D. (2020). Role of Mitochondrial Stress Protein HSP60 in Diabetes-Induced Neuroinflammation. *Mediators of Inflammation*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/8073516>
- Longo, M., Bellastella, G., Maiorino, M. I., Meier, J. J., Esposito, K., & Giugliano, D. (2019). Diabetes and Aging: From Treatment Goals to Pharmacologic Therapy. *Frontiers in Endocrinology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00045>

- Ma, N., & Zhang, Y. (2022). Effects of resveratrol therapy on glucose metabolism, insulin resistance, inflammation, and renal function in the elderly patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial protocol. *Medicine*, *101*(32), e30049. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000030049>
- Ma, X., Sun, Z., Han, X., Li, S., Jiang, X., Chen, S., Zhang, J., & Lu, H. (2020). Neuroprotective Effect of Resveratrol via Activation of Sirt1 Signaling in a Rat Model of Combined Diabetes and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01400>
- Malaguarnera, L. (2019). Influence of Resveratrol on the Immune Response. *Nutrients*, *11*(5), 946. <https://doi.org/10.3390/nu11050946>
- Maragakis, N. J., & Rothstein, J. D. (2004). Glutamate transporters: animal models to neurologic disease. *Neurobiology of Disease*, *15*(3), 461–473. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2003.12.007>
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., de Castro, I. N., Asenjo, M., & Márquez, J. (2002). Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *34*(5), 439–458. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(01\)00143-1](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00143-1)
- Matias, I., Morgado, J., & Gomes, F. C. A. (2019). Astrocyte Heterogeneity: Impact to Brain Aging and Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00059>
- McGlasson, S., Jury, A., Jackson, A., & Hunt, D. (2015). Type I interferon dysregulation and neurological disease. *Nature Reviews Neurology*, *11*(9), 515–523. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.143>
- Miguel, C. A., Noya-Riobó, M. V., Mazzone, G. L., Villar, M. J., & Coronel, M. F. (2021). Antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective actions of resveratrol after experimental nervous system insults. Special focus on the molecular mechanisms involved. *Neurochemistry International*, *150*, 105188. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105188>
- Minter, M. R., Moore, Z., Zhang, M., Brody, K. M., Jones, N. C., Shultz, S. R., Taylor, J. M., & Crack, P. J. (2016). Deletion of the type-1 interferon receptor in APPSWE/PS1 Δ E9 mice preserves cognitive function and alters glial phenotype. *Acta Neuropathologica Communications*, *4*(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0341-4>
- Moreira, T. J. T. P., Cebere, A., Cebers, G., Ostenson, C.-G., Efendic, S., & Liljequist, S. (2007). Reduced HO-1 protein expression is associated with more severe neurodegeneration after transient ischemia induced by cortical compression in diabetic Goto-Kakizaki rats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *27*(10), 1710–1723. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600479>
- Mulica, P., Grünewald, A., & Pereira, S. L. (2021). Astrocyte-Neuron Metabolic Crosstalk in Neurodegeneration: A Mitochondrial Perspective. *Frontiers in Endocrinology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.668517>
- Murphy, A., Vines, A., & McBean, G. J. (2009). Stimulation of EAAC1 in C6 glioma cells by store-operated calcium influx. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* -

Biomembranes, 1788(2), 551–558.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.12.005>

- Murray, C., Griffin, É. W., O’Loughlin, E., Lyons, A., Sherwin, E., Ahmed, S., Stevenson, N. J., Harkin, A., & Cunningham, C. (2015). Interdependent and independent roles of type I interferons and IL-6 in innate immune, neuroinflammatory and sickness behaviour responses to systemic poly I:C. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 274–286. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.04.009>
- Narasimhan, A., Flores, R. R., Robbins, P. D., & Niedernhofer, L. J. (2021). Role of cellular senescence in type II diabetes. *Endocrinology (United States)*, 162(10), 1–12. <https://doi.org/10.1210/endo/bqab136>
- Nardin, P., Tramontina, F., Leite, M. C., Tramontina, A. C., Quincozes-Santos, A., de Almeida, L. M. V., Battastini, A. M., Gottfried, C., & Gonçalves, C. A. (2007). S100B content and secretion decrease in astrocytes cultured in high-glucose medium. *Neurochemistry International*, 50(5), 774–782. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.01.013>
- Oliet, S. H. R. (2001). Control of Glutamate Clearance and Synaptic Efficacy by Glial Coverage of Neurons. *Science*, 292(5518), 923–926. <https://doi.org/10.1126/science.1059162>
- Owens, T., Khorrooshi, R., Wlodarczyk, A., & Asgari, N. (2014). Interferons in the central nervous system: A few instruments play many tunes. *Glia*, 62(3), 339–355. <https://doi.org/10.1002/glia.22608>
- Palmer, A. L., & Ousman, S. S. (2018). Astrocytes and Aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00337>
- Papismadov, N., Gal, H., & Krizhanovsky, V. (2017). The anti-aging promise of p21. *Cell Cycle*, 16(21), 1997–1998. <https://doi.org/10.1080/15384101.2017.1377500>
- Pazzaglia, S., & Pioli, C. (2019). Multifaceted Role of PARP-1 in DNA Repair and Inflammation: Pathological and Therapeutic Implications in Cancer and Non-Cancer Diseases. *Cells*, 9(1), 41. <https://doi.org/10.3390/cells9010041>
- Pöyhönen, S., Er, S., Domanskyi, A., & Airavaara, M. (2019). Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: Expression and Properties in Neurodegeneration and Injury. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00486>
- Quincozes-Santos, A., Bobermin, L. D., de Assis, A. M., Gonçalves, C. A., & Souza, D. O. (2017). Fluctuations in glucose levels induce glial toxicity with glutamatergic, oxidative and inflammatory implications. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1863(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.09.013>
- Quincozes-Santos, A., Bobermin, L. D., Latini, A., Wajner, M., Souza, D. O., Gonçalves, C.-A., & Gottfried, C. (2013). Resveratrol Protects C6 Astrocyte Cell Line against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress through Heme Oxygenase 1. *PLoS ONE*, 8(5), e64372. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064372>
- Quincozes-Santos, A., & Gottfried, C. (2011). Resveratrol modulates astroglial

- functions: Neuroprotective hypothesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215(1), 72–78. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05857.x>
- Quincozes-Santos, A., Santos, C. L., de Souza Almeida, R. R., da Silva, A., Thomaz, N. K., Costa, N. L. F., Weber, F. B., Schmitz, I., Medeiros, L. S., Medeiros, L., Dotto, B. S., Dias, F. R. P., Sovrani, V., & Bobermin, L. D. (2021). Gliotoxicity and Glioprotection: the Dual Role of Glial Cells. *Molecular Neurobiology*. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02574-9>
- Richa, R., Yadawa, A. K., & Chaturvedi, C. M. (2017). Hyperglycemia and high nitric oxide level induced oxidative stress in the brain and molecular alteration in the neurons and glial cells of laboratory mouse, *Mus musculus*. *Neurochemistry International*, 104, 64–79. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.12.008>
- Rius-Pérez, S., Torres-Cuevas, I., Millán, I., Ortega, Á. L., & Pérez, S. (2020). PGC-1 α , Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–20. <https://doi.org/10.1155/2020/1452696>
- Robb, J. L., Hammad, N. A., Weightman Potter, P. G., Chilton, J. K., Beall, C., & Ellacott, K. L. J. (2020). The metabolic response to inflammation in astrocytes is regulated by nuclear factor-kappa B signaling. *Glia*, 68(11), 2246–2263. <https://doi.org/10.1002/glia.23835>
- Robinson, M. B. (2006). Acute Regulation of Sodium-Dependent Glutamate Transporters: A Focus on Constitutive and Regulated Trafficking. In *Neurotransmitter Transporters* (pp. 251–275). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/3-540-29784-7_13
- Rodríguez-Campuzano, A. G., & Ortega, A. (2021). Glutamate transporters: Critical components of glutamatergic transmission. *Neuropharmacology*, 192(May), 108602. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108602>
- Rosin, J. M., & Kurrasch, D. M. (2019). Emerging roles for hypothalamic microglia as regulators of physiological homeostasis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 54, 100748. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100748>
- Sajja, R. K., Prasad, S., Tang, S., Kaiser, M. A., & Cucullo, L. (2017). Blood-brain barrier disruption in diabetic mice is linked to Nrf2 signaling deficits: Role of ABCB10? *Neuroscience Letters*, 653, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.05.059>
- 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>
- Salman, M. M., Kitchen, P., Halsey, A., Wang, M. X., Tornroth-Horsefield, S., Conner, A. C., Badaut, J., Iliff, J. J., & Bill, R. M. (2021). Emerging roles for dynamic aquaporin-4 subcellular relocalization in CNS water homeostasis. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awab311>
- Salminen, A., & Kaarniranta, K. (2012). AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Research Reviews*, 11(2), 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2011.12.005>

- Santos, C. L., Roppa, P. H. A., Truccolo, P., Fontella, F. U., Souza, D. O., Bobermin, L. D., & Quincozes-Santos, A. (2018). Age-Dependent Neurochemical Remodeling of Hypothalamic Astrocytes. *Molecular Neurobiology*, *55*(7), 5565–5579. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0786-x>
- Saper, C. B., & Lowell, B. B. (2014). The hypothalamus. *Current Biology*, *24*(23), R1111–R1116. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.023>
- Sarubbo, F., Esteban, S., Miralles, A., & Moranta, D. (2018). Effects of Resveratrol and other Polyphenols on Sirt1: Relevance to Brain Function During Aging. *Current Neuropharmacology*, *16*(2). <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170703113212>
- Schousboe, A., & Waagepetersen, H. S. (2005). Role of astrocytes in glutamate homeostasis: Implications for excitotoxicity. *Neurotoxicity Research*, *8*(3–4), 221–225. <https://doi.org/10.1007/BF03033975>
- Sharma, K., Schmitt, S., Bergner, C. G., Tyanova, S., Kannaiyan, N., Manrique-Hoyos, N., Kongi, K., Cantuti, L., Hanisch, U.-K., Philips, M.-A., Rossner, M. J., Mann, M., & Simons, M. (2015). Cell type- and brain region-resolved mouse brain proteome. *Nature Neuroscience*, *18*(12), 1819–1831. <https://doi.org/10.1038/nn.4160>
- Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, *119*(1), 7–35. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8>
- Sofroniew, M. V. (2020). Astrocyte Reactivity: Subtypes, States, and Functions in CNS Innate Immunity. *Trends in Immunology*, *41*(9), 758–770. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.07.004>
- Song, Y., Zhang, F., Ying, C., Kumar, K. A., & Zhou, X. (2017). Inhibition of NF- κ B activity by aminoguanidine alleviates neuroinflammation induced by hyperglycemia. *Metabolic Brain Disease*, *32*(5), 1627–1637. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0013-5>
- Souza, D. G., Bellaver, B., Raupp, G. S., Souza, D. O., & Quincozes-Santos, A. (2015). Astrocytes from adult Wistar rats aged in vitro show changes in glial functions. *Neurochemistry International*, *90*, 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.07.016>
- Sovrani, V., Bobermin, L. D., Santos, C. L., Brondani, M., Gonçalves, C.-A., Leipnitz, G., & Quincozes-Santos, A. (2022). Effects of long-term resveratrol treatment in hypothalamic astrocyte cultures from aged rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. <https://doi.org/10.1007/s11010-022-04585-z>
- Sovrani, V., Bobermin, L. D., Schmitz, I., Leipnitz, G., & Quincozes-Santos, A. (2021). Potential Glioprotective Strategies Against Diabetes-Induced Brain Toxicity. *Neurotoxicity Research*, *39*(5), 1651–1664. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00393-3>
- Tan, P.-H., Ji, J., Yeh, C.-C., & Ji, R.-R. (2021). Interferons in Pain and Infections: Emerging Roles in Neuro-Immune and Neuro-Glial Interactions. *Frontiers in Immunology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.783725>
- Tasker, J. G. (2006). Rapid Glucocorticoid Actions in the Hypothalamus as a

- Mechanism of Homeostatic Integration. *Obesity*, 14, 259S-265S. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.320>
- Tomlinson, D. R., & Gardiner, N. J. (2008). Glucose neurotoxicity. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 36–45. <https://doi.org/10.1038/nrn2294>
- Tramontina, A. C., Nardin, P., Quincozes-Santos, A., Tortorelli, L., Wartchow, K. M., Andrezza, A. C., Braganhol, E., de Souza, D. O. G., & Gonçalves, C.-A. (2012). High-Glucose and S100B Stimulate Glutamate Uptake in C6 Glioma Cells. *Neurochemical Research*, 37(7), 1399–1408. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0722-4>
- Trotti, D., Danbolt, N. C., & Volterra, A. (1998). Glutamate transporters are oxidant-vulnerable: a molecular link between oxidative and excitotoxic neurodegeneration? *Trends in Pharmacological Sciences*, 19(8), 328–334. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(98\)01230-9](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(98)01230-9)
- Tufekci, K. U., Eltutan, B. I., Isci, K. B., & Genc, S. (2021). Resveratrol Inhibits NLRP3 Inflammasome-Induced Pyroptosis and miR-155 Expression in Microglia Through Sirt1/AMPK Pathway. *Neurotoxicity Research*, 39(6), 1812–1829. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00435-w>
- Tusell, J. M., Saura, J., & Serratos, J. (2005). Absence of the cell cycle inhibitor p21Cip1 reduces LPS-induced NO release and activation of the transcription factor NF- κ B in mixed glial cultures. *Glia*, 49(1), 52–58. <https://doi.org/10.1002/glia.20095>
- Verkhatsky, A., Ho, M. S., Zorec, R., & Parpura, V. (2019). *The Concept of Neuroglia* (pp. 1–13). https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_1
- Virgin, C. E., Ha, T. P.-T., Paakan, D. R., Tombaugh, G. C., Yang, S. H., Homer, H. C., & Sapolsky, R. M. (1991). Glucocorticoids Inhibit Glucose Transport and Glutamate Uptake in Hippocampal Astrocytes: Implications for Glucocorticoid Neurotoxicity. *Journal of Neurochemistry*, 57(4), 1422–1428. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1991.tb08309.x>
- Wakabayashi, N., Slocum, S. L., Skoko, J. J., Shin, S., & Kensler, T. W. (2010). When NRF2 Talks, Who's Listening? *Antioxidants & Redox Signaling*, 13(11), 1649–1663. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3216>
- Wang, J., Li, G., Wang, Z., Zhang, X., Yao, L., Wang, F., Liu, S., Yin, J., Ling, E.-A., Wang, L., & Hao, A. (2012). High glucose-induced expression of inflammatory cytokines and reactive oxygen species in cultured astrocytes. *Neuroscience*, 202, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.062>
- Wang, M. ., Huang, H. ., Hsieh, S. ., Jeng, K. C. ., & Kuo, J. . (2001). Resveratrol inhibits interleukin-6 production in cortical mixed glial cells under hypoxia/hypoglycemia followed by reoxygenation. *Journal of Neuroimmunology*, 112(1–2), 28–34. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(00\)00374-X](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(00)00374-X)
- Wang, X., Fang, H., Xu, G., Yang, Y., Xu, R., Liu, Q., Xue, X., Liu, J., & Wang, H. (2020). Resveratrol prevents cognitive impairment in type 2 diabetic mice by upregulating Nrf2 expression and transcriptional level. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, 1061–1075. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S243560>

- Yang, J., Zhang, R., Shi, C., Mao, C., Yang, Z., Suo, Z., Torp, R., & Xu, Y. (2017). AQP4 Association with Amyloid Deposition and Astrocyte Pathology in the Tg-ArcSwe Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, *57*(1), 157–169. <https://doi.org/10.3233/JAD-160957>
- Yang, P., Cao, Y., & Li, H. (2010). Hyperglycemia induces inducible nitric oxide synthase gene expression and consequent nitrosative stress via c-Jun N-terminal kinase activation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *203*(2), 185.e5-11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.05.003>
- Yang, X., Xu, S., Qian, Y., & Xiao, Q. (2017). Resveratrol regulates microglia M1/M2 polarization via PGC-1 α in conditions of neuroinflammatory injury. *Brain, Behavior, and Immunity*, *64*, 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.03.003>
- Zelová, H., & Hošek, J. (2013). TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflammation Research*, *62*(7), 641–651. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0633-0>
- Zhang, G., Li, J., Purkayastha, S., Tang, Y., Zhang, H., Yin, Y., Li, B., Liu, G., & Cai, D. (2013). Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- β , NF- κ B and GnRH. *Nature*, *497*(7448), 211–216. <https://doi.org/10.1038/nature12143>
- Zhang, Y., Kim, M. S., Jia, B., Yan, J., Zuniga-Hertz, J. P., Han, C., & Cai, D. (2017). Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs. *Nature*, *548*(7665), 52–57. <https://doi.org/10.1038/nature23282>
- Zhao, Y., Luo, C., Chen, J., Sun, Y., Pu, D., Lv, A., Zhu, S., Wu, J., Wang, M., Zhou, J., Liao, Z., Zhao, K., & Xiao, Q. (2018). High glucose-induced complement component 3 up-regulation via RAGE-p38MAPK-NF- κ B signalling in astrocytes: In vivo and in vitro studies. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *22*(12), 6087–6098. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13884>
- Zheng, Y., Yang, Y., Dong, B., Zheng, H., Lin, X., Du, Y., Li, X., Zhao, L., & Gao, H. (2016). Metabonomic profiles delineate potential role of glutamate-glutamine cycle in db/db mice with diabetes-associated cognitive decline. *Molecular Brain*, *9*(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s13041-016-0223-5>
- Zia, A., Pourbagher-Shahri, A. M., Farkhondeh, T., & Samarghandian, S. (2021). Molecular and cellular pathways contributing to brain aging. *Behavioral and Brain Functions*, *17*(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12993-021-00179-9>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática dos principais alvos terapêuticos utilizados nos estudos de astrócitos em diferentes modelos fisiopatológicos

Figura 2. Estruturas químicas do trans-resveratrol e cis-resveratrol

ANEXOS

Comprovação de participação em outras publicações durante o período de doutoramento:

**Anexo 1. Artigo de revisão publicado no periódico *Molecular Neurobiology*:
Gliotoxicity and Glioprotection: the Dual Role of Glial Cells (DOI: 10.1007/s12035-021-02574-9)**

Molecular Neurobiology (2021) 58:6577–6592
<https://doi.org/10.1007/s12035-021-02574-9>



Gliotoxicity and Glioprotection: the Dual Role of Glial Cells

André Quincozes-Santos^{1,2,3} · Camila Leite Santos¹ · Rômulo Rodrigo de Souza Almeida¹ · Amanda da Silva¹ · Natalie K. Thomaz¹ · Naithan Ludian Fernandes Costa³ · Fernanda Becker Weber² · Izaviany Schmitz¹ · Lara Scopel Medeiros² · Lívia Medeiros² · Bethina Segabinazzi Dotto¹ · Filipe Renato Pereira Dias¹ · Vanessa Sovrani¹ · Larissa Daniele Bobermin¹

Received: 22 July 2021 / Accepted: 19 September 2021 / Published online: 28 September 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

Abstract

Glial cells (astrocytes, oligodendrocytes and microglia) are critical for the central nervous system (CNS) in both physiological and pathological conditions. With this in mind, several studies have indicated that glial cells play key roles in the development and progression of CNS diseases. In this sense, gliotoxicity can be referred as the cellular, molecular, and neurochemical changes that can mediate toxic effects or ultimately lead to impairment of the ability of glial cells to protect neurons and/or other glial cells. On the other hand, glioprotection is associated with specific responses of glial cells, by which they can protect themselves as well as neurons, resulting in an overall improvement of the CNS functioning. In addition, gliotoxic events, including metabolic stresses, inflammation, excitotoxicity, and oxidative stress, as well as their related mechanisms, are strongly associated with the pathogenesis of neurological, psychiatric and infectious diseases. However, glioprotective molecules can prevent or improve these glial dysfunctions, representing glial cells-targeting therapies. Therefore, this review will provide a brief summary of types and functions of glial cells and point out cellular and molecular mechanisms associated with gliotoxicity and glioprotection, potential glioprotective molecules and their mechanisms, as well as gliotherapy. In summary, we expect to address the relevance of gliotoxicity and glioprotection in the CNS homeostasis and diseases.

Keywords Glial cells · Gliotoxicity · Glioprotection · Glioprotective molecules

Anexo 2. Artigo publicado no periódico *Neurotoxicity Research: Glioprotective Effects of Resveratrol Against BMAA-Induced Astroglial Dysfunctions* (DOI: 10.1007/s12640-022-00492-9)

Neurotoxicity Research
<https://doi.org/10.1007/s12640-022-00492-9>

ORIGINAL ARTICLE



Glioprotective Effects of Resveratrol Against BMAA-Induced Astroglial Dysfunctions

Filipe Renato Pereira Dias¹ · Rômulo Rodrigo de Souza Almeida¹ · Vanessa Sovrani¹ · Natalie K. Thomaz¹ · Carlos-Alberto Gonçalves^{1,2,3} · André Quincozes-Santos^{1,2,3} · Larissa Daniele Bobermin^{1,2}

Received: 8 February 2022 / Revised: 13 March 2022 / Accepted: 17 March 2022
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

Abstract

Astroglial cells play important roles in maintaining central nervous system (CNS) homeostasis. The neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) has usually been associated with neurodegeneration due to its toxic effects on neurons. However, little is known about the effects of BMAA on astroglial cells. Resveratrol, a natural polyphenol, represents a potential protective strategy against brain injuries. In the present study, we sought to investigate BMAA-induced astroglial dysfunctions and the glioprotective roles of resveratrol. BMAA did not impair astroglial cellular viability, but increased glutamate uptake, glutamate metabolism into glutamine, and reactive oxygen species production, while decreased glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD)-based antioxidant defenses and triggers an inflammatory response. In contrast, resveratrol was able to prevent most of these BMAA-induced functional changes in astroglial cells. Moreover, both BMAA and resveratrol modulated the gene expression of molecular pathways associated with glutamate metabolism, redox homeostasis, and inflammatory response, which characterize their roles on astroglial functions. In this regard, BMAA downregulated adenosine receptors, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α), phosphoinositide-3-kinase (PI3K), and Akt, while resveratrol prevented these effects and upregulated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1). Our study, for the first time, demonstrates that BMAA directly impacts key astroglial functions, contributing to elucidating the cellular and molecular mechanisms of this toxin in the CNS. In addition, we reinforce the glioprotective effects of resveratrol against BMAA-induced astroglial dysfunctions.

Keywords BMAA · Resveratrol · Astroglial cells · Astroglial dysfunctions · Glioprotection