



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**CORRELAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS E ASPECTOS
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO
METILGLIOXAL**

Gudrian Ricardo Lopes de Almeida

Florianópolis

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**CORRELAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS E ASPECTOS
COMPORTAMENTAIS EM CMUNDONGOS EXPOSTOS AO
METILGLIOXAL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Alcir Luiz Dafre

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

de Almeida, Gudrian Ricardo Lopes
CORRELAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS E ASPECTOS
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO METILGLIOXAL /
Gudrian Ricardo Lopes de Almeida ; orientador, Alcir Luiz
Dafre, 2021.
104 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação em Bioquímica, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Bioquímica. 2. Metilglioxal. 3. Depressão. 4.
Dopamina. I. Dafre, Alcir Luiz. II. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica.
III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
CEP: 88040-900 - Florianópolis – SC - Telefone: (48) 3721-2713

Ata de sessão de defesa de Tese de Doutorado de Gudrian Ricardo Lopes de Almeida

Aos vinte e seis dias do mês de Fevereiro de 2021, às 9h00min, por videoconferência, realizou-se a sessão de apresentação e defesa da Tese de Gudrian Ricardo Lopes de Almeida, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Bioquímica, da Universidade Federal de Santa Catarina. A Comissão Examinadora, consoante à Portaria nº 001/2021/PPGBQA, esteve constituída pelos membros doutores Daniel Pens Gelain - participação por videoconferência (Universidade Federal do Rio Grande do Sul), Ana Lucia Severo Rodrigues - participação por videoconferência (Universidade Federal de Santa Catarina) e Marcos Roberto de Oliveira - participação por videoconferência (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) como membros titulares, e Leandra Celso Constantino - participação por videoconferência (Universidade Federal de Santa Catarina) e Morgana Moretti - participação por videoconferência (Universidade Federal de Santa Catarina) como membros suplentes. A Tese apresentada teve o seguinte título: “CORRELAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS E ASPECTOS COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO METILGLIOXAL”. Após a exposição do trabalho pelo candidato, o mesmo foi arguido pelos membros da Comissão Examinadora e coube ao candidato responder aos questionamentos da Comissão. Gudrian Ricardo Lopes de Almeida foi considerado aprovado. A Comissão Examinadora solicitou as seguintes alterações na Tese:

A comissão solicitou alterações que foram comentadas durante a arguição e também enviadas para correções ao candidato nos exemplares da tese. O aluno terá até 60 (sessenta) dias, a partir da presente data, para fazer as alterações solicitadas pela Comissão Examinadora e submeter a cópia corrigida da Tese à Biblioteca Universitária (UFSC). Caso não haja alteração, o prazo é de 30 (trinta) dias. O não cumprimento deste prazo acarretará em consequências legais de acordo com a legislação vigente nesta Universidade.

Após o encerramento da sessão, eu, Dr. Alcir Luiz Dafre, lavrei a presente ata que, se aprovada, vai assinada pelos demais membros da Comissão Examinadora e pelo Doutorando.

Florianópolis, 26 de fevereiro de 2021.



Documento assinado digitalmente
Alcir Luiz Dafre
Data: 26/02/2021 13:38:34-0300
CPF: 477.407.289-34

Dr. Alcir Luiz Dafre
(participação por videoconferência)
Orientador

Dr. Daniel Pens Gelain
(participação por videoconferência)



Documento assinado digitalmente
Ana Lucia Severo Rodrigues
Data: 26/02/2021 17:07:25-0300
CPF: 421.020.730-68

Dra. Ana Lucia Severo Rodrigues
(participação por videoconferência)

Dr. Marcos Roberto de Oliveira
(participação por videoconferência)



Documento assinado digitalmente
Gudrian Ricardo Lopes de Almeida
Data: 28/02/2021 12:43:50-0300
CPF: 081.862.579-18

Doutorando

Gudrian Ricardo Lopes de Almeida

**Título: CORRELAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS E
ASPECTOS COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO
METILGLIOXAL**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Daniel Pens Gelain, Dr.(a)

Instituição Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.(a) Marcos Roberto de Oliveira, Dr.(a)

Instituição Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.(a) Ana Lucia Severo Rodrigues, Dr.(a)

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Bioquímica.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Alcir Luiz Dafre, Dr.(a)

Orientador(a)

“Somos indivíduos livres e nossa liberdade nos condena a tomarmos decisões durante toda a nossa vida. Não existem valores ou regras eternas, a partir das quais podemos nos guiar. E isto torna ainda mais importantes nossas decisões, nossas escolhas.”

- Jean-Paul Sartre



AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alcir Luiz Dafre, pela confiança, resiliência adversidades vividas e oportunidade de trabalhar em seu laboratório, bem como, todo o tempo depositado e esmero com este projeto de pesquisa que foi desenvolvido ao longo de todo o curso de doutorado.

Aos meus colegas e amigos, que integraram ou continuam no Laboratório de Defesas Celulares (LabDef): Ariana, Barbara, Jozimar, Luana, Luiz, Mauricio, Monique, Rafael e Vicente.

Em especial, a minha colega, amiga e fiel IC, Ingrid, pelos momentos de paciência, descontração, esforço e determinação por um resultado verdadeiro, assim como, pela sua contribuição para a minha formação profissional de distribuidor do conhecimento. A sua dedicação a este trabalho e resolução de todos os percalços que encontramos é de especial menção! São profissionais como você que fazem todos nós, pesquisadores, termos paixão em alcançar as respostas nesse mundo desafiador da pesquisa científica!

Aos professores, os quais compartilhamos o mesmo ambiente, professores Boris J. C. U. Stambuk (Laboratório de Biologia Molecular e Biotecnologia de Leveduras) e Carlos Peres Silva (Laboratório de Bioquímica de Insetos) e a todos os seus orientandos, pelos momentos de descontração, amizade, ensinamentos e contribuições para o meu crescimento profissional, e ainda, por terem proporcionado um ambiente de trabalho agradável e esforço comum ao “LabUnidos”: Ângela, Bruna, Cristina, Eduardo Zanella, Leonardo, Theo e Wallace.

Aos servidores técnicos administrativos da UFSC: Vanessa e os demais membros do corpo técnico do LAMEB, por todo o atendimento e ensinamentos direcionado ao uso dos equipamentos de alta qualidade ofertados pela universidade para o âmbito da pesquisa científica; e também Gabriela e Vilson, por garantirem o bom funcionamento do laboratório, mesmo em meio a tantas adversidades econômicas e de limitações de serviços. A dedicação, profissionalismo e anseio pelo descobrimento e conclusão dos projetos de pesquisa que são desenvolvimentos na universidade são fatos que nos inspiram, pesquisadores, a continuar nesse caminho!

A todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica. Meus mais sinceros agradecimentos a todos os ensinamentos e dedicação à formação e preparo de profissionais para o âmbito acadêmico e científico. Obrigado por todo o

esforço pela disseminação de seus conhecimentos, de uma forma simples e didática, para membros da comunidade civil comum. Afinal, de nada adianta o conhecimento se não for compartilhado. Levo comigo o anseio de todos vocês para a disseminação do conhecimento à vida!

Aos meus pais, Sarmalise e Venâncio – aqueles a quem sou eternamente grato – e a todos os meus familiares, pelo apoio em tempos difíceis, pela empatia e pelos momentos de motivação dedicados ao meu plano maior frente as batalhas internas.

À CAPES e o DAAD, pelas bolsas de estudos concedida aqui no país e na Alemanha para a realização do meu projeto de pesquisa em outros centros científicos, as quais permitiram o apoio financeiro necessário para a realização deste trabalho;

À UFSC e todos os seus colaboradores, que fornecerem subsídios e disponibilidade de recursos humanos, espécimes biológicos e materiais permitindo a realização dos experimentos necessários para responder as perguntas concebidas no presente trabalho, em especial: À Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Biotério Central, Biblioteca Central, Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB); Laboratório de Biologia Molecular e Biotecnologia de Leveduras (LBMBL); Laboratório de Neuroquímica 3; Laboratório de Bioquímica.

Muito obrigado!

RESUMO

O metilglioxal (MGO) é um agente tóxico de produção endógena, formado principalmente a partir do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. Alterações nos níveis de MGO e dos seus sistemas de detoxificação podem induzir estresse dicarbonílico, dano oxidativo e formação de produtos de glicação avançada (AGEs). Desta forma, o MGO tem sido associado a diversas condições patológicas, como alterações vasculares, diabetes, epilepsia, hiperalgesia e ansiedade, além de contribuir para o maior risco no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como as demências, a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson. Os mecanismos para os quais o MGO leva a alterações comportamentais são desconhecidos e, se este fator seria uma das causas envolvidas nas disfunções de neurotransmissores. Este estudo avaliou os efeitos do MGO sobre os parâmetros comportamentais tipo-depressivo e alterações neuroquímicas. As administrações agudas ou repetidas de MGO foram realizadas em Para avaliar os efeitos do MGO foram utilizados camundongos fêmeas de 3 meses de idade das linhagens Swiss, C57BL/6 e BALB/c, recebendo as administrações agudas ou repetidas de MGO através de injeção intraperitoneal. Os animais receberam um único tratamento e foram avaliados 4 h após, ou foram tratados uma vez por dia durante 7 ou 12 dias e avaliados 24 h após a última dose. A avaliação dos parâmetros bioquímicos foi realizada apenas na linhagem Swiss que recebeu o protocolo repetido de administração. E, ainda camundongos foram pré-tratados com muscimol, bicuculina e bupropiona. O comportamento tipo-depressivo foi avaliado no teste de suspensão pela cauda (TSC) e, para avaliar a atividade locomotora foi utilizado o campo aberto. Os parâmetros bioquímicos avaliados foram: os níveis plasmáticos de MGO e, no encéfalo foram analisadas no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HP) as concentrações de AGEs; a atividade e níveis das enzimas relacionadas a detoxificação do MGO e dos sistemas antioxidantes; os níveis das monoaminas dopamina (DA), serotonina (5-HT) e noradrenalina (NA); e os níveis das proteínas DARPP-32 e tirosina hidroxilase. Os resultados revelaram que ambos os protocolos experimentais com MGO induziram o comportamento tipo-depressivo na linhagem Swiss, Balb-c e C57-BL6. Os níveis plasmáticos de MGO apresentaram aumento apenas no protocolo agudo. Os adutos de glicação aumentaram de forma significativa no HP. O sistema de detoxificação do MGO apresentou aumento dos níveis de Glo2 no CPF e GR no HP, porém, não houve aumento na atividade enzimática de GR, além de indução na diminuição da atividade da AKR no

HP. Os resultados evidenciaram uma diminuição nos níveis de DA e NA no CPF, 24 h após 7 administrações de MGO e, ainda, diminuição de DA e 5-HT no CPF, 24 h após 12 dias de tratamento com MGO. No CPF houve aumento nos níveis de TH e dos níveis de fosforilação dos resíduos treonina 75 da DARPP-32, concomitante a diminuição na fosforilação do resíduo Thr34. Apenas a Bupropiona foi capaz de prevenir o comportamento tipo-depressivo induzido por MGO, além de impedir a diminuição nos níveis de DA e 5-HT no CPF. O presente trabalho apresentou evidências dos efeitos deletérios do MGO, tanto comportamentais quanto neuroquímicos, indicando que a perturbação em neurotransmissores pode ser um mecanismo de toxicidade do MGO, especialmente do sistema dopaminérgico.

Palavras-chave: Metilglioxal, Depressão; Dopamina; DARPP-32.

ABSTRACT

Methylglyoxal (MGO) is an endogenous toxin, mainly produced as a by-product of glycolysis. Changes in the levels of MGO and its detoxification systems can induce dicarbonyl stress, oxidative damage and formation of advanced glycation end-products (AGEs). Thus, MGO has been associated with several pathological conditions, such as vascular changes, diabetes, epilepsy, hyperalgesia, anxiety, as well as with an increased risk in the development of neurodegenerative diseases, such as dementia, Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Although, the mechanisms of this carbonyl compound in behavioral changes related to depression are unknown, and whether this would be one of the causes involved in neurotransmitter dysfunctions. Therefore, this study evaluated the effects of MGO on the depression-like behavior and neurochemical changes. To evaluate the effects of MGO, 3-month-old female mice of the Swiss, C57BL/6 and BALB/c strains were used, receiving acute or repeated administration of MGO by intraperitoneal injection. Animals that received a single treatment were evaluated 4 h after, or were treated for 7 or 12 days and evaluated 24 h the last dose. Of note, only the Swiss strain was used for evaluation of biochemical parameters. Depression-like behavior was assessed using the tail suspension test and changes in ambulatory activity were visualized using the open field. The biochemical parameters evaluated were: plasma levels of MGO, in the cerebral areas of prefrontal cortex (PFC) and hippocampus (HP), concentration of AGEs; activity and/or levels of the detoxifying MGO enzymes and from antioxidant systems; levels of monoamines dopamine (DA), serotonin (5-HT) and norepinephrine (NA); and levels of proteins DARPP-32 and tyrosine hydroxylase. The results revealed MGO is capable of inducing depressive-like behavior in all strains, in all experimental protocols. Plasma levels of MGO increased only on acute protocol. The repeated treatment increased levels of MG-H1 in the HP. Moreover, changes were found also on the detoxification system, increase levels of Glo2 and GR in the PFC, however enzymatic activity of GR was not changed, in the HP decreased activity of AKR was shown. Outcomes were found as decrease in levels of DA and NA in the PFC, 24 h after 7-day protocol and, a decrease in DA and 5-HT 24 h after the 12 days of treatment with MGO. Alterations of the dopaminergic system have been also demonstrated in the evaluation of the total levels of DARPP-32 and TH, as well as on phosphorylation levels of threonine residues 34 and 75 of DARPP-32. In the PFC levels of TH and phosphorylation of Thr75 were increased, concomitant to diminished phosphorylation of

Thr34. Only Bupropion was able to prevent the depressive-like behavior induced by MGO, besides preventing decrease on DA and 5-HT in the PFC. Overall, the present study addressed the harmful effects of MGO and, presents for the first-time induced decrease on DA levels, as well as modulation of its metabolism in the CPF, suggest a possible target for MGO toxicity in the central nervous system, mainly affecting the dopaminergic system.

Keywords: Methylglyoxal, Depression; Dopamine; DARPP-32.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Figura 1. Fórmula estrutural do Metilglioxal..... | 20 |
| Figura 2. Níveis de MGO em diferentes áreas encefálicas..... | 21 |
| Figura 3. Sistema das glioxalases.. | 24 |
| Figura 4. Eventos fisiopatológicos comuns entre o açúcar e a depressão..... | 40 |
| Figura 5. Vias de sinalização implicadas no controle de fosforilação dos resíduos da DARPP-32.. | 45 |
| Figura 6. Esquema representativo dos protocolos experimentais..... | 53 |
| Figura 7. MGO induz um específico comportamento tipo-depressivo..... | 60 |
| Figura 8. Níveis de MGO no plasma de camundongos, 4 horas (A) ou após doses diárias de MGO por 7 dias (B).. | 62 |
| Figura 9. Efeitos da administração repetida de MGO em proteínas glicadas (MG-H1) no cortex pré-frontal e hipocampo de camundongos Swiss.. | 63 |
| Figura 10. Efeitos das administrações repetidas de MGO sobre os sistemas de detoxificação do MGO.. | 64 |
| Figura 11. Efeitos da administração repetida de MGO sobre defesas antioxidantes.. | 66 |
| Figura 12. Efeitos da administração repetida de MGO sobre as concentrações de monoaminas.. | 67 |
| Figura 13. Efeitos da administração repetida de MGO sobre a fosforilação de DARPP-32 e imunocontéudo de tirosina hidroxilase.. | 68 |
| Figura 14. Tempo de imobilidade e atividade locomotora de camundongos tratados com MGO e fármacos..... | 69 |
| Figura 15. Tempo de imobilidade e atividade locomotora de camundongos tratados com MGO e/ou Bupropiona.. | 70 |
| Figura 16. Efeitos do pré-tratamento de Bupropiona sobre a administração repetida de MGO na depleção das concentrações de monoaminas.. | 71 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----------|
| Tabela 1. Efeitos comportamentais relacionados à depressão associados ao metabolismo do MGO..... | 32 |
| Tabela 2. Sintomas dos transtornos depressivos, segundo o DSM-V. | 33 |
| Tabela 3. Efeitos da administração repetida de MGO nas defesas antioxidantes. | 65 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------|---|
| A β | Peptídeo beta-amilóide |
| AD | Doença de Alzheimer (do inglês “Alzheimer’s Disease”) |
| AGE | Produtos de glicação avançada (do inglês “Advanced glycation end-products”) |
| AKR | Aldo ceto redutase |
| Akt | Proteína cinase B |
| AMPK | Proteína cinase ativada por AMP |
| BDNF | Fator neurotrófico derivado do encéfalo |
| CEL | N ϵ -carboxietil lisina |
| CPF | Córtex pré-frontal |
| DA | Dopamina |
| DARPP-32 | Fosfoproteína regulada por cAMP e dopamina de 32 kDa |
| GABA | Ácido gama-aminobutírico |
| Glo1 | Glioxalase 1 |
| Glo2 | Glioxalase 2 |
| GPx | Glutaciona peroxidase |
| GR | Glutaciona redutase |
| GSH | Glutaciona |
| GS3K β | Glicogênio sintase cinase 3 β |
| HPLC | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| i.c.v. | Intracerebroventricular |
| i.p. | Intraperitoneal |
| LC3 | Proteína de cadeia leve 3 |
| L-DOPA | 3,4 dihidroxifenilalanina |
| LTP | Potenciação de longa duração |
| MG-H1 | Aduto de MGO derivado de hidroimidazolonas |
| MGO | Metilglioxal |
| mTOR | Alvo mecanístico da rapamicina em mamíferos |
| NA | Noradrenalina |
| NADPH | Fosfato de dinucleótido de adenina e nicotinamida reduzido |
| Nrf2 | Fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 |

| | |
|------------------|--|
| PD | Doença de Parkinson (do inglês, “Parkinson’s Disease”) |
| PKA | Proteína cinase A |
| PP-1 | Proteína fosfatase 1 |
| RAGE | Receptor para os produtos de glicação avançada (do inglês, “receptor for advanced glycation end-products”) |
| RNA _m | RNA mensageiro |
| SNC | Sistema nervoso central |
| SNP _c | Substancia nigra pars compacta |
| TH | Tirosina hidroxilase |
| TEE | Teste de esconder esferas |
| TrkB | Receptor de tropomiosina cinase B |
| TSC | Teste de suspensão pela cauda |
| TrkB | Tropomiosina cinase B |
| Trx | Tiorredoxina |
| TrxR | Tiorredoxina redutase |
| WHO | Organização Mundial da Saúde (do inglês, “World Health Organization”) |
| 5-HT | 5-hidroxitriptamina |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 1.1 | METILGLIOXAL E SEUS ALVOS MOLECULARES | 20 |
| 1.2 | METILGLIOXAL, ESTRESSE DICARBONILA E O SISTEMA DE DEFESAS CELULARES ANTIOXIDANTE | 25 |
| 1.3 | ENVOLVIMENTO DO METILGLIOXAL COM AS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS | 27 |
| 1.3.1 | EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS ATRAVÉS DA MODULAÇÃO DE CONCENTRAÇÕES DO MGO | 29 |
| 1.4 | ASPECTOS ETIOLÓGICOS DA DEPRESSÃO | 33 |
| 1.5 | GLICAÇÃO NA DEPRESSÃO | 38 |
| 1.6 | VIAS DE NEUROTRANSMISSÃO ENVOLVIDAS COM A TOXICIDADE DO METILGLIOXAL | 41 |
| 1.6.1 | ENVOLVIMENTO DA FOSFOPROTEÍNA REGULADA POR CAMP E DOPAMINA DARPP-32 COM AS VIAS DE NEUROTRANSMISSÃO | 42 |
| 1.6.2 | CAPACIDADE DO METILGLIOXAL DE REAGIR COM AMINAS BIOGÊNICAS | 46 |
| 2 | JUSTIFICATIVA | 48 |
| 3 | OBJETIVOS | 50 |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL..... | 50 |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 50 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 52 |
| 4.1 | ANIMAIS | 52 |
| 4.2 | TRATAMENTOS E DESENHO EXPERIMENTAL | 52 |
| 4.3 | TESTES COMPORTAMENTAIS | 54 |
| 4.4 | CAMPO ABERTO | 54 |
| 4.5 | TESTE DE SUSPENSÃO PELA CAUDA..... | 55 |
| 4.6 | ANÁLISES BIOQUÍMICAS | 55 |
| 4.6.1 | Análise dos níveis plasmáticos de Metilglioxal | 55 |
| 4.6.2 | Imunohistoquímica para adutos de MGO | 56 |
| 4.6.3 | Análises dos níveis de monoaminas nas estruturas cerebrais | 56 |
| 4.6.4 | Atividade enzimática | 57 |
| 4.6.5 | Determinação de GSH-t | 58 |
| 4.6.6 | Extração de proteínas e Western blot | 58 |
| 4.7 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 59 |

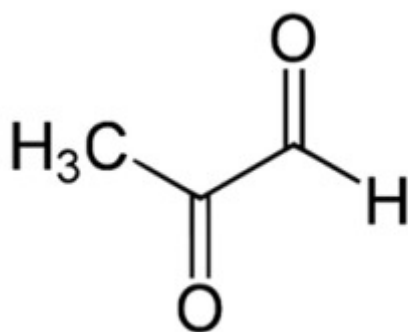
| | | |
|------------|--|-----------|
| 5 | RESULTADOS..... | 60 |
| 5.1 | EFEITOS DO TRATAMENTO AGUDO E REPETIDO COM METILGLIOXAL SOBRE O PARÂMETRO DE IMOBILIDADE E ATIVIDADE AMBULATORIA DE CAMUNDONGOS | 60 |
| 5.2 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL SOBRE SEUS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE METILGLIOXAL | 61 |
| 5.3 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL SOBRE A GLICAÇÃO DE PROTEÍNAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL | 62 |
| 5.4 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL SOBRE OS SISTEMAS ENZIMÁTICOS DE DETOXIFICAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL..... | 63 |
| 5.5 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL SOBRE AS DEFESAS ANTIOXIDANTES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL | 65 |
| 5.6 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL SOBRE OS NÍVEIS DE MONOAMINAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL | 66 |
| 5.7 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL SOBRE AS VIAS DE NEUROTRANSMISSÃO DOPAMINÉRGICA | 67 |
| 5.8 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL JUNTAMENTE COM BICUCULINA E MUSCIMOL | 68 |
| 5.9 | EFEITOS DO TRATAMENTO COM METILGLIOXAL JUNTAMENTE COM BUPROPIONA SOBRE AS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NÍVEIS DE MONOAMINAS..... | 69 |
| 6 | DISCUSSÃO | 72 |
| 7 | CONCLUSÃO | 80 |
| | REFERÊNCIAS | 85 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Metilglioxal e seus alvos moleculares

O Metilglioxal (MGO) é um produto endógeno, designado quimicamente como 2-oxopropanolol, um α -cetoaldeído de três carbonos altamente reativo (Fig. 1). Este é formado a partir do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, inevitavelmente produzido de forma espontânea ou enzimática (THORNALLEY, 1996a). Estima-se que 0,05 – 0,1 % do fluxo da via glicolítica seja desviado para a produção de MGO através da fragmentação e eliminação de trioses fosfato, conhecidas como gliceraldeído-3-fosfato e fosfato de di-hidroxiacetona (RABBANI; THORNALLEY, 2015a). O cérebro gera níveis elevados de MGO por ser um órgão com alto fluxo glicolítico, e como consequência, sua concentração no líquido cefalorraquidiano é elevada. As concentrações de MGO no líquido cefalorraquidiano podem chegar a 10 μM (KUHLA et al., 2005) e as concentrações plasmáticas em humanos são de 0,1 a 1 μM , faixa de quantificação bem ampla devido as diversas dificuldades metodológicas utilizadas para a quantificação de MGO (BEISSWENGER et al., 2005, 1999). Em humanos a taxa de formação total de MGO estimada é de 3 mmol por dia (RABBANI; THORNALLEY, 2014). Em camundongos, as concentrações plasmáticas de MGO são da ordem de 0,1 a 0,5 μM (KALAPOUS, 2013), e no líquido cefalorraquidiano em torno de 5 μM (DISTLER et al., 2012a).

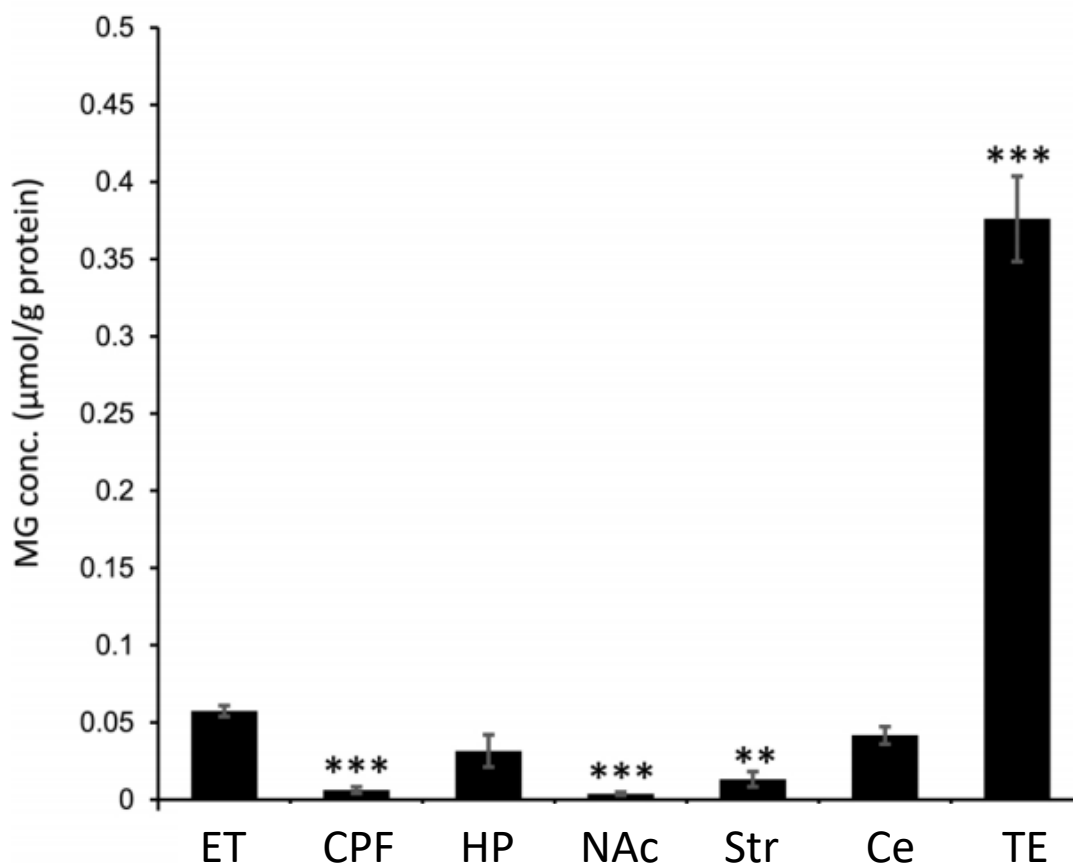
Figura 1: Fórmula estrutural do Metilglioxal. Nomenclatura IUPAC: 2-oxopropanol. Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28234328>, acessado em maio de 2019.



O recente trabalho de Koike e colaboradores caracterizou os níveis de MGO em diferentes regiões do encéfalo de uma linhagem de camundongos C57BL6/J (Fig. 2). Os autores mostraram diferenças significativas nas concentrações dependendo da área cerebral. No córtex pré-frontal (CPF) os valores variam de 0,002 a 0,006 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, no hipocampo (HP) apresentou valores de 0,010 a 0,032 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, no estriado os valores foram de 0,013 a 0,04 $\mu\text{mol/g}$. A estrutura encefálica que apresentou os maiores níveis foi o tronco encefálico, com valores variando de 0,028 a 0,376 $\mu\text{mol/g}$ de proteína. Os autores descrevem que estas diferenças significativas de MGO nas estruturas reflete diferenças fisiológicas do metabolismo glicolítico de cada região encefálica abrangida no estudo (KOIKE et al., 2019).

Ainda, os autores descreveram diferenças bem significativas, em relação à idade dos roedores, nas concentrações de MGO e das enzimas responsáveis pela sua eliminação do organismo. Em roedores jovens os valores de MGO variaram de 0,035 a 0,06 $\mu\text{mol/g}$ de proteína, em roedores velhos os valores variaram de 0,02 a 0,035 $\mu\text{mol/g}$ de proteína. E por fim, os pesquisadores apontam uma correlação positiva entre os níveis de glicoxalase 1 (Glo1), enzima que participa da detoxificação do MGO, e MGO nos roedores jovens, ou seja, se existe aumento nas concentrações de MGO, os níveis de expressão da Glo1 também aumentam. No grupo de roedores velhos, se houver o aumento das concentrações de MGO os níveis de expressão da Glo1 não se diferem do grupo de animais jovens (KOIKE et al., 2019).

Figura 2. Níveis de MGO em diferentes áreas encefálicas. As áreas do encéfalo estudadas foram o encéfalo total (ET), córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HP), núcleo accumbens (NAc), estriado (Str), cerebelo (CE) e tronco encefálico (TE) de camundongos C57BL6/J de 8 meses de idade. Todos os valores indicam média \pm erro padrão. **p < 0.01 e *** p < 0.001 significativamente diferente dos níveis da região do WB (teste *t* de Student) (adaptado de KOIKE et al., 2019).



O MGO pode se difundir através das membranas biológicas quando na forma livre. O tempo médio para o MGO reagir com uma molécula de água e sofrer hidratação é de 4 minutos, perdendo sua capacidade de difusão facilitada após essa reação (RABBANI; THORNALLEY, 2014). Em estudo *in situ* foi demonstrado que o tempo médio para a metabolização do MGO a *D*-lactato pelo sistema das glioxalase é de 10 minutos (RABBANI; THORNALLEY, 2015a). Ainda, autores demonstraram que o tempo aproximado para o MGO se ligar de forma irreversível a proteínas plasmáticas é de 3,6 h (RABBANI; THORNALLEY, 2015a). Dessa maneira, em condições normais, o sistema da glioxalase elimina a maior parte do MGO. Entretanto, devido ao efeito cumulativo, 90 – 99% do MGO intracelular está ligado a macromoléculas, sendo que os níveis totais de MGO (livre somado ao ligado a proteínas) podem chegar a concentrações maiores do que 300 μM (THORNALLEY, 1996a).

Afirma-se que grande parte dos efeitos deletérios do MGO são resultantes da sua rapidez em reagir com fosfolipídios, nucleotídeos e com resíduos de lisina e arginina de proteínas (THORNALLEY, 1996a), formando os produtos de glicação avançada (AGEs, do inglês, *advanced glycation endproducts*) (RABBANI; THORNALLEY, 2012). O

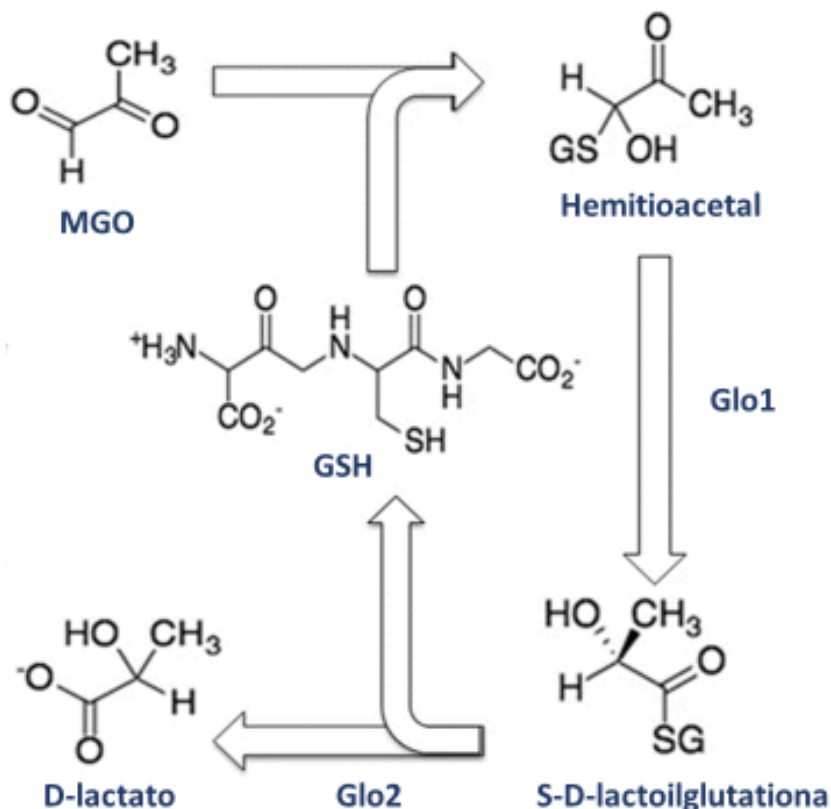
processo de formação dos AGEs é complexo e envolve múltiplas reações. Durante a reação clássica de Maillard, grupos carbonila eletrofilicos de açúcares redutores e seus metabólitos, como o MGO, reagem com grupamentos amino livres de aminoácidos (principalmente os resíduos básicos de lisina e arginina), formando as bases de Schiff que são bastante instáveis (PAUL; BAILEY, 1996). Rearranjos subsequentes dessas moléculas levam à formação de compostos mais estáveis chamados de produtos de Amadori (AHMED, 2005; PAUL; BAILEY, 1996). As bases de Schiff e os produtos de Amadori são produtos que podem sofrer reações reversíveis. Estes compostos também podem reagir com outros grupamentos amino de aminoácidos de proteínas, formando compostos estáveis e irreversíveis, os AGEs (AHMED, 2005; PAUL; BAILEY, 1996).

Proteínas glicadas são capazes de ativar os receptores para AGEs (RAGE, do inglês – *receptor for advanced glycation endproducts*) e subsequentemente, a via intracelular mediada pelo fator de transcrição nuclear kappa β , uma via pró-inflamatória de grande importância. As modificações ocasionadas por glicação em proteínas, formando os AGEs podem ativar os RAGE, assim como o acúmulo do peptídeo β -amilóide, eventos que favorecem a neuroinflamação. Segundo diversos autores, a neuroinflamação favorece o desenvolvimento e a progressão de processos neurodegenerativos (KIERDORF; FRITZ, 2013; VICENTE MIRANDA; OUTEIRO, 2010).

O estresse carbonila é caracterizado por um desequilíbrio na formação e eliminação de α -aldeídos, e tem sido associado com diversas doenças neurodegenerativas, incluindo PD e Doença de Alzheimer (AD) (RABBANI; THORNALLEY, 2015a). Diversas das proteínas associadas com as doenças neurodegenerativas têm um tempo de meia-vida longo, e desta forma constituem alvos preferenciais para a glicação. De forma interessante, diversas proteínas associadas com a PD e AD foram caracterizadas como alvos de glicação (EMENDATO et al., 2018a; VICENTE MIRANDA et al., 2017a).

Apesar de o MGO ser uma molécula bastante reativa, a sua interação com proteínas e ácidos nucleicos é controlada principalmente pelo sistema das glioxalases (Fig. 3), responsável por sua detoxificação (THORNALLEY; LANGBORG; MINHAS, 1999). A Glo1, e a glioxalase 2 (Glo2) são ubíquos em células de mamíferos. O MGO reage de forma espontânea com o grupamento tiol da glutathiona (GSH), formando hemitioacetil, o qual é metabolizado pela Glo1, formando S-D-lactoilglutathiona. Por sua vez, esta é hidrolisada pela Glo2, formando D-lactato. Então, a GSH que é consumida na reação catalisada pela Glo1 é regenerada a sua forma reduzida e liberada na reação catalisada pela Glo2 (THORNALLEY, 1996a).

Figura 3. Sistema das glioxalases. A via enzimática das glioxalase compreende as enzimas glioxalase 1 (Glo1) e glioxalase 2 (Glo2), responsáveis pela detoxificação do metilglioxal (MGO) dependente da glutaciona (GSH), formando D-lactato como produto final e regenerando GSH (adaptado de FRANSEN; NARAYANASAMY, 2017).



A Glo1 é expressa em maior quantidade na região do HP (CHEN et al., 2004) e é responsável por combater os efeitos citotóxicos do MGO, metabolizando-o em substâncias menos nocivas como D-lactato, por exemplo (THORNALLEY, 2003). O próprio MGO pode afetar a expressão da Glo1 e da Glo2, especialmente a Glo2, que tem seus níveis diminuídos após o tratamento de células hipocámpicas imortalizadas de camundongos (HT22) com MGO (DAFRE et al., 2015). Avaliação da atividade ou do imunoconteúdo de Glo1 de ratos Wistar e camundongos Swiss que receberam administrações i.c.v e i.p, respectivamente, de MGO também demonstram alterações do imunoconteúdo e aumento na atividade de Glo1 do HP (HANSEN et al., 2016a; SZCZEPANIK et al., 2020b).

A superfamília de enzimas conhecidas como aldoceto redutases (AKR, do inglês “Aldo-keto reductase”) são oxidoreduases dependentes de nicotinamida adenina dinucleótido de fosfato reduzido (NADPH), capazes de reduzir diversos aldeídos e

cetonas. Um dos aldeídos que estas enzimas são capazes de reduzir é o próprio MGO, gerando acetol e D-lactaldeído (BARKSI; TIPPARAJU; BHATNAGAR, 2008). Dentre as AKRs, as que fazem parte do grupo Akr1b (contemplando Akr1b3, Akr1b7 e Akr1b8) parecem ter atividade catalítica importante (PRATT-HYATT; LICKTEIG; KLAASSEN, 2013). Estudos *in vitro* com células de Schwann mostram que perda da atividade na Glo1 pode ser compensada, ao menos em parte pela Akr1b3. Neste caso, a Akr1b3 foi capaz de realizar a detoxificação do hemitioacetil (MORGENSTERN et al., 2017).

Evidências experimentais recentes têm associado a enzima DJ-1 (também conhecida como proteína 7 da doença de Parkinson “PARK7”) com a eliminação de MGO, o que pode estar relacionado com a sua atividade tipo-glioxalase (RICHARME et al., 2015a). Ainda, outros autores descrevem a atividade hidrolase de DJ-1 para manutenção das proteínas que sofreram glicação (MATSUDA et al., 2017). Por fim, alguns autores pontuam que a detoxificação do MGO pela DJ-1 seria uma estratégia plausível para a prevenção de doenças neurodegenerativas relacionadas com a agregação de proteínas, como na PD (MIHOUB; ABDALLAH; RICHARME, 2017; ZONDLER et al., 2014).

1.2 Metilglioxal, estresse dicarbonila e o sistema de defesas celulares antioxidantes

Alterações nos sistemas de detoxificação do MGO podem levar ao seu acúmulo nos tecidos, contribuindo para o estresse dicarbonílico, no qual o MGO é o principal agente (RABBANI; THORNALLEY, 2015a; RABBANI; XUE; THORNALLEY, 2016; THORNALLEY; LANGBORG; MINHAS, 1999). O estresse dicarbonílico é definido como um desequilíbrio na formação e metabolismo de compostos dicarbonílicos, tais como o MGO, o glioxal e a 3-desoxiglucosona (RABBANI; THORNALLEY, 2015a; RABBANI; XUE; THORNALLEY, 2016).

O grupamento químico tiol (ou sulfidril) (-SH) está presente em proteínas e em moléculas de baixo peso molecular como a cisteína, a GSH, e o ácido lipóico, por exemplo (POOLE, 2015). O grupo tiol é ionizável e após sofrer desprotonação dá origem ao ânion tiolato, que é a sua forma reativa (POOLE, 2015; WEERAPANA et al., 2010). O ânion tiolato pode reagir com moléculas eletrofílicas, espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio, levando a modificações pós-transducionais de proteínas, que podem alterar suas funções (POOLE, 2015). Os grupamentos tióis são fundamentais

nos processos de regulação redox nas células (POOLE, 2015; WEERAPANA et al., 2010).

A GSH é um dos principais tióis de baixo peso molecular e está presente de forma ubíqua nas células (FORMAN; ZHANG; RINNA, 2009; MASELLA et al., 2005; POOLE, 2015). A GSH é um tripeptídeo formado pelos aminoácidos cisteína, glutamato e glicina e está presente de forma abundante no citosol (2 - 10 mM), no núcleo e na mitocôndria (SHEN et al., 2005). A GSH tem papel fundamental na manutenção do equilíbrio redox celular, pois pode participar diretamente da eliminação de radicais livres por sua ação antioxidante, conjugar-se com compostos eletrofilicos ou participar das reações enzimáticas envolvidas na redução de peróxidos (CALABRESE; MORGAN; RIEMER, 2017).

A enzima glutathione S-transferase (GST) catalisa a conjugação de moléculas eletrofilicas com a GSH e a glutathione peroxidase (GPx) utiliza os equivalentes redutores da GSH para eliminar peróxidos (MAHER, 2005). O produto resultante da oxidação da GSH, a partir da reação catalisada pela GPx, é a glutathione dissulfeto ou oxidada (GSSG), que pode ser reduzida à GSH pela ação da enzima GR, em uma reação depende da presença de NADPH como doador de elétrons (COUTO; WOOD; BARBER, 2016; MAHER, 2005). Além disso, a relação GSH/GSSG controla o estado redox celular. Da mesma forma, a taxa de oxidação da tioredoxina (Trx) é um determinante importante para o estado redox celular (SCHAFER; BUETTNER, 2001).

O sistema da Trx é formado pela Trx, tioredoxina redutase (TrxR) e NADPH. Neste sistema, a Trx doa elétrons para diversas enzimas como peroxirredoxinas (Prx), ribonucleotídeo redutases e GPx (LU; HOLMGREN, 2012, 2014). No processo, a Trx se oxida e é novamente reduzida pela ação da TrxR, a qual utiliza elétrons vindos do NADPH para reduzir uma ponte dissulfeto intramolecular da Trx, regenerando sua atividade. Este sistema tem função de reduzir dissulfetos de proteínas e, juntamente com o sistema da GSH, tem papel essencial na manutenção do ambiente redox da célula. Além disso, da mesma forma que outras proteínas, ambas Trx e TrxR apresentam cisteínas reativas que são bastante sensíveis a oxidação (CHENG et al., 2011), podendo constituir possíveis alvos moleculares para reação com o MGO (DAFRE et al., 2015).

1.3 Envolvimento do metilglioxal com as doenças neurodegenerativas

Recentemente, o estresse por glicação no contexto das doenças neurodegenerativas tem sido um tópico de grande interesse na pesquisa científica. Diversos autores têm demonstrado que os efeitos da glicação de proteínas encontradas no cérebro são sempre mais danosos quando comparados aos danos em outros tecidos. Ainda, estudos recentes demonstram que agentes glicantes apresentam mais reatividade por certos tipos de neurônios (BÉLANGER et al., 2011).

Proteínas envolvidas com os processos de agregação da PD, como a α -sinucleína, têm sido apontados como uma das proteínas que sofre intensa glicação e formação de agregados desta proteínas, conhecidos como oligômeros (KÖNIG; VICENTE MIRANDA; OUTEIRO, 2018; VICENTE MIRANDA et al., 2017a). Diversos estudos em modelos animais, linhagens celulares e em análises de tecidos humanos descrevem a descontinuação da função fisiológica da α -sinucleína, a partir do evento de glicação, em razão dos níveis elevados de MGO (LEE et al., 2009; PADMARAJU et al., 2011; VICENTE MIRANDA et al., 2017a). Além desta, estudos *in vitro* demonstraram a capacidade do MGO em causar modificações pós-transducionais do peptídeo beta-amilóide ($A\beta$), especificamente das porções $A\beta$ 40 e $A\beta$ 42, contribuindo para a cascata de agregação e, ainda, favorecendo o rearranjo de oligômeros do $A\beta$, agregados proteicos característicos da fisiopatologia da ADs (EMENDATO et al., 2018).

O RAGE tem sido um dos receptores implicados nos processos de acumulação de $A\beta$ e formação dos emaranhados neurofibrilares. Ainda, os autores indicam que o RAGE pode ser capaz de regular o fluxo de $A\beta$ circulante da periferia para dentro do encéfalo, especialmente através alterações da barreira hematoencefálica (CAI et al., 2016; DEANE et al., 2012). Ademais, os neurônios dopaminérgicos da *substantia nigra pars compacta* (SNPc) de camundongos que receberam dietas ricas em glicose foram mais susceptíveis ao insulto por agentes glicantes. As proteínas modificadas pelo MGO foram mais predominantes nesta área cerebral (UCHIKI et al., 2012).

Uma das moléculas carbonílicas de produção endógena mais importantes é justamente o MGO. Estudos *in vitro* demonstram que o MGO foi capaz de diminuir ou até mesmo induzir uma depleção total dos níveis de GSH em uma variedade de tipos celulares, de forma que a diminuição dos níveis intracelulares de GSH ocorre de maneira

concentração-dependente (BRAUN et al., 1994; FUKUNAGA et al., 2004; KALAPOUS et al., 1991; SHINPO et al., 2000).

Em um trabalho de DAFRE et al., 2015 foi demonstrado que o MGO, em doses não citotóxicas, foi capaz de diminuir os níveis de Trx1 em células neuronais HT22. Por outro lado, doses subtóxicas podem induzir a síntese de TrxR1, provavelmente através da ativação do fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2). Entretanto, o MGO pode provocar a inibição da TrxR1, possivelmente por forte glicação (DAFRE et al., 2015). Em outro estudo, utilizando células endoteliais da aorta humana (OBA et al., 2012), os autores demonstraram que a exposição ao MGO 5 mM causou diminuição nos níveis de RNA mensageiro (RNAm) da Trx, assim como da Prx1, uma peroxidase dependente de Trx. Ainda, o tratamento de fatias do HP com 10 mM de MGO por 1 hora foi capaz de induzir um aumento dos níveis de GR, assim como, de sua atividade enzimática. Padrão semelhante de indução foi observado em células hipocâmpais imortalizadas HT22 tratadas com 0.75 mM de MGO por 30 minutos ou 0.3 mM de MGO por 2 horas e meia, onde o MGO também induziu um aumento nos níveis de expressão da GR (SCHMITZ et al., 2017).

Em indivíduos com a AD, por exemplo, os níveis de MGO no líquido cefalorraquidiano são até 2 vezes maiores (20 μ M) que em indivíduos saudáveis (KUHLA et al., 2005). Além disso, estudos demonstraram um aumento na concentração de MGO no sangue de indivíduos com diabetes. Em indivíduos com diabetes tipo 1 os níveis de MGO chegaram a ser 5-6 vezes maiores, e em indivíduos com diabetes tipo 2, 2-3 vezes maiores, em comparação com indivíduos saudáveis (MCLELLAN et al., 1994; THORNALLEY et al., 1989).

Além de seus efeitos no metabolismo, o MGO parece influenciar o comportamento, conforme demonstrado em estudos pré-clínicos. Alterações nas concentrações de MGO, ou na expressão ou atividade da Glo1 parecem estar relacionadas a alterações de cognição, memória, ansiedade e depressão (BENTON et al., 2012; WILLIAMS et al., 2009).

1.3.1 Efeitos comportamentais induzidos através da modulação de concentrações do MGO

Inicialmente a literatura científica tem reportado, por exemplo, que a administração de MGO tem efeito ansiolítico em ensaios com animais (DISTLER et al., 2012a). Neste sentido, o efeito ansiolítico de MGO parece depender de sua ação como agonista de receptor GABA_A, conforme caracterizado por Distler e colaboradores (DISTLER et al., 2012b). A partir de estudos eletrofisiológicos com neurônios primários, os autores mostraram a seletividade competitiva do MGO por receptores GABA_A, quando aplicado concomitantemente com um antagonista de receptor GABA_A (SR-9553). Além disso, o MGO atenua convulsões em modelos experimentais de epilepsia (DISTLER et al., 2013). Alguns estudos têm sugerido que o aumento dos níveis de MGO estão correlacionados com a diminuição da capacidade locomotora, ataxia e hipotermia em camundongos (DISTLER et al., 2013), bem como prejuízos cognitivos (HANSEN et al., 2016a).

Diversos estudos têm identificado uma associação positiva entre a expressão de enzima Glo1 e o comportamento ansioso (DISTLER; PALMER, 2012). Camundongos que sobreexpressam Glo1 têm um comportamento ansiogênico, enquanto a subexpressão induz à um efeito ansiolítico. Ainda, outras linhagens de camundongos mais ansiosas, apresentaram uma atividade aumentada de Glo1 (HOVATTA et al., 2005), em concordância com a ideia que o MGO induz um efeito ansiolítico. A administração de MGO intracerebroventricular (i.c.v.), ou na região da amígdala, induziu um efeito ansiolítico em testes de ansiedade, usualmente mostrado por um aumento no tempo de permanência na área central do campo aberto ou nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (HAMBSCHE et al., 2010a; HANSEN et al., 2016; MCMURRAY et al., 2016).

Diversos marcadores genéticos foram avaliados em linhagens de camundongos com diferentes perfis de ansiedade, incluindo as linhagens: BALB/cByJ, BUB/BnJ, C57BL/6J, C57BR/cdJ, CBA/J, MA/MyJ, P/J, PL/J, and SM/J, sendo que as enzimas GR e Glo1 foram as que melhor se correlacionaram com o perfil ansiolítico dos animais (HOVATTA et al., 2005). Ainda, os autores destacam uma correlação positiva entre níveis aumentados de Glo1 e o comportamento tipo-depressivo através do teste de suspensão pela cauda, ou seja, os animais com maior tempo de imobilidade apresentam níveis maiores imunoconteúdo de Glo1 (BENTON et al., 2012). Recentemente, o nosso grupo de pesquisa demonstrou que 4 horas após uma única administração de MGO, nas doses de 25 e 50 mg/kg, os camundongos Swiss apresentaram um comportamento tipo-

depressivo (SZCZEPANIK et al., 2020b). Ainda, este estudo utilizou teste de esconder esferas (TEE) e o campo aberto para investigar o efeito do MGO sobre os parâmetros comportamentais relacionados à ansiedade (SZCZEPANIK et al., 2020b).

Têm sido associado de forma positiva a expressão diminuída de Glo1, com um comportamento tipo-antidepressivo (BENTON et al., 2012; HAMBSCHE et al., 2010a). É importante ressaltar que a associação entre a expressão de Glo1 e os comportamentos relacionados a depressão têm recebido pouca atenção, quando comparados aos estudos relacionados a ansiedade. Uma das limitações de modelos animais com traço genético de alta ou baixa ansiedade são as diferenças basais nos níveis de atividade locomotora destas linhagens. Estas diferenças podem trazer um viés na interpretação dos dados sobre o teste do nado forçado, da suspensão pela cauda, e no campo aberto, as quais dependem essencialmente da atividade locomotora destes animais. Por exemplo, o tempo de imobilidade no teste do nado forçado é muito baixo em camundongos com maior comportamento ansioso (KRÖMER et al., 2005). Contudo, a atividade ambulatoria espontânea destes foi dez vezes maior na linhagem de camundongos menos ansiosos, o que pode explicar o "efeito antidepressivo" aparente apresentado no teste de suspensão pela cauda.

Em humanos, há correlação negativa entre a expressão da enzima Glo1 e a depressão, ou seja, quanto menores os níveis Glo1 maior foi a incidência dos sintomas de um indivíduo em estado depressivo. Este dado entra em contradição com alguns dos estudos com roedores, pois apontam efeitos opostos (BENTON et al., 2012a; PATKI et al., 2013; WU et al., 2018; YANG et al., 2013). Os níveis de RNAm de Glo1 estavam reduzidos nos leucócitos de pacientes diagnosticados com o transtorno depressivo e transtorno bipolar, retornando a níveis basais após a remissão dos sintomas (FUJIMOTO et al., 2008). No entanto, este estudo não estabeleceu se os níveis de proteína ou a atividade enzimática de Glo1, nem se os níveis de MGO estariam afetados.

Em modelos de depressão com camundongos, como a derrota social repetida (PATKI et al., 2013) e o estresse crônico imprevisível (YANG et al., 2013), a expressão de Glo1 está diminuída tanto no HP como no CPF. Portanto, estes dados demonstraram que o comportamento tipo-depressivo está associado a menor atividade Glo1, e possivelmente a maiores níveis de MGO, contrariamente aos estudos com animais citados anteriormente. Além destes, em um modelo de estresse crônico imprevisível, ratos apresentaram uma diminuição nos níveis de MGO, avaliado pela diminuição nos adutos de MGO derivado de hidroimidazolonas (MG-H1), e aumento na expressão de Glo1 no

CPF e HP. Os autores demonstraram um efeito tipo-antidepressivo induzido pela administração diária de MGO, que foi atribuído a um mecanismo fisiológico do MGO pelo domínio extracelular do receptor tropomiosina cinase B (TrkB) e ativação da via de neurotrofinas envolvendo o aumento do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (WU et al., 2018).

Considerando, os efeitos contraditórios do MGO sobre os parâmetros comportamentais relacionados à depressão (Tabela 1), bem como, os parâmetros de sinalização celular, dentre os quais as vias de neurotransmissão, sinalização redox no SNC, os quais ainda não foram caracterizados e explorados em modelos de estudo *in vivo*. Se torna de extrema importância o estudo sobre os potenciais alvos moleculares do MGO para a construção de uma base científica mais sólida sobre o tema, permitindo o estabelecimento de tratamentos mais eficientes para o tratamento da depressão.

Tabela 1. Efeitos comportamentais relacionados à depressão associados ao metabolismo do MGO.

| Efeitos | Análise | Animais/Modelo | Condição do comportamento tipo-depressivo | Autores |
|--|--|--|---|---|
| Parâmetro de imobilidade elevado no teste de suspensão pela cauda | Linhagem de camundongos com comportamento ansiogênico ou linhagem de camundongos com comportamento ansiolítico | Camundongos CD-1 | Elevado | Krömer et al. 2005 |
| Fenótipo tipo-antidepressivo e níveis diminuídos de expressão da Glo1 | Administração repetida com MGO no ventrículo direito (0,7 µmol/sítio por 6 dias) | Linhagem de camundongos CD-1 com comportamento ansiogênico | Diminuído | Hamsch et al. 2010a |
| Níveis elevados de RNAm para Glo1 | Análises de proteômica de camundongos com diversas alterações genéticas | Painel de diversas linhagens de camundongos cosanguíneos | Elevado | Benton et al. 2012 |
| Níveis diminuídos de expressão de Glo1 | Modelos de depressão: derrota social repetida e estresse crônico imprevisível | Ratos Sprague Dawley | Elevado | Yang et al. 2013 |
| Níveis diminuídos de expressão de Glo1 | Modelo de derrota social repetida | Ratos Sprague Dawley | Elevado | Patki et al. 2013 |
| Níveis elevados de AGEs | Nocaut para Glo1 | Camundongos C57BL6/N | Elevado | Jang et al. 2017 |
| Ativação extracelular de receptor TrkB aliviando o fenótipo tipo-depressivo induzido por modelo de estresse | Modelo de estresse crônico brando e administração de MGO (5 mM/kg/day por 3 semanas) | Ratos Sprague Dawley | Diminuído | Wu et al. 2018 |
| Indução de efeito tipo-depressivo | Administração aguda periférica (i.p.) de MGO (10 – 25 - 50 mg/kg) | Camundongos Swiss, C57BL/6 and BALB/C | Elevado | de Almeida et al. 2020 |
| Indução de efeito tipo-depressivo | Administração repetida de MGO por 7 ou 11 dias (10 - 50 mg/kg) | | Increased | Szczepanik et al. 2020a,b; de Almeida et al. 2020 |

*Glo1: glioxalase 1

MGO: metilglioxal

TrkB: receptor de tropomiosina cinase B

1.4 Aspectos etiológicos da depressão

A etiologia da depressão tem origem em uma complexa interação de fatores genéticos e ambientais. A expressão fenotípica desse transtorno inclui episódios frequentes de alteração de humor, perda de interesse e prazer, distúrbios na energia, sono e apetite, e déficits cognitivos (DSM-V, 2013), incluindo alterações cognitivas (falta de concentração, dificuldade na realização de atividades e formação do pensamento), motoras (fadiga), autonômicas (inquietação), e no ciclo sono/vigília (insônia, sono agitado) (SHALTIEL; CHEN; MANJI, 2007). Ainda, uma das características particulares mais difíceis de ser tratada nos indivíduos diagnosticados com depressão é a anedonia. E, muitas evidências clínicas apontam a incapacidade da terapêutica com antidepressivos de segunda geração, como os inibidores seletivos de recaptção de serotonina, em auxiliar na restituição da motivação, sensação de recompensa após atividade prazerosa, e nos déficits cognitivos desencadeados pela depressão (BELUJON; GRACE, 2017; MCCABE; COWEN; HARMER, 2009).

Estima-se que no Brasil, aproximadamente 54 milhões de pessoas desenvolverão depressão em algum momento de suas vidas. Destas, 7,5 milhões terão episódios agudos e graves, muitas com risco de suicídio (NARDI, 2000). A ocorrência de episódios suicidas é uma característica preocupante, e que impulsiona ainda mais o estudo deste transtorno, tornando-se uma das principais doenças geradores de custos socioeconômicos aos serviços de saúde e governos (BRANCHI et al., 2013; HUNTER et al., 2014; MATHERS; LONCAR, 2006).

Para o possível diagnóstico da depressão, a medicina clínica conta atualmente com o auxílio de manuais específicos de Saúde Mental, tais como o "Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais - 5ª edição" (DSM-V) e a "Classificação Internacional de Doenças" (CID-11). Estes manuais que servem como auxílio para o diagnóstico correto da depressão após a verificação de alguns sintomas, segundo critérios clínicos que se encontram também nesses documentos. Esses critérios de avaliação se encontram descritos na tabela 1.

Tabela 2. Sintomas dos transtornos depressivos, segundo o DSM-V.

-
- Humor deprimido na maior parte do tempo e todos os dias, indicado pelo indivíduo (sentimento de tristeza ou vazio) ou por indivíduos de sua convivência

- Diminuição marcante no interesse ou prazer em todas, ou quase todas, as atividades diárias, conhecido como anedonia (indicado pelo paciente ou por indivíduos de sua convivência)

-
- Perda ou ganho de peso de forma significativa ou falta de apetite
 - Insônia ou hipersônia todos os dias
 - Agitação ou retardo psicomotor
 - Fadiga ou falta de energia
 - Sentimento de inutilidade ou culpa
 - Diminuição na capacidade de concentração ou pensar ou de tomar decisões
 - Pensamento recorrente de morte ou idealização e tentativa de suicídio

*Para o diagnóstico da depressão em um paciente, ele deve apresentar no mínimo um dos sintomas descritos na parte superior da tabela e totalizar ao menos cinco sintomas por um período mínimo de duas semanas ([s.d.]).

Uma das hipóteses aceitas para descrever os mecanismos causais da depressão é a hipótese monoaminérgica. Esta é fundamentada em estudos que demonstram a existência de uma deficiência funcional ou quantitativa dos neurotransmissores noradrenalina (NA), dopamina (DA) ou serotonina, também conhecida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), (COPPEN; DOOGAN, 1988; MANN et al., 1996; WONG; LICINIO, 2001a). O comprometimento dos receptores deste e outros neurotransmissores podem estar relacionados à etiologia da depressão (COPPEN; DOOGAN, 1988; SCHILDKRAUT, 1965). Os neurotransmissores monoaminérgicos NA, adrenalina e DA são sintetizados a partir do aminoácido tirosina no terminal pré-sináptico, numa reação catalisada pela enzima TH, convertendo L-tirosina a 3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA). Este último é convertido a DA pela enzima DOPA descarboxilase. A DA, por sua vez, pode ser convertida a NA pela enzima dopamina- β -hidroxilase (KUHAR; COUCEYRO; LAMBERT, 1999). A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano, sendo este convertido no terminal pré-sináptico a 5-hidroxitriptofano pela enzima triptofano hidroxilase. Este, por sua vez, pode ser convertido a serotonina pela enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilase (FULLER, 1980).

A hipótese monoaminérgica se sustenta, em parte, na observação de que os sintomas depressivos melhoram em pacientes que fazem uso crônico de fármacos antidepressivos que atuam aumentando a disponibilidade de monoaminas na fenda sináptica, tais como os antidepressivos tricíclicos, inibidores da enzima monoamina oxidase, inibidores de recaptação de serotonina ou noradrenalina ou dopamina (CRYAN;

MARKOU; LUCKI, 2002; ORDWAY et al., 1999; ROSSI; BARRACO; DONDA, 2004). Entretanto, esta teoria apresenta algumas limitações. Por exemplo, a maior parte dos antidepressivos aumentam os níveis de monoaminas rapidamente, embora seus efeitos clínicos só sejam observados 3-4 semanas após o início do tratamento (BOKU et al., 2018; RACAGNI; POPOLI, 2008). Além disso, alguns agentes com propriedade antidepressiva não agem sobre o sistema monoaminérgico, como por exemplo a cetamina (SERAFINI et al., 2014). Outra importante limitação é que nem toda droga que aumenta as monoaminas na fenda sináptica apresenta efeito antidepressivo, como por exemplo, a cocaína e anfetaminas (ELHWUEGI, 2004; HASLER, 2010a).

A partir das limitações da hipótese monoaminérgica da depressão, diversos autores começaram a descrever alterações nos níveis de diversas outras moléculas neurotransmissoras e neuromoduladoras como fatores etiológicos no desenvolvimento da depressão. Existem evidências desde 1980 mostrando que uma diminuição na neurotransmissão GABAérgica está relacionada ao desenvolvimento da depressão (GOLD et al., 1980; PEHRSON; SANCHEZ, 2015). Esta teoria prevê que, se o desenvolvimento da depressão está intimamente relacionado a uma diminuição da atividade GABAérgica, então o uso de fármacos que potencializam esta transmissão, pode melhorar os sintomas dos pacientes depressivos.

De fato, vários estudos demonstraram aumentos nas concentrações de GABA no córtex occipital, quando comparado com as concentrações basais dos próprios pacientes depressivos em pacientes tratados com antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de 5-HT, como fluoxetina e citalopram, bem como, o antagonista de receptores α 2-adrenérgico ioimbina, e também através de eletroconvulsoterapia (SANACORA et al., 2002, 2003). A administração aguda ou repetida de fluoxetina em roedores foi capaz de elevar as concentrações de GABA no líquido cefalorraquidiano (GÖREN et al., 2007). Além disso, a utilização de benzodiazepínicos, como o alprazolam, é capaz de reduzir os sintomas da depressão quando comparado ao grupo de indivíduos placebo (BIRKENHÄGER; MOLEMAN; NOLEN, 1995).

Muitos avanços no tratamento da depressão tem ocorrido, mas podemos considerar que a maior parte das prescrições médicas ainda se concentram nos inibidores de recaptação de 5-HT como primeira escolha para o tratamentos dos sintomas depressivos (fluoxetina, citalopram, paroxetina) (HILLHOUSE; PORTER, 2015) Além destes fármacos citados, outros inibidores têm sido amplamente utilizados ao longo dos anos. Dentre eles inibidores da enzima monamina oxidase (iMAO) (iproniazida e fenelzina) ou

farmacos que são capazes de aumentar a disponibilidade de dopamina e noradrenalina na fenda sináptica, como exemplo a bupropiona (MARKS; PAE; PATKAR, 2008; WILLNER; SCHEEL-KRÜGER; BELZUNG, 2013).

Muito embora o uso destes medicamentos seja bem aceito clinicamente, há várias limitações, como por exemplo a demora no aparecimento do efeito terapêutico, uma vez que a melhora dos sintomas característicos da depressão é muitas vezes visível apenas após 4 semanas de tratamento (BOKU et al., 2018; NEMEROFF, 2007). Outra limitação consiste na limitada eficácia terapêutica de somente cerca de 50 a 60% dos pacientes respondem de maneira positiva ao tratamento com antidepressivos clássicos, como a fluoxetina e a bupropiona (CIPRIANI et al., 2009; VÖHRINGER; GHAEMI, 2011). Além destes fatores, os tratamentos farmacológicos podem causar efeitos negativos com prejuízos cognitivos e impotência (SAYYAH et al., 2016).

A fluoxetina foi um composto aprovado pela agência federal de administração de alimentos e drogas dos Estados Unidos da América, conhecida como FDA (do inglês, Food and Drug Administration) em 1987 e lançado no mercado farmacêutico em 1988, conhecido como Prozac®. Este foi o primeiro fármaco do grupo de antidepressivos denominados inibidores seletivos de recaptação de serotonina (HILLHOUSE; PORTER, 2015). Inicialmente, foi relatado que o seu mecanismo de ação seria sob as proteínas de transporte responsáveis pela recaptação de 5-HT, os quais estão presentes na membrana pré-sináptica dos neurônios serotoninérgicos (SOHEL; SHUTTER; MOLLA, 2020).

Outro composto farmacológico que tem uso expressivo no âmbito clínico é a bupropiona. Este fármaco foi apresentado pela indústria farmacêutica em 1989, nos Estados Unidos da América, sendo descrito como um antidepressivo “atípico”, em razão dos efeitos indefinidos na homeostase dos neurotransmissores, diferentemente dos antidepressivos tricíclicos, dos inibidores da monoaminas oxidase e dos inibidores de recaptação de serotonina (STAHL et al., 2004).

Embora todos os aspectos etiológicos da depressão envolvam a modulação direta de neurotransmissores, outros fatores também têm sido apontados como etiológicos nesta patologia. Recentemente, alguns estudos com pacientes depressivos e em modelos animais têm reportado reduções nos níveis de fatores de crescimento, como por exemplo, o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), originando assim a hipótese neurotrófica da depressão. Nesta hipótese, a diminuição de BDNF apresenta papel etiológico na fisiopatologia da depressão. O restabelecimento de seus níveis seria um fator crítico para a eficácia de antidepressivos (GROVES, 2007). Diversos estudos com

pacientes depressivos demonstram diminuição dos níveis de BDNF e do seu receptor TrkB no CPF, HP, plasma e soro (KAREGE et al., 2005; LEE et al., 2007; RAY; SHANNON WEICKERT; WEBSTER, 2014). Ainda, há uma redução nos níveis de BDNF em diversas estruturas encefálicas em modelos animais utilizando protocolos de estresse crônico (GROVES, 2007; MURAKAMI et al., 2005).

Digno de nota, a indução de fatores tróficos, e seus efeitos na plasticidade cerebral, ocorrem após o tratamento crônico com os antidepressivos que modulam as monoaminas. A dependência de fatores neurotróficos poderia justificar a necessidade de 3-4 semanas após do início do tratamento para a remissão dos sintomas depressivos. De fato, a redução nos níveis de BDNF, além de alterações na funcionalidade de seu receptor, podem ser revertidos após o tratamento crônico com antidepressivos clássicos, tanto em modelos animais (BALU et al., 2008; CHEN et al., 2001), quanto em humanos (SHIMIZU et al., 2003).

Desde que os fatores de crescimento foram associados a sobrevivência, maturação, proliferação e diferenciação neuronal, uma significativa atrofia do HP cerebral de indivíduos depressivos está sendo amplamente associada a uma redução de fatores de crescimento, como o BDNF (DUMAN, 2004, 2005; MCEWEN, 2000). De fato, diversas alterações estruturais e funcionais nas regiões corticais e límbicas também são sendo demonstradas em pacientes depressivos (HASLER, 2010b).

Estudos sugerem que o dano oxidativo e a inflamação são importantes mecanismos envolvidos na fisiopatologia da depressão. Na depressão, a oxidação de moléculas lipídicas pode ocorrer em razão da ativação da resposta imune, seguida da indução de mediadores pró-inflamatórios como o fator de necrose tumoral alfa, interleucina 1 β e interleucina-6 (IL-6) (MILLER; RAISON, 2016; PENNINX et al., 2003). Rawdin e colaboradores (RAWDIN et al., 2013) mostram uma relação positiva entre níveis aumentados de IL-6 e o isoprostano-F2 plasmáticos ou na urina de indivíduos depressivos. Estudos realizados com pacientes depressivos demonstram que os níveis de produtos finais da peroxidação lipídica, para além do isoprotano-F2, tais como 4-hidroxinonal e malondialdeído, encontram-se elevados no plasma e em eritrócitos (BILICI et al., 2001; PEET et al., 1998; SARANDOL et al., 2007; SELLEY, 2004).

Indivíduos depressivos possuem alterações nos sistemas de defesas antioxidantes celulares, aumento nos níveis de peróxidos e também alterações nas respostas autoimunes, geradas em razão da peroxidação lipídica de ácidos graxos e proteínas de membrana (MAES et al., 2008, 2010). Mulheres diagnosticadas com depressão

apresentam concentrações diminuídas de GSH no soro, assim como, diminuição na atividade de glutathione peroxidase (GPx) e aumento na atividade de GR (KODYDKOVÁ et al., 2009). Em uma meta-análise utilizando estudos com pacientes deprimidos, os episódios depressivos foram amplamente associados a um aumento nos níveis de peróxidos no soro (LIU et al., 2015), da atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase no plasma e em eritrócitos (GAŁECKI et al., 2009; SARANDOL et al., 2007), bem como uma diminuição da atividade da GPx nos eritrócitos (OZCAN et al., 2004). Além disso, o tratamento com antioxidantes exerce efeito antidepressivo em modelos clínicos e pré-clínicos e, a modulação das defesas antioxidantes parece ser um importante alvo terapêutico para o tratamento com antidepressivos (Rosa et al., 2013).

1.5 Glicação na depressão

Dentre as diversas doenças metabólicas da atualidade que afetam o ser humano, a Diabetes tem grande taxa de prevalência. Os hábitos alimentares, que acompanham os padrões de vida moderna, estão associados a um crescimento progressivo do consumo de açúcar favorecendo a produção e/ou acúmulo de MGO. Estimativas realizadas pela World Cancer Research Fund (WCRF, 2015), indicam que o consumo bruto de açúcares é de aproximadamente 178 milhões de toneladas e, estimando que somos 7 bilhões de humanos no globo terrestre, em média o consumo é de 25 kg de açúcar por pessoa todos os anos. As estimativas de calorias derivadas da adição de açúcares na alimentação diária são cada vez maiores. Autores estimam que chegam a ser de 14% da ingestão calórica, equivalendo a 18 colheres de chá de açúcar por dia (STEELE et al., 2016). Quando mencionamos o consumo de alimentos industrializados, aqueles que contém o acréscimo de adoçantes, como exemplo de hambúrgueres e produtos prontos para o consumo, as estimativas seriam de que 75% do conteúdo destes produtos seriam destes açúcares (NG; SLINING; POPKIN, 2012).

Em 2010, 6,4% da população mundial já era acometida pela diabetes e, projeções indicam que esta taxa alcançaria cerca de 7,7% em 2030 (PETRAK et al., 2010). Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, do inglês – *World Health Organization*), 422 milhões de indivíduos convivem com a diabetes, e as organizações públicas continuam a declarar aumento no número de pessoas sendo diagnosticadas com diabetes (WHO 2020). De forma preocupante, a incidência de depressão nos indivíduos pré-diabéticos ou

diagnosticados com diabetes é consideravelmente maior do que na população normal (ALI et al., 2006; CHEN et al., 2016; LUSTMAN et al., 2000b).

Diversos são os estudos epidemiológicos nos quais a ligação entre o açúcar e a depressão são explorados, a partir dos hábitos alimentares e desfechos fisiológicos nos indivíduos. A iniciativa para saúde da mulher avaliou o consumo de açúcar diário de 69.954 mulheres norte americanas, de 40 centros clínicos de 25 estados norte-americanos, por um período de 3 anos. O grupo de mulheres que consumia cerca de 79,2 g de açúcar diariamente demonstrou ter 23% de chance a mais de desenvolver depressão (GANGWISCH et al., 2015). Um estudo subsequente, com 15.546 estudantes de graduação na Espanha, os quais foram avaliados por 10 anos, demonstrou maior prevalência de depressão entre os estudantes que consumiam mais açúcar (SANCHEZ-VILLEGAS et al., 2018). Outro estudo observacional com 23.245 indivíduos, conduzido na Inglaterra, relatou um incremento de 23% na incidência de depressão em pessoas que consumiam alimentos industrializados e bebidas adoçadas (KNÜPPEL et al., 2017).

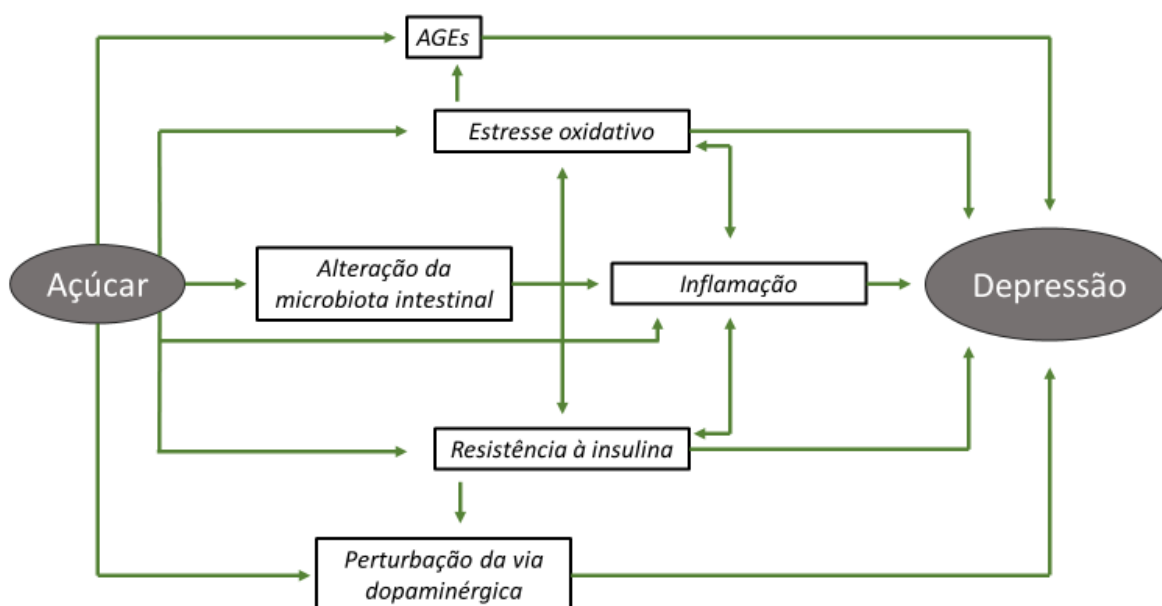
Mais além, estudos pré-clínicos também sugerem que o consumo de dietas ricas em açúcar elicitam comportamento tipo-depressivo em ratos. Em uma análise comparativa, ratos que têm livre acesso a ração com elevado nível de sacarose por dois dias da semana, em um protocolo de sete semanas, apresentaram comportamentos tipo-depressivo e características anedônicas, analisada através do teste de preferência por sacarose (IEMOLO et al., 2012). De maneira similar, ratos que receberam água com adição de açúcar por 9 semanas demonstraram aumento no comportamento tipo-depressivo no teste do nado forçado (LEMOS et al., 2016). Um alto consumo de açúcar em ratos adolescentes, induz o comportamento tipo-depressivo, características de anedonia, e alterações nos sistemas neuronais relacionados à motivação e recompensa na vida adulta (HARRELL et al., 2015; VENDRUSCOLO et al., 2010).

Muito embora as evidências demonstradas nos estudos citados acima não são completamente claras, em relação ao mecanismo fisiológico, a contribuição causal do consumo elevado de açúcares com o desenvolvimento da depressão é bastante forte (JACQUES et al., 2019; KNÜPPEL et al., 2017; SOUSA et al., 2020). É importante ressaltar que os diversos efeitos depressogênicos exibidos, a partir do consumo excessivo de açúcar, estão fortemente relacionados com as características descritas na literatura para a depressão (Fig. 4), sendo as características: inflamação sistêmica (DOWLATI et al., 2010; HOWREN; LAMKIN; SULS, 2009), alteração da microbiota intestinal (PAYNE; CHASSARD; LACROIX, 2012), perturbação da via de recompensa dopaminérgica

(AHMED et al., 2014; LEVY et al., 2015), resistência à insulina (FORD et al., 2015; KAN et al., 2013), e dano oxidativo (CASTRO et al., 2015; KOVAČEVIĆ et al., 2017).

Historicamente, o MGO é associado com condições patológicas de hiperglicemia, uma vez que níveis de MGO aumentam em condições nas quais os níveis de glicose e via glicolítica estão elevados, como no caso da diabetes (BROWNLEE, 2001; OROSZ; OLÁH; OVÁDI, 2009; YAN; YAN, 2014). O aumento na formação de AGEs, em razão do aumento nas concentrações de compostos dicarbonílicos no organismo, têm sido correlacionado com a depressão. Dooren e colaboradores (2017), coletaram amostras de pele de 862 indivíduos adultos na Holanda, e identificaram um risco de 42% a mais no desenvolvimento do transtorno depressivo nos indivíduos que apresentaram níveis elevados de AGEs no tecido epitelial (VAN DOOREN et al., 2017). Apesar de este estudo de Maastricht ser a única investigação científica realizada em larga escala sobre os efeitos depressogênico dos AGEs, indivíduos diagnosticados com o transtorno depressivo apresentam concentrações menores do receptor solúvel de AGEs (sRAGE), os quais são capazes de neutralizar a ação dos AGEs, impedindo a fosforilação de cinases extracelulares, assim como, a ativação dos RAGE presentes nas células endoteliais e nas células mesangiais (CHEN et al., 2012; EMANUELE et al., 2011). Já em roedores que não apresentam o RAGE funcional não ocorreu a indução do comportamento tipo-depressivo em razão do protocolo de estresse crônico (FRANKLIN et al., 2018).

Figura 4. Eventos fisiopatológicos comuns entre o açúcar e a depressão. Em indivíduos que realizam alto consumo de açúcar pode ocorrer a instauração de diversas alterações fisiológicas que quando persistentes facilitam a instauração do transtorno depressivo (adaptado de REIS et al., 2020).



1.6 Vias de neurotransmissão envolvidas com a toxicidade do metilglioal

Como mencionado anteriormente, distúrbios nos processos de síntese ou detoxificação do MGO podem desencadear o estresse dicarbonílico, elevando as concentrações de AGEs no fluido cerebrospinal. Estas espécies tóxicas, derivadas do MGO, estão associadas a mecanismos de perda da homeostase em diversas doenças neurodegenerativas, como a AD, PD, depressão, demência e até mesmo nos transtornos psiquiátricos (ALLAMAN; BÉLANGER; MAGISTRETTI, 2015; ANGELONI; ZAMBONIN; HRELIA, 2014; MIRANDA; OUTEIRO, 2010; WU et al., 2018). E, considerando a necessidade energética do cérebro para a manutenção da atividade das células neurais e, que o metabolismo da glicose seria a principal molécula energética consumida por este sistema, torna-se crucial considerar as possíveis reações químicas que podem ocorrer entre o MGO e os substratos presentes nestes tipos celulares (MINK; BLUMENSCHINE; ADAMS, 1981; RABBANI; THORNALLEY, 2015a).

Importante salientar a capacidade do MGO em reagir com a DA e 5-HT, dois dos neurotransmissores mais importantes, desencadeando a formação de algumas neurotoxinas, assim como, danos as diversas proteínas destes sistemas de neurotransmissão (COLLINS; NEAFSEY, 2002; DENG et al., 2012; HIPKISS, 2017; NEMET; VARGA-DEFTERDAROVIC, 2007; SHARMA; RAO; KALIVENDI, 2019a; XIE et al., 2015). A dopamina está fortemente relacionada com a recompensa e o estímulo à motivação, características clínicas que são descritas em indivíduos diagnosticados com depressão (SHERDELL; WAUGH; GOTLIB, 2012; TREADWAY; ZALD, 2011). Alterações no sistema dopaminérgico mesolímbico são aparentes em modelos animais de depressão, como no modelo de desamparo aprendido e de estresse crônico brando (M et al., 1997; ML et al., 2002).

Estas alterações levam a uma menor liberação de dopamina na região do estriado (JC et al., 2004). Em um estudo em particular, os fenótipos característicos do protocolo de estresse crônico são revertidos pela ativação seletiva de neurônios dopaminérgicos do sistema mesolímbico. Os autores realizaram a inibição específica de neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral, que está relacionada com o circuito de recompensa do cérebro, levando a comportamentos tipo-depressivos (TYE et al., 2013). Ainda, análises tomográficas por emissão de pósitrons demonstraram níveis diminuídos

do transportador de dopamina em indivíduos com depressão, quando comparados com indivíduos saudáveis (M et al., 2006; MEYER et al., 2001).

1.6.1 Envolvimento da DARPP-32, uma fosfoproteína regulada por cAMP e dopamina, com as vias de neurotransmissão

A fosfoproteína de 32 kDa regulada por cAMP e dopamina (DARPP-32), é conhecida como uma das proteínas integradoras da neurotransmissão (SVENNINGSSON et al., 2004), com importante papel na regulação da transmissão dopaminérgica central e periférica (REIS et al., 2007). A DARPP-32 é capaz de influenciar a atividade de diversos receptores de neurotransmissores, canais de iônicos e fatores de transcrição (YAMADA et al., 2016). Diversos autores também descrevem a DARPP-32 como uma proteína capaz de participar de respostas dinâmicas no organismo, a partir da ativação de neurotransmissão glutamatérgica (QI; MILLER; VOIT, 2010).

Em humanos, a distribuição cerebral do RNAm de DARPP-32 apresenta níveis elevados no núcleo caudado, putâmen, núcleo accumbens, plexo coróide, e níveis baixos no córtex cerebral, região CA1 e CA3 do HP, amígdala e células de Purkinje (BRENE et al., 1994). Muito embora a caracterização inicial da expressão de DARPP-32 em ratos tenha sido descrita em áreas com abundante inervação dopaminérgica (estriado, tubérculo olfatório, núcleo amilóide) (OUIMET et al., 1984), diversos estudos mostraram altos níveis de expressão em outras áreas cerebrais, como o neocórtex, e a camada VI dos neurônios corticostriados (OUIMET, 1991; OUIMET et al., 1984).

No CPF a sinalização dopaminérgica recebe projeções da área ventral tegumentar, apresentando importante envolvimento com a memória de trabalho e tarefas relacionadas a atenção (GOLDMAN-RAKIC; MULY; WILLIAMS, 2000). Desta maneira, é vital mencionarmos a ocorrência dos receptores dopaminérgicos D₁ e D₂ no CPF de ratos, na camada VI e V, respectivamente (GASPAR; BLOCH; MOINE, 1995). Hotte e colaboradores, associaram os efeitos positivos da utilização de um agonista de receptor dopaminérgico D₁ (SKF 81297) nos parâmetros de memória de ratos, o que levou a um aumento na fosforilação de um resíduo de treonina 34 (Thr34) da DARPP-32 no CPF. O uso de um antagonista do receptor D₁ (SCH 23390) foi capaz de diminuir os escores de performance à memória e a fosforilação da Thr34 (HOTTE et al., 2006). Em um estudo com 72 amostras cerebrais *post-mortem*, os níveis de RNAm de DARPP-32 no CPF aumentam com o envelhecimento (COLANTUONI et al., 2008).

Em modelos parkisonianos *in vivo* com neurônios da região nigroestriatal lesionados, por infusão intranigral de 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) ou administração periférica de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), estes resultados demonstram uma independência nos níveis de DARPP-32 na região do estriado. Demonstrando que os déficits de inervação DA estriatal, induzidos pelas neurotoxinas 6-OHDA e MPTP, não induziram alterações nos níveis de expressão da DARPP-32 (RAISMAN-VOZARI et al., 1990). Além deste, em um estudo *in vivo* e com culturas primárias de neurônios, obtidas da prole de roedores no período gestacional até a vida adulta (roedores com 4 ou 5 meses de vida), os pesquisadores descreveram que os níveis de expressão da DARPP-32 na região do putâmen caudado, também não sofreram influência da diminuição da inervação DA na SPNc, avaliada a partir dos níveis de expressão da TH (EHRLICH et al., 1990).

Um estudo recente evidenciou elevados níveis de RNAm de DARPP-32 na área dorsolateral do CPF de indivíduos diagnosticados com o transtorno depressivo (KUNII et al., 2014). O tratamento agudo de camundongos com eticloprido, antagonista seletivo de receptores dopaminérgicos D₂, nas doses de 0,5 e 2,0 mg/kg, antagonista de receptores D₂, induziu um incremento na fosforilação da Thr34 da DARPP-32 (SVENNINGSSON et al., 2000). A administração aguda de fluoxetina, nas doses de 5, 10 e 20 mg/kg, também foi capaz de induzir fosforilação da Thr34, além de diminuição na fosforilação do sítio Thr75, conforme estudado nas regiões cerebrais CPF, estriado e HP (SVENNINGSSON et al., 2002a). Ademais, em um protocolo de estimulação eletroconvulsiva crônica, método clínico amplamente utilizado para o tratamento do transtorno depressivo, os autores também descreveram aumento nos níveis de DARPP-32 no estriado e no HP de ratos (ROSA et al., 2007).

A proteína cinase (PKA) é uma das proteínas capazes de induzir fosforilação da DARPP-32 através da ativação de receptores D₁. A ativação destes receptores está extensamente associada aos efeitos benéficos de diversos antidepressivos (FLEISCHHACKER et al., 1992; HOROWSKI; SASTRE-Y-HERNANDEZ, 1985). A fosforilação da Thr34 da DARPP-32 pela PKA converte esta em uma potente inibidora da proteína fosfatase-1 (PP-1) (SVENNINGSSON et al., 2004). Ademais, a ativação dos receptores D₁ também causam a desfosforilação do sítio Thr75 da DARPP-32, o que é mediado pela proteína cinase dependente de ciclina 5 (Cdk5). Além disto, a desfosforilação da proteína fosfatase 2 (PP2A) também foi observada, o que pode ocasionar uma diminuição na inibição de PKA (BIBB et al., 1999), facilitando a

transmissão pela via PKA/Thr34-DARPP-32/PP-1 (SVENNINGSSON et al., 2002b). Esta via de sinalização pode ser inibida através da ativação de receptores D₂, que causam inibição de PKA e estimulação de Ca²⁺/proteína fosfatase 2B (PP-2B), induzindo uma desfosforilação do sítio Thr34 da DARPP-32 (LINDSKOG et al., 1999).

Para além destas vias de sinalização descritas acima, o nível de fosforilação do sítio Thr34 da DARPP-32 têm regulação pelos resíduos, Ser102 e Ser137, os quais podem ser fosforilados pela proteína caseína cinase 2 (CK2) e proteína caseína cinase 1 (CK1), respectivamente (SVENNINGSSON et al., 2002a). A ativação *in vitro* e *in vivo* de receptores serotoninérgicos (5HT-4 e 5HT-6) parecem levar a um aumento na fosforilação do sítio Thr34 e na diminuição da fosforilação do sítio Thr75 da DARPP-32. O receptor 5HT-2 poderia induzir um incremento na fosforilação da serina 130 (Ser130) (SVENNINGSSON et al., 2002b). Os autores ainda descreveram que efeitos similares foram observados após a administração aguda ou crônica de fluoxetina (SVENNINGSSON et al., 2002a).

Esta ação dinâmica consistiria na fosforilação do sítio Thr75 da DARPP-32, de PKA e da proteína fosfatase 2 (PP2A), induzindo depressão de longa duração (LTD, do inglês – long-term depression) ou potenciação de longa duração (LTP, do inglês – long-term potentiation) em neurônio da região corticoestriatal (NAKANO et al., 2010). A DARPP-32 é considerada responsável pela regulação de diversos canais iônicos nos neurônios estriatais, incluindo os receptores de glutamato AMPA e NMDA e canais de sódio e cálcio (SVENNINGSSON et al., 2004).

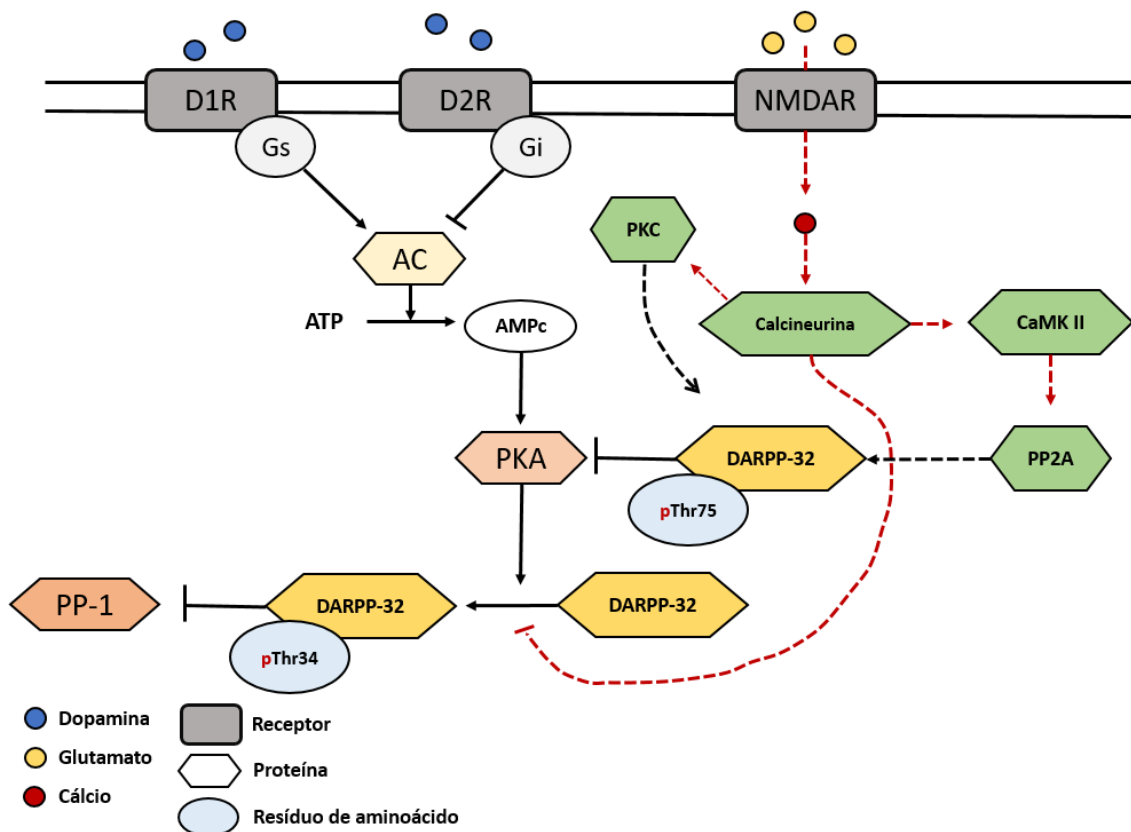
Em virtude desta habilidade singular que a DARPP-32 exerce em modular a atividade da PKA e da PP-1 (Fig. 5), ela também participa da regulação eletrofisiológica, transcricional, e de respostas comportamentais (REIS et al., 2007). Portanto, os níveis de fosforilação dos sítios Thr75 e Thr34 da DARPP-32 se tornam um importante alvo de estudos dos mecanismos molecular associados a modulação de sua atividade (BIBB et al., 1999; SVENNINGSSON et al., 2004).

Torna-se importante mencionar que no momento de seu descobrimento a DARPP-32 foi considerada um substrato da PKA nas áreas cerebrais enriquecidas em neurônios dopaminérgicos (YGER; GIRAULT, 2011). E quando a PKA está ativada, o aumento nos níveis de cAMP fortalecerá a ativação de outras fosforilase cinases, influenciando diretamente na ação de neurotransmissores do SNC (GREENGARD; ALLEN; NAIRN, 1999; NESTLER; GREENGARD, 1983). São diversos os modelos computacionais que caracterizaram a complexidade da fosforilação destes sítios de treonina e serina da

DARPP-32, mencionados anteriormente, na tentativa de tornar claro quais seriam os efeitos resultantes nos níveis de DA e glutamato, ou ainda, de cAMP e cálcio (FERNANDEZ et al., 2006; LE NOVÈRE; LI; GIRAULT, 2008; LINDSKOG et al., 2006; NAKANO et al., 2010).

Portanto, a fosforilação dos sítios de DARPP-32 e seus efeitos em cinases e em fosfatases compõe um complexo conjunto de mecanismos de feedback positivo e negativo que envolve diversos neurotransmissores. E, se torna de extrema importância considerar o envolvimento de outros sistemas de regulação da atividade neuronal quando enfatizamos os mecanismos pelos quais a DARPP-32 regula as vias de sinalização para a neurotransmissão e qual seria o seu envolvimento com as doenças neurodegenerativas.

Figura 5. Vias de sinalização implicadas no controle de fosforilação dos resíduos da DARPP-32. A ativação de receptores dopaminérgicos D1 (DIR) (linha contínua) induz aumento na atividade de adenilato ciclase (AC), elevando as concentrações de AMPc e ativando a proteína cinase A (PKA), induzindo a fosforilação do resíduo Thr34 de DARPP-32. A fosforilação de Thr34 na DARPP-32 possibilita a inibição da proteína fosfatase 1 (PP-1). Quando ocorre a ativação de receptores ionotrópicos de glutamato (NMDAR) (linha tracejada), a abertura destes canais permitem o influxo de cálcio para o meio intracelular, ativando a calcineurina e seus alvos *downstream*, podendo impedir a fosforilação de Thr34 e, em uma ação dinâmica ocorre a ativação da calmodulina cinase II (CaMK II), proteína fosfatase 2A (PP2A) e proteína cinase C (PKC) induzindo fosforilação do resíduo Thr75, inibindo a atividade da PKA gerando um mecanismo antagônico que permite a continuidade da atividade da PP-1. *Legenda representando as diferenças moleculares se encontra no canto esquerdo inferior* (adaptado de SCHEGGI et al., 2018).



1.6.2 Capacidade do metilgloxal de reagir com aminas biogênicas

Alguns estudos têm demonstrado a capacidade do MGO e do glicoxal de reagir com algumas das monoaminas, como exemplo, 5-HT e DA. Nemet e colaboradores (2007) descreveram a capacidade do MGO em reagir com triptofano, ésteres de triptofano e triptamina, resultando na formação de β -carbonilas. Análises *in vitro* por cromatografia líquida seguida de análise em espectrômetro de massa caracterizaram a formação de três produtos de reação entre 5-hidroxitriptamina (5-HT) e MGO (SAI SACHIN et al., 2018). Deng e colaboradores (2012) descreveram em pacientes com PD o acúmulo de 1-acetil-6, 7-dihidroxi-1, 2, 3, 4-tetrahidrosiquinolona (ADTIQ), uma neurotoxina formada a partir da reação de DA com acetoaldeídos, como o MGO (DENG et al., 2012).

Protocolos *in vitro* demonstraram a toxicidade do MGO em células de neuroblastoma SH-SY5Y. O tratamento desta linhagem celular com MGO induziu aumento nos níveis de dopamina, aumento da expressão da tirosina hidroxilase (TH) e do transportador de dopamina, assim como, a caracterização de uma reação direta entre o MGO e a dopamina formando o produto 1-metil-4-fenil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolona (salsolinol) (XIE et al., 2014).

Sharma e colaboradores (2019) demonstraram que a administração de MGO (340 mM) na região da SNPc de camundongos foi capaz de reduzir o número de neurônios dopaminérgicos. Esta evidência foi obtida a partir da análise da atividade e expressão da tirosina hidroxilase (TH). Após um protocolo de administração diária de MGO, os autores demonstraram a capacidade do MGO em causar a depleção de DA e induzir uma diminuição nas concentrações de 5-HT no CPF (SZCZEPANIK et al., 2020b).

Analisando com cautela a parcela de estudos relacionados ao sistema dopaminérgico nas doenças neurodegenerativas, todos os dados convergem para uma diminuição da neurotransmissão dopaminérgica (BELUJON; GRACE, 2017). Portanto, salientando a importância da DA para os processos de aprendizagem e funções cognitivas no CPF, como exemplo, a diminuição característica de neurônios dopaminérgicos e diminuição de DA em indivíduos diagnosticados com a PD (COLLINS; NEAFSEY, 2002; KALIA; LANG, 2015; MATSUDA et al., 2017; XU et al., 2012).

2 JUSTIFICATIVA

No último século o aumento na expectativa de vida direcionou a sociedade para um crescimento abrupto de uma série de desordens neurodegenerativas relacionadas a indivíduos mais idosos, o que representa novos desafios para a área da saúde, no que se diz respeito à manutenção e qualidade de vida destes indivíduos (OEPPEN; VAUPEL, 2002). As doenças neurodegenerativas, como a AD, a PD, esclerose lateral amiotrófica e o transtorno psiquiátrico da depressão, são extremamente debilitantes e, algumas são incuráveis até o presente momento, tornando-se necessário uma demanda especializada para proporcionar melhores prognósticos para os indivíduos acometidos (DURÃES; PINTO; SOUSA, 2018; KIAEI, 2013; RASOOL et al., 2014).

Na sua grande maioria, as doenças neurodegenerativas são caracterizadas por uma perda lenta e constante de células neuronais, assim como, o acúmulo de proteínas disfuncionais e formação de agregados proteicos no cérebro, de forma intracelular ou extracelular (VICENTE MIRANDA et al., 2017a; ZONDLER et al., 2014). Dentre as consequências fisiológicas desencadeadas a partir do aumento nos níveis de glicação de proteínas, estão incluídos o desenvolvimento da diabetes mellitus e disfunções cardíacas (FISHMAN et al., 2018; RAMASAMY et al., 2005), disfunções visuais (SCHALKWIJK; STEHOUWER, 2019; SCHLOTTERER et al., 2019), alterações vasculares e arteriosclerose diabética (KAY; SIMPSON; STEWART, 2016; SINGH et al., 2014).

Desde a caracterização da hemoglobina glicada (BUNN et al., 1975), atualmente utilizada como um biomarcador para a diabetes mellitus, os eventos patológicos desencadeados pela glicação têm sido monitorados com maior zelo por diversos grupos de pesquisadores (ALLAMAN; BÉLANGER; MAGISTRETTI, 2015; EMENDATO et al., 2018a; MIRANDA; OUTEIRO, 2010; PALANISSAMI; PAUL, 2018; SHINPO et al., 2000). Sendo que um dos compostos carbonílicos mais reativo e participante nestas alterações fisiológicas, é produzido no metabolismo de carboidratos, conhecido como MGO (THORNALLEY; LANGBORG; MINHAS, 1999).

Em razão destes eventos, o MGO é associado com condições patológicas de hiperglicemia e, paciente hiperglicêmicos são mais vulneráveis para as diversas doenças neurodegenerativas e psiquiátricas (ALI et al., 2006; BIESSELS et al., 2006; HUANG et al., 2012; LUSTMAN et al., 2000a). Para além dos variados estudos *in vitro*, são poucos os trabalhos *in vivo* investigando os efeitos tóxicos do MGO em relação ao SNC, mesmo

após a demonstração experimental de que o MGO está envolvido com diversos transtornos neurológicos, como a depressão.

Assim, este estudo propôs caracterizar o envolvimento do MGO sobre os diversos sistemas de neurotransmissão relacionados a depressão, bem como seu efeito sobre potenciais alvos moleculares na região do CPF e HP, o que ainda não foi caracterizado e explorado em modelos *in vivo*. Além disso, ainda não existem dados na literatura que caracterizem um tratamento crônico com a administração de MGO sobre os diversos parâmetros comportamentais relacionados à depressão, assim como, vias de neurotransmissão envolvidas com a fisiopatologia da depressão e os alvos moleculares do MGO.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os possíveis efeitos do MGO sobre os parâmetros comportamentais e neuroquímicos, dos sistemas de detoxificação e antioxidante, em modelos *in vivo*, bem como os efeitos do MGO sobre o metabolismo da dopamina.

3.2 Objetivos específicos

- i. Avaliar os efeitos do tratamento agudo e repetido com MGO no teste de suspensão pela cauda em diferentes linhagens de camundongos.
- ii. Investigar os efeitos do tratamento agudo e repetido com MGO sobre os níveis plasmáticos de MGO.
- iii. Investigar os efeitos do tratamento repetido com MGO sobre parâmetros bioquímicos no CPF e HP de camundongos Swiss:
 - conteúdo de proteínas glicadas,
 - atividade das enzimas Glo1, AKR, GR, TrxR e níveis das enzimas Glo1, Glo2, GR, GCL e TrxR1, TH
 - avaliar os efeitos do MGO sobre a fosforilação da cinase DARPP-32
- iv. Investigar os níveis de monoaminas após o tratamento repetido com MGO e/ou juntamente com a Bupropiona;
- v. Investigar os efeitos comportamentais de várias drogas sobre a ação tipo-depressiva (teste de suspensão pela cauda) induzida pelo tratamento com MGO (50 mg/kg) na linhagem de camundongos Swiss Webster:
 - Bupropiona (50 mg/kg, v.o.), inibidor da recaptção de dopamina (DA) e noradrenalina (NA);
 - Muscimol (0,5 mg/kg, i.p.), agonista de receptores γ -aminobutírico do tipo A (GABA_AR);

- Bicuculina (2 mg/kg, i.p.), antagonista de GABA_AR.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos fêmeas de 3 meses das linhagens Swiss (35-50 g), C57BL/6 (20-26 g) ou BALB/C (20-25 g) com livre acesso à ração peletizada padrão (30% proteína, 58% carboidrato e 12% lipídio) e água filtrada. Os camundongos foram obtidos do Biotério Central da UFSC. Estes animais foram alojados em gaiolas plásticas de 32 cm de largura x 20 cm de altura x 21 cm de profundidade junto ao Biotério do Laboratório de Defesas Celulares, mantidos em temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com ciclo 12 h claro/escuro, com início do ciclo claro às 7:00 h e alimentados *ad libitum*. A sala de experimentos utilizada para os testes comportamentais continha uma luz com luminosidade regulada (20 lux) e com diminuição de ruídos. Todos os aparatos realizados para os testes comportamentais foram limpos com etanol 10% entre a troca de cada animal.

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as recomendações do Conselho Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da UFSC (protocolo No. PP00735). Os animais foram eutanasiados após os testes comportamentais e seu tecido encefálico dissecado para a obtenção de homogenatos a serem utilizados nos ensaios bioquímicos.

Diversos estudos têm relacionado a prevalência duas-três vezes maior de transtornos psiquiátricos em mulheres em comparação aos homens (WONG; LICINIO, 2001b), justificando o uso de fêmeas neste estudo experimental.

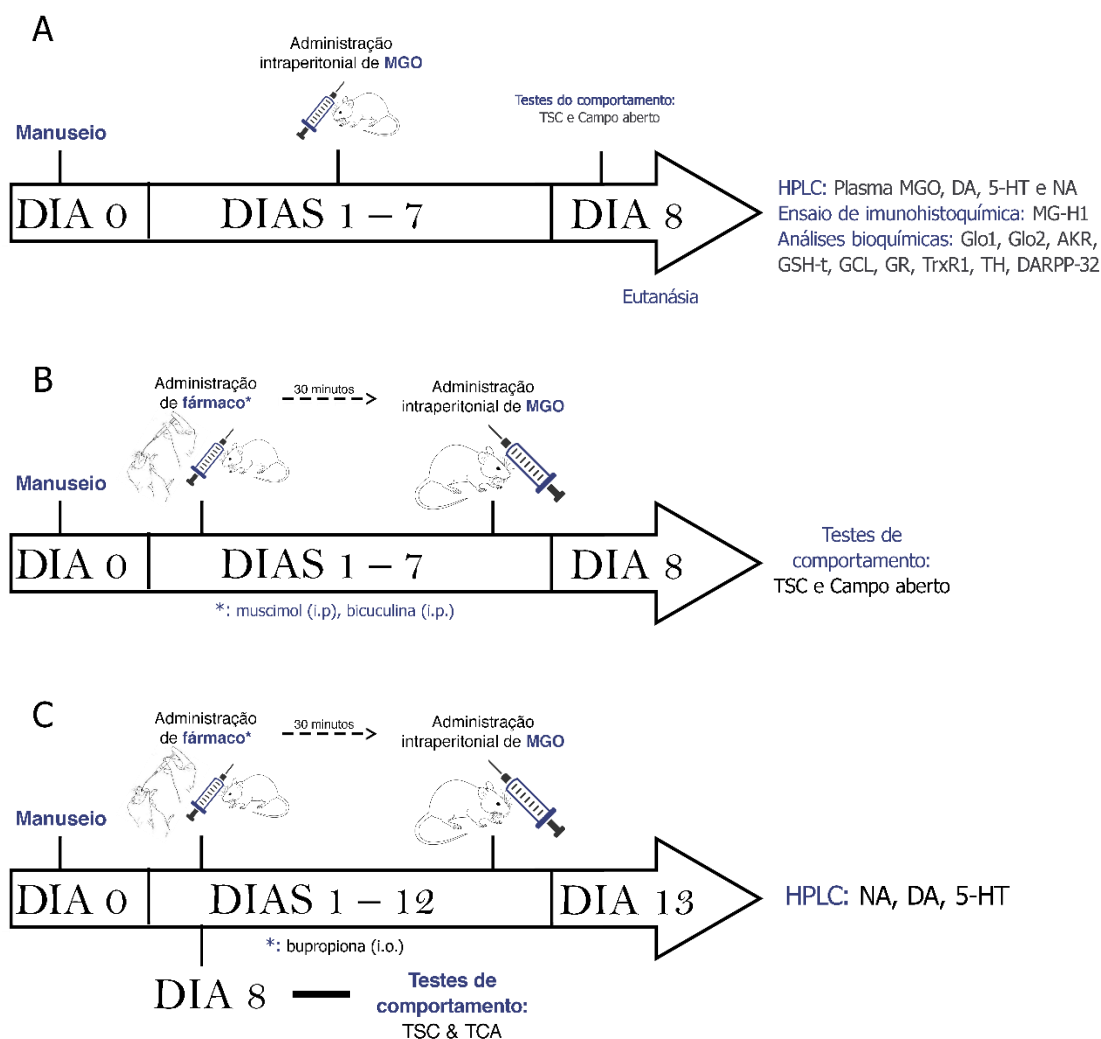
4.2 Tratamentos e desenho experimental

Para o tratamento com MGO, os animais foram separados em grupo controle (NaCl 0,9%) e grupos experimentais tratados com MGO nas doses de 10, 25 ou 50 mg/kg (i.p.) por um período de 7 dias (uma única injeção intraperitoneal diária) (Fig. 6A). Os testes comportamentais foram realizados um dia após a última administração de salina ou MGO (8º dia do protocolo experimental, Fig. 6A). No oitavo dia os animais foram submetidos aos testes comportamentais ou foram anestesiados com isoflurano e mortos por punção cardíaca. Após a morte dos animais, houve a rápida dissecação do CPF e do HP. Em

seguida, as amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em freezer -80°C para as análises bioquímicas.

Em um subsequente protocolo experimental, os camundongos foram tratados com agonista e antagonista de receptores GABA_A, em um volume constante de 10 ml/kg de peso corporal. O protocolo foi executado com doses repetidas dos fármacos de escolha 30 minutos antes da administração de MGO por 7 dias consecutivos (Fig. 6B) ou por 12 dias consecutivos (Fig. 6C). Os compostos foram diluídos nos seguintes veículos: MGO (50 mg/kg) foi dissolvido em salina (0,9%) e administrado via i.p.; bupropiona (50 mg/kg) foi dissolvido em salina (0,9%) e administrado via oral (gavagem – p.o.); muscimol (0.5 mg/kg) ou bicuculina (2 mg/kg) foram dissolvidos em salina (0,9%) e administrados via i.p. Os testes comportamentais foram executados sempre 24 horas após o sétimo dia de tratamento com os fármacos e/ou MGO (Fig. 6B e Fig. 6C), na seguinte sequência: início do manuseio (dia 0), administração de MGO e/ou fármacos (dia 1-7), teste de suspensão pela cauda (dia 8) e campo aberto (dia 8). Tanto no protocolo de 7 dias como no de 12 dias de administração, os camundongos foram eutanasiados 24 horas após a última administração, por deslocamento cervical e o CPF e HP foram removidos imediatamente e armazenados em -80° C até o uso.

Figura 6. Esquema representativo dos protocolos experimentais. Um grupo de camundongos Swiss (A) foram tratados por 7 dias com MGO nas doses de 10, 25 e 50 mg/kg e 24 horas após a última administração de MGO foram executados o teste de suspensão pela cauda (TSC) e do campo aberto (A). Ainda, um grupo de animais das linhagens C57BL/6 e BALB/C foram submetidos ao TSC e ao aparato do campo aberto, 24 horas após 7 dias de uma administração diária de 50 mg/kg de MGO. Um grupo distinto de camundongos Swiss foram submetidos a 7 dias de administração diária de MGO (10, 25 e 50 mg/kg) e seu material biológico foi coletado e utilizado para quantificação de níveis plasmáticos de MGO e dos neurotransmissores dopamina, noradrenalina e serotonina; imuno-histoquímica para adutos de MGO (MG-H1); análises bioquímicas: níveis de expressão de Glo1, Glo2, GCL, GR, TrxR1 e TH; atividade enzimática de Glo1, AKR, GR e TrxR; conteúdo total de GSH. Para o protocolo com fármacos agonistas e antagonistas (B), camundongos Swiss foram tratados por 7 dias com o fármaco de escolha (bupropiona, cetamina, muscimol ou bicuculina) e 30 minutos após o tratamento receberam a administração de MGO (50 mg/kg) 24 horas após a última administração (dia 8) os animais foram submetidos ao TSC e ao aparato do campo aberto. Um grupo experimental de camundongos Swiss foram tratados por 11 dias com MGO (50 mg/kg) e Bupropiona, no 8º dia estes animais foram submetidos ao TSC e ao aparato do campo aberto, e no 12º dia seu material biológico foi coletado e utilizado para quantificação de dos neurotransmissores dopamina, noradrenalina e serotonina.



4.3 Testes comportamentais

Os testes comportamentais foram realizados durante o ciclo claro dos animais, entre 10h da manhã e 15h da tarde. Para a iluminação da sala (10 lux) na qual os comportamentos foram realizados utilizou-se uma lâmpada de cor branca. A limpeza dos aparatos foi feita com álcool 10%, sendo que estes foram limpos a cada troca de animal. Todos os testes comportamentais foram filmados para posterior análise dos dados.

4.4 Campo aberto

A arena do campo aberto permite a avaliação da atividade locomotora e exploratória do animal. Para a realização do teste, os animais foram colocados individualmente, em uma caixa de acrílico medindo 40 cm de largura, por 40 cm de comprimento e 30 cm de altura. Os animais foram colocados em um dos cantos da caixa, de frente para a arena. A atividade locomotora dos animais foi avaliada por um período de 5 minutos e posteriormente analisada pelo software ANY-maze (CAPRA et al., 2010; GONÇALVES et al., 2011).

4.5 Teste de Suspensão pela cauda

O teste de suspensão pela cauda em camundongos é um teste preditivo de comportamentos do tipo depressivo/antidepressivo (CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005). O teste consiste em suspender o camundongo pela cauda em uma plataforma com 50 cm de altura do chão. Para prender o animal foi utilizado uma fita adesiva colocada a aproximadamente 1 cm da ponta da cauda. Considera-se que o animal apresenta comportamento do tipo depressivo quando o tempo de imobilidade está aumentado. O tempo de duração do teste foi de 6 minutos e os camundongos foram submetidos individualmente ao teste (STERU et al., 1985).

4.6 Análises bioquímicas

4.6.1 Análise dos níveis plasmáticos de Metilglioxal

As amostras de sangue foram coletadas 24 horas após a última administração de MGO (8º dia) por punção cardíaca e mantidas em tubos heparinizados. Após uma centrifugação de 800 x g, por 15 min a 4 °C, o plasma foi separado e misturado (1:1, v/v) com a solução de derivação (β -mercaptoetanol 1M, ditionito de sódio 28 mM e DMB 7mM). Os níveis de MGO no plasma foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com o uso da sonda fluorescente, 1,2-diamino-4,5-metilenedioxibenzene (OGASAWARA et al., 2016), como já utilizado por nosso grupo (DE ALMEIDA et al., 2020; SZCZEPANIK et al., 2020b). Uma curva padrão foi realizada com uma concentração variando de 0,050 a 5 μ M e usada para estimar a concentração de MGO. O aparelho de HPLC utilizada foi da Jasco® (sistema LC-2000

Plus), usando uma coluna Inerstil ODS-4® (4,6 x 150 mm), a uma taxa de fluxo de 0,5 mL/minuto. A solução derivada de DMB-MGO foi eluída em solução isocrática de metanol, acetonitrila e água, (razão 35:10:55). A fluorescência foi monitorada utilizando o comprimento de onda de excitação de 355 nm e o comprimento de onda de emissão de 399 nm.

4.6.2 Imunohistoquímica para adutos de MGO

Os animais foram anestesiados com isoflurano e perfundidos com salina, seguido de perfusão com paraformaldeído 4%. Os cérebros foram removidos rapidamente, submersos em PFA por 24h e crioprotetidos por imersão em solução salina tamponada (pH 7.4) com fosfato 0.1 M (PBS), contendo 30% de sacarose. As amostras foram congeladas e armazenadas em freezer -80° C até o uso. Os cortes seriados das estruturas congeladas (20 µm) do CPF e HP foram realizados em criostato (Leica) e coletados em placa de 16 poços contendo PBS.

Para experimentos com imunofluorescência, os cortes seriados foram lavados 3 vezes consecutivas em PBS e bloqueados por uma hora em solução PBS contendo 5% de soro de cavalo e 0.5% de Triton X-100, a 4° C. Os cortes seriados foram diluído em solução de bloqueio e incubados *overnight* a 4° C com anticorpo contra o aduto do MGO (anti-MG-H1, diluição 1:100, STA-011, Cell BioLabs). Os cortes foram submetidos a 3 lavagens com PBS e incubados por 2 horas com anticorpo secundário anti-mouse Alexa 488 (Invitrogen, 1:400, A-11001), em temperatura ambiente e em solução de bloqueio. Novamente, cortes histológicos foram lavados 3 vezes em PBS e acomodados em lâminas de microscópio revestidas com gelatina. Imagens foram adquiridas com o uso do microscópio invertido OLYMPUS IX83 e examinadas e quantificadas utilizando o software ImageJ®.

4.6.3 Análises dos níveis de monoaminas nas estruturas cerebrais

Os níveis de monoaminas (DA, NA e 5-HT) foram avaliados por HPLC e detectados por fluorescência (DE BENEDETTO et al., 2014) em homogenatos de CPF e HP dos animais. As amostras cerebrais foram homogeneizadas em ácido perclórico 0,2 M contendo 3 mM de cisteína a 1:5 (p:v). O homogenato foi centrifugado a 12.000 x g, por 10 min a 4 °C e, o sobrenadante resultante foi congelado (-80 °C) à análise

subsequente. Uma curva padrão foi realizada com concentrações variando de 0,016 a 2,50 ng/uL e utilizada para estimar os níveis de dopamina (DA), serotonina (5-HT e noradrenalina (NA). O aparelho de HPLC utilizada era da Jasco® (sistema LC-2000 Plus), usando uma coluna ACE® C18 Ultra-Inert, a uma taxa de fluxo de 0,6 mL/minuto. As monoaminas foram eluídas em solução isocrática de acetato (ácido acético 12 mM, EDTA 0,26 mM) e metanol (86:14 v/v). A fluorescência foi monitorada utilizando comprimento de onda de excitação a 279 nm e comprimento de onda de emissão a 320 nm.

4.6.4 Atividade enzimática

Para a avaliação da atividade enzimática, as amostras foram homogeneizadas em solução HEPES 20 mM, pH 7,4 (1:10; peso:volume) e centrifugadas a 20.000 g por 30 minutos em centrífuga refrigerada à 4°C. O sobrenadante foi utilizado para as análises.

Glutathione reductase (GR): A atividade da GR foi medida pelo método de (CARLBERG; MANNERVIK, 1985), onde o meio de reação contém tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, 1,0 mM de EDTA e NADPH 0,225 mM. O ensaio foi iniciado pela adição de GSSG 1,0 mM. A GR presente na amostra reduz a GSSG para GSH, para isso consumindo NADPH a partir da leitura em 340 nm em espectrofotômetro. A taxa de consumo de NADPH é proporcional a atividade GR. A perda de absorvância na ausência de GSSG foi descontada das leituras.

Tiorredoxina reductase (TrxR): A atividade da TrxR foi medida através do método de redução do DTNB à TNB (HOLMGREN; BJORNSTEDT, 1995). As amostras foram adicionadas ao meio de reação (tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, EDTA 10 mM, DTNB 5 mM e BSA 2 mg/ml) e incubadas por 10 minutos a 37°C. Em seguida foi adicionado 200 µM de NADPH e a taxa de aumento da absorvância foi medida (412 nm) por 5 minutos com o uso de espectrofotômetro. O aumento de absorvância sem adição de NADPH foi descontado das leituras.

Glioxalase I (Glo1): A atividade da Glo1 foi medida através da formação de S-D-lactoilglutathione (ALLEN; LO; THORNALLEY, 1993; RACKER, 1951). Antes do ensaio GSH e MGO foram incubados em tampão fosfato 50 mM, pH 6,6, GSH 100 mM e MG 100 mM, à 37°C, por 10 minutos. Esta solução foi adicionada ao meio de reação com concentrações crescentes de MGO, até 10 mM. Ao meio de reação foi acrescentada a amostra e a taxa de aumento da absorvância foi medida espectrofotometricamente

durante 1 minuto, em 240 nm. A variação de absorvância sem adição da amostra foi descontada das leituras.

Aldoceto redutase (AKR): A atividade da AKR foi medida através do método de redução do NADPH (SRIVASTAVA et al., 1999). As amostras foram adicionadas ao meio de reação (tampão fosfato-potássio 100 mM, pH 7,2, EDTA 1 mM, NADPH 0,100 mM e MGO 1mM) e a taxa de diminuição do NAPHD foi medida em espectrofotômetro por 30 minutos, em 340nm. Foi realizada a leitura de um poço sem substrato (MGO) para cada uma das amostras e este valor foi diminuído da variação de absorvância com a adição do substrato.

Dosagem de proteína: A atividade enzimática foi relativizada à concentração de proteínas. A dosagem de proteína foi efetuada de acordo com o método de (BRADFORD, 1976) e com o método de Lowry (PETERSON, 1977), utilizando a albumina do soro bovino como proteína-padrão.

4.6.5 Determinação de GSH-t

Os níveis de GSH total foram avaliados de acordo pelo método de Tietze (TIETZE, 1969). As amostras foram homogeneizadas em ácido perclórico 0,5 M e centrifugadas a 15.000 g por 5 minutos em centrifuga refrigerada à 4°C. O sobrenadante foi utilizado e o pellet descartado. As amostras foram neutralizadas e adicionadas em um meio de reação contendo tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, EDTA 1 mM, NADPH 0,200 mM, DTNB 0,1 mM e 0,2 unidades de GR. A taxa de formação de TNB foi determinada por 5 minutos no comprimento de onda de 412 nm. Os valores de absorvância encontrados foram comparados a valores de uma curva padrão feita com GSH.

4.6.6 Extração de proteínas e Western blot

As amostras das estruturas cerebrais dos animais foram diluídas em Tris 100mM/EDTA 2mM/NaF 200mM, Coquetel inibidor de proteases (Sigma®), PMSF 100 mM, Na₃VO₄ 200mM, 1% Triton X-100 e 10% glicerol. Após a solubilização das proteínas e armazenamento de alíquota para dosagem de concentração de proteínas pelo método de Lowry, as amostras foram diluídas 5 vezes no tampão da amostra (Tris 329mM pH 6.8; Glicerol 50%; β-mercapetanol 12.5%; SDS 10%; 0.01g de azul de bromofenol). As proteínas (20 a 30 µg/poço) foram separadas em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-

PAGE) usando um aparato Miniprotean tetra (Bio-Rad, São Paulo). A eletroforese foi realizada com gel de 12% e com uma voltagem fixa de 140 volts por 1 hora e 35 minutos, ou até o corante ter alcançado o final do gel, utilizando-se para isso um tampão de corrida contendo glicina 190 mM, Tris 25 mM e SDS 0,1 %. Após a separação, as proteínas foram transferidas eletroforéticamente para uma membrana de PVDF, utilizando o aparato Mini Trans-Blot (Bio-Rad, São Paulo), por 1 hora e 20 minutos a 100 volts e sob refrigeração. As membranas foram então bloqueadas com leite desnatado ou albumina 5,0 % e incubadas *overnight* com anticorpos primários: Glo1 (SC 67351, 1:1,000), Glo2 (SC 51092, 1:1,000), glutamato-cisteína ligase (GCL) (SC-22755, 1:3,000), e TrxR1 (SC 20147, 1:1,000) da Santa Cruz Biotechnology (Dallas, EUA). O anticorpo utilizado para a forma fosforilada Thr34 da DARPP-32 (AB9206; 1:1,000) da Millipore (Burlington, EUA). O anticorpo para GR (ab16801, 1:1,000) da Abcam (Cambridge, UK). O anticorpo para DARPP32 (#2302, 1:1,000) e forma fosforilada Thr75 DARPP-32 (#2301, 1:1,000; rabbit) da Cell Signaling (Danvers, USA). Após 3 lavagens com TBS-T as membranas foram incubadas com anticorpo secundário correspondente e a revelação foi feita com uma solução quimioluminescente seguida da exposição em aparelho de fotodocumentação de membranas (ChemiDoc MP, Bio-Rad, La Jolla, USA). As imagens foram quantificadas com o uso do software ImageJ.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se ANOVA de uma via, seguido por um teste de *post hoc* de Holm-Sidak e Dunnett ou em teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, quando os dados não satisfazem os critérios estabelecidos para o teste de normalidade. Para comparação de duas médias foi utilizado o teste t de Student. Os resultados foram expressos com $\text{media} \pm \text{erro padrão da média}$. A diferença estatística foi considerada significativa quando $p < 0.05$.

5 RESULTADOS

5.1 Efeitos do tratamento agudo e repetido com metilglioxal sobre o parâmetro de imobilidade e atividade ambulatoria de camundongos

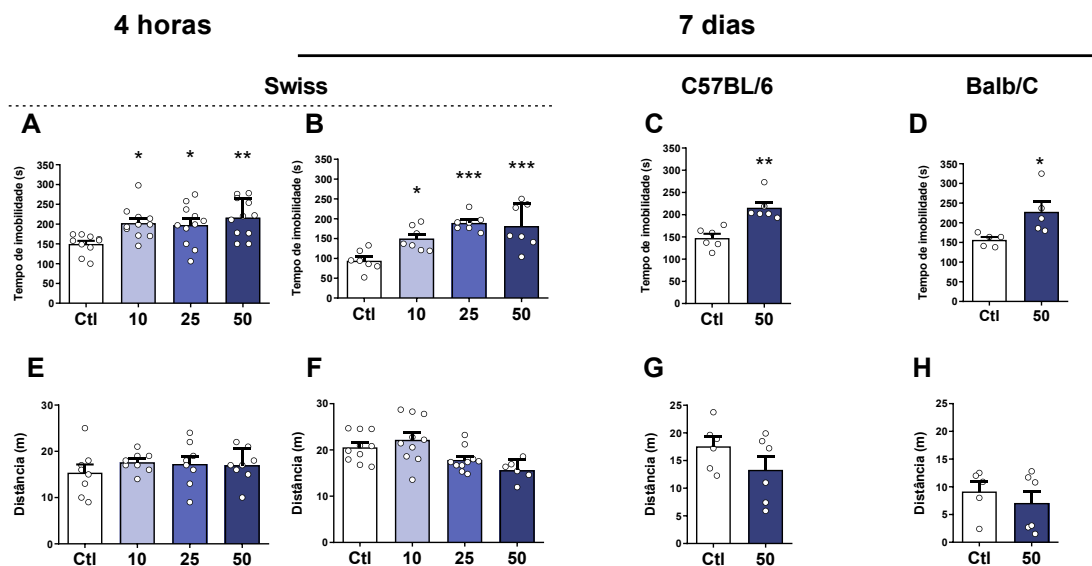
Para uma primeira avaliação dos efeitos do MGO, foi realizado um teste preliminar sobre o tempo de imobilidade de camundongos *Swiss*. Após 4 horas de uma única administração de MGO (doses de 10, 25 e 50 mg/kg, i.p.), os animais foram submetidos ao teste de suspensão pela cauda (TSC) (Fig. 7A), seguido do campo aberto (Fig. 7E). Através do teste ANOVA de uma via, observou-se que a administração de todas as doses animais induzindo o comportamento tipo-depressivo, a partir do incremento no parâmetro de imobilidade dos em comparação aos animais controle [$F_{(3, 39)} = 1,492$; $p < 0,05$]. Nenhum dos grupos de animais tratados com MGO (10, 25 e 50 mg/kg) exibiu alteração na ambulação quando avaliado no aparato do campo aberto (Fig. 7E).

Em outro tratamento, os animais foram tratados diariamente com MGO (10, 25 e 50 mg/kg, i.p.) durante 7 dias e submetidos ao TSC (Fig. 7B) e ao campo aberto (Fig. 7F), 24 horas após a última administração de MGO. No TSC, os animais tratados com MGO nas doses de 10, 25 e 50 mg/kg apresentaram maior tempo de imobilidade [$F_{(3, 24)} = 2,125$; $p > 0,001$] (Fig. 7C). A distância percorrida no instrumento do campo aberto, pelos animais tratados com MGO, não apresentou alteração quando comparado ao grupo controle.

Ainda, o comportamento tipo-depressivo também foi verificado em camundongos de duas outras linhagens: C57BL/6 (Fig. 7C) e BALB/C (Fig. 7D). Nestas duas linhagens optou-se por utilizar apenas a dose de MGO 50 mg/kg, i.p., como é demonstrado na Fig. 6, a administração de MGO durante 7 dias foi capaz de induzir um efeito tipo-depressivo no TSC (C57BL/6 – [$F_{(5, 5)} = 1,607$; $p < 0,01$]; BALB/C – [$F_{(4, 4)} = 12,88$; $p < 0,05$]). O aparato do campo aberto foi utilizado para verificar alterações na atividade locomotora dos animais das diferentes linhagens citadas acima, e como demonstrado na Fig. 7G e H, nenhuma alteração foi encontrada.

Figura 7. MGO induz um específico comportamento tipo-depressivo. Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda (A-D), e atividade ambulatoria no campo aberto (E-H) foram avaliados em camundongos tratados com uma única dose de MGO ou repetidamente por 7 dias. Nós avaliamos o efeito de MGO em distintas linhagens com padrões de ansiedade distintos: *Swiss* (B), C57BL/6 (C) e Balb/C (D). Os resultados são expressos como média + EPM e avaliados por ANOVA de uma via (A, B, E e F) seguido

de teste de Kruskal-Wallis ou teste t de Student (C, D, G e H) (5 – 10 animais por grupo), sendo as diferenças significativas indicadas por * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparadas ao grupo controle (Ctl).

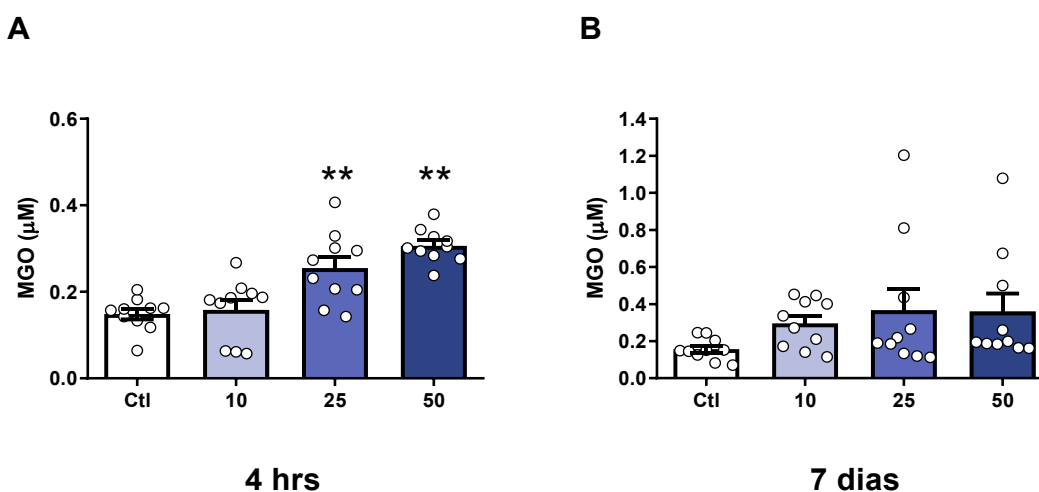


5.2 Efeitos do tratamento com metilglioxal sobre seus níveis plasmáticos de metilglioxal

Os níveis de MGO foram determinados no plasma de camundongos Swiss, após o tratamento agudo (4 horas) e repetido (7 dias) com MGO (Fig. 8). No caso do tratamento agudo, as amostras de sangue foram coletadas 4 horas após a administração de MGO. Para o tratamento por 7 dias consecutivos as amostras de sangue foram coletadas 24 horas após a última administração de MGO (dia 8). Os níveis plasmáticos de MGO do grupo controle dos animais tratados com apenas uma dose de MGO ficaram em média 0,148 μM (Fig. 8A). A concentração média do grupo controle dos animais que foram selecionados para o protocolo de 7 dias de MGO apresentaram uma média de 0,156 μM (Fig. 8B).

Quatro horas após uma única administração de MGO, como esperado, os níveis plasmáticos de MGO, nas doses de 25 e 50 mg/kg, foram maiores que seus respectivos grupos controles [$F_{(3, 36)} = 2,361$; $p < 0,001$]. Contudo, não foram observadas diferenças estatísticas nos níveis plasmáticos de MGO após o tratamento por 7 dias, conforme revelado pelo teste ANOVA de uma via [$F_{(3, 36)} = 1,234$; $p > 0,05$].

Figura 8. Níveis de MGO no plasma de camundongos, 4 horas (A) ou após doses diárias de MGO por 7 dias (B). Os resultados são expressos como média + EPM e avaliados por ANOVA seguido de teste Kruskal-Wallis (10 animais por grupo), e diferenças significativas são indicados por * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$, comparadas ao grupo controle (Ctl).

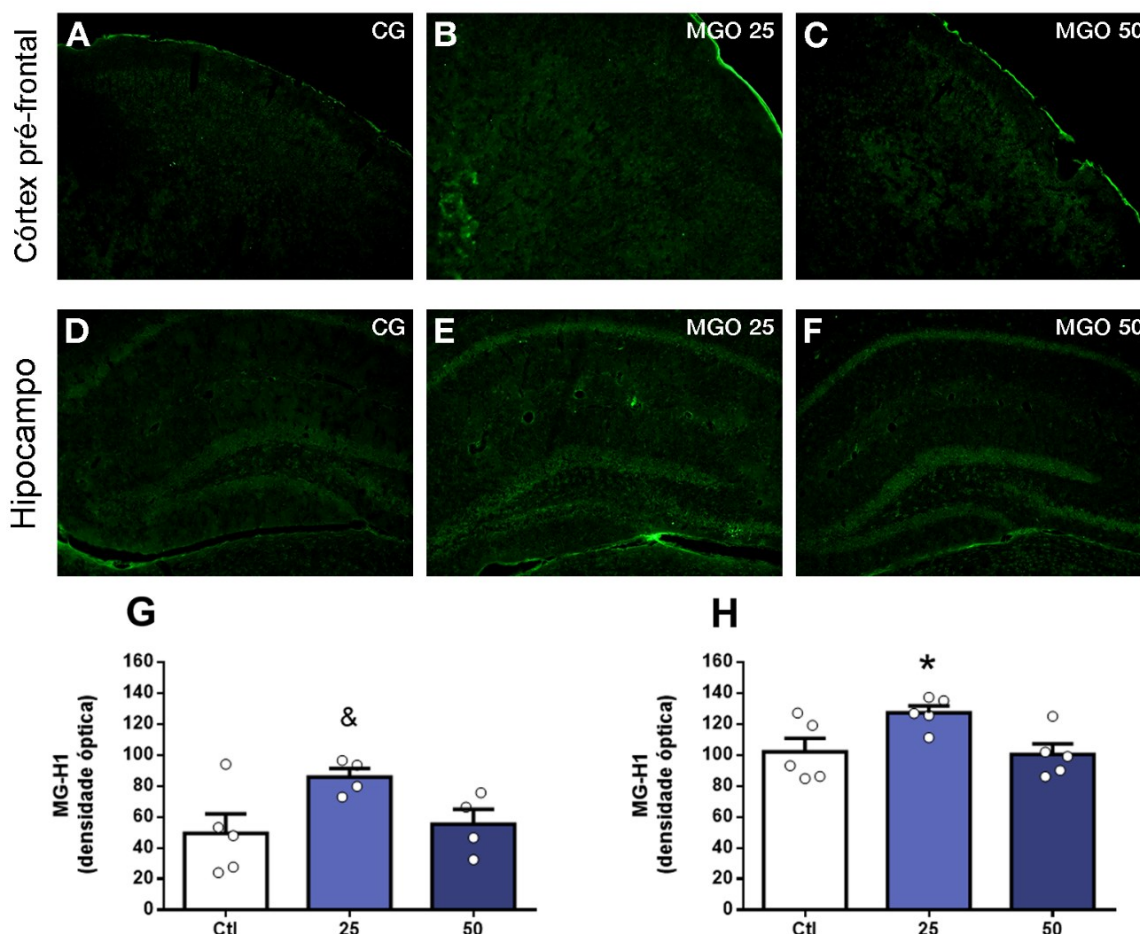


5.3 Efeitos do tratamento com metilglioxal sobre a glicação de proteínas no sistema nervoso central

Com o objetivo de determinar se houve algum efeito sobre a glicação de proteínas no CPF (Fig. 9A-C) e HP (Fig. 9D-F), após os 7 dias de tratamento com MGO, um dos adutos de proteína com MGO (MG-H1) foram marcados de forma específica utilizando a técnica de imunohistoquímica.

A intensidade de fluorescência apresentada pelo anticorpo para MG-H1 apresentou uma tendência no CPF [$F_{(2,10)} = 0,719$; $p < 0,06$] e aumento significativo no HP [$F_{(2,12)} = 0,688$; $p < 0,05$] dos animais tratados com 25 mg/kg de MGO. Na dose de MGO 50 mg/kg não houve alterações significativa na intensidade de fluorescência em nenhuma das áreas cerebrais analisadas.

Figura 9. Efeitos da administração repetida de MGO em proteínas glicadas (MG-H1) no córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos Swiss. Imagens são representativas dos grupos experimentais. Quantificação (painel superior) da intensidade de fluorescência indicando a presença do aduto MG-H1 no córtex pré-frontal (A-C e G) e hipocampo (D-F e H). Os resultados deste experimento foram analisados por ANOVA seguido de teste de Kruskal-Wallis, diferenças estatísticas são indicadas por & p < 0.06 e * p < 0.05. Barra de escala = 100 μ m.



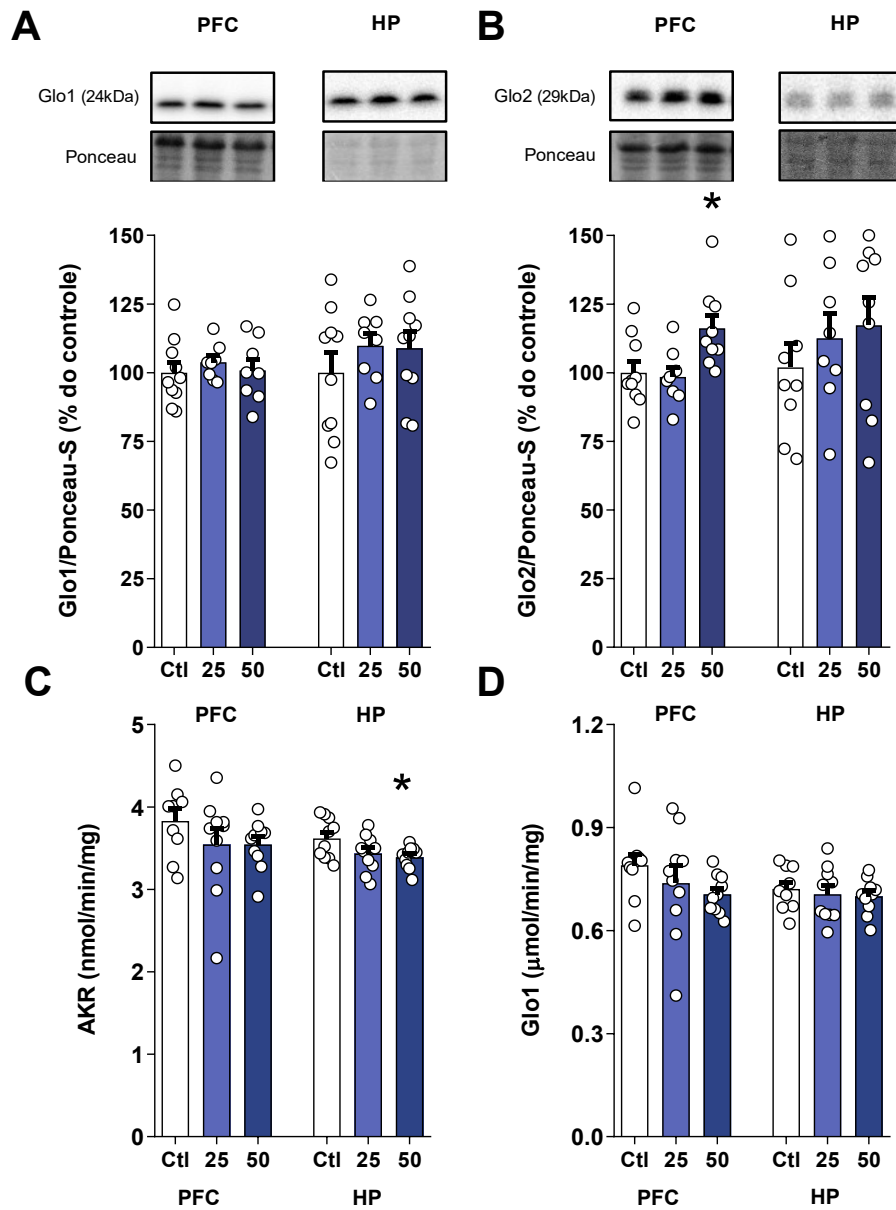
5.4 Efeitos do tratamento com metilglioxal sobre os sistemas enzimáticos de detoxificação no sistema nervoso central

A atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo do MGO foi avaliada por ensaios espectrofotométricos e os níveis proteicos por Western blot. Não houve alteração dos níveis proteicos de Glo1 no CPF e HP dos animais tratados por 7 dias com MGO. Contudo, os níveis de Glo2 aumentaram 16% no CPF após tratamento com 50 mg/kg de MGO por 7 dias, em comparação ao grupo controle [$F_{(2, 24)} = 0,217$; $p < 0,05$] (Fig. 10B).

Em relação à atividade enzimática da AKR, foi observado uma significativa diminuição de sua atividade no HP do grupo tratado com MGO na dose de 50 mg/kg,

quando comparado ao grupo controle [$F_{(2,27)} = 2,718$; $p < 0,05$] (Fig. 10C). Ainda, o teste de ANOVA não detectou alterações estatisticamente significantes na atividade enzimática da Glo1 dos grupos tratados com MGO em nenhuma das estruturas cerebrais analisadas (Fig. 10D).

Figura 10. Efeitos das administrações repetidas de MGO sobre os sistemas de detoxificação do MGO. Análise do imunocontéudo das enzimas Glo1, Glo2 e atividade enzimática da Glo1 e AKR, no córtex pré-frontal (PFC) e hipocampo (HP) após 7 dias de administração de MGO. A intensidade das bandas de Western blot foram normalizadas por Ponceau-S. Valores estão expressos em média \pm erro padrão da média (8 – 10 animais por grupo). Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Kruskal-Wallis. Diferenças significativas são indicadas como, * $p < 0,05$.



5.5 Efeitos do tratamento com metilglioxal sobre as defesas antioxidantes no sistema nervoso central

A Tabela 2 mostra os efeitos da administração de MGO (Ctl), 25 ou 50 mg/kg) por 7 dias sobre defesas antioxidantes. Os níveis de GSH-t não foram alterados em nenhuma das duas estruturas cerebrais analisadas: CPF e HP. As atividades GR e TrxR não apresentaram alterações significativas em nenhum dos grupos tratados com MGO (Tabela 2).

Tabela 3. Efeitos da administração repetida de MGO nas defesas antioxidantes. Análise do conteúdo total de glutatona e atividade enzimática de GR e TrxR, no córtex pré-frontal e hipocampo após 7 dias de administração de MGO. Valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (8 – 10 animais por grupo). Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Kruskal-Wallis.

| Tratamento | Ctl | 25mg/kg | 50mg/kg |
|---------------------------|------------------|------------------|------------------|
| GSH-t ¹ | | | |
| <i>Córtex pré-frontal</i> | 1,220 \pm 0.06 | 1,224 \pm 0.07 | 1,208 \pm 0.06 |
| <i>Hipocampo</i> | 1,376 \pm 0.05 | 1,486 \pm 0.09 | 1,442 \pm 0.07 |
| GR ² | | | |
| <i>Córtex pré-frontal</i> | 89,5 \pm 4.89 | 82,81 \pm 3.49 | 87,2 \pm 5.29 |
| <i>Hipocampo</i> | 65,7 \pm 4.80 | 66,2 \pm 2.61 | 69,6 \pm 1.71 |
| TrxR ² | | | |
| <i>Córtex pré-frontal</i> | 11,7 \pm 0.67 | 13,0 \pm 0.81 | 14,3 \pm 1.14 |
| <i>Hipocampo</i> | 12,4 \pm 1.44 | 13,2 \pm 0.93 | 10,9 \pm 1.09 |

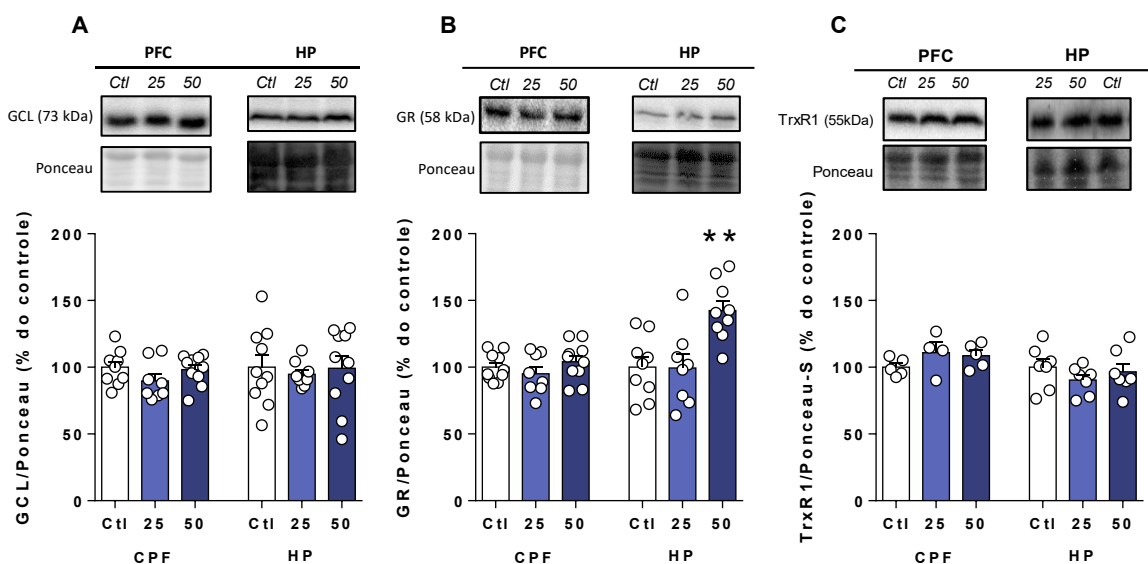
¹expresso em $\mu\text{mol/mg}$

²expresso em nmol/min/mg

Ainda, o imunoconteúdo das enzimas GCL, GR e TrxR foi analisado no CPF e HP (Fig. 11). A análise estatística de Dunnett encontrou aumento significativo nos níveis de GR no HP no grupo de animais tratados com 50 mg/kg de MGO, em comparação ao grupo controle. As proteínas GCL e TrxR1 não apresentaram alterações significativas em

seus níveis após o protocolo de administração de 7 dias de MGO em nenhuma das doses testadas.

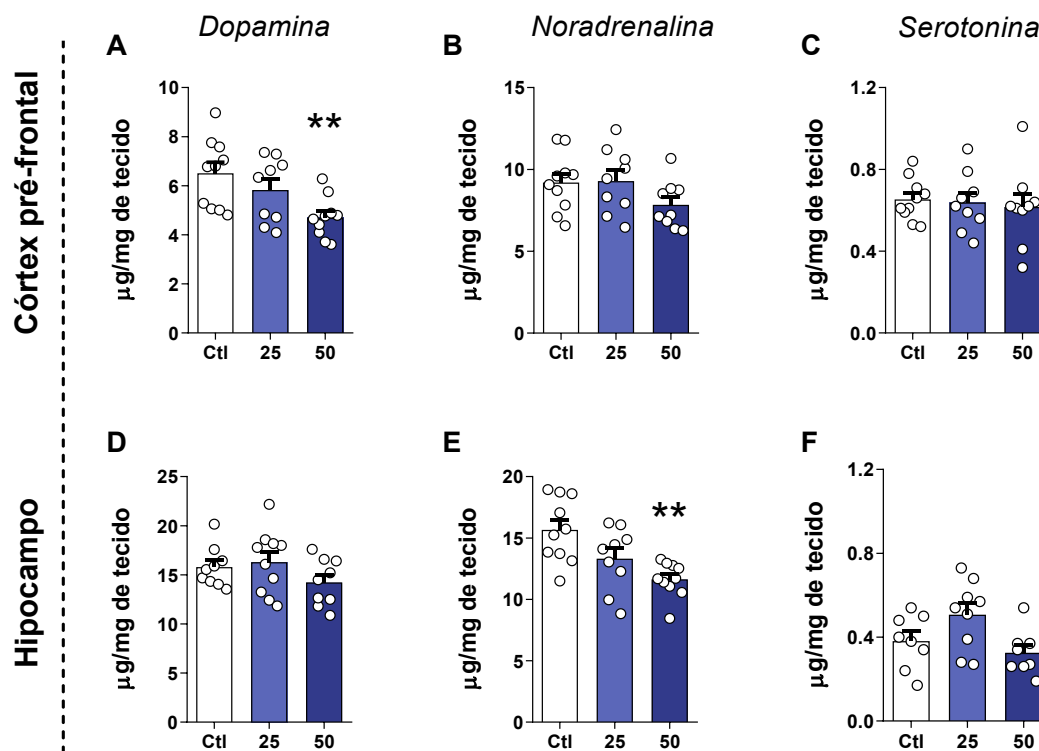
Figura 11. Efeitos da administração repetida de MGO sobre defesas antioxidantes. Análise dos níveis das enzimas GCL, GR e TrxR1, no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HP) após 7 dias de administração de MGO. A intensidade das bandas de Western blot foram normalizadas por Ponceau-S. Valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (8 – 12 animais por grupo). Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Dunnett. Diferenças significativas são indicadas como, ** $p < 0.01$.



5.6 Efeitos do tratamento com metilgloxal sobre os níveis de monoaminas no sistema nervoso central

Os níveis de monoaminas dos camundongos Swiss (Dopamina - DA, Noradrenalina - NA e Serotonina/5-Hidroxitriptamina - 5-HT) foram avaliados por HPLC no CPF e HP dos animais, após 7 dias de tratamento repetido (Fig.12). O MGO reduziu os níveis de DA no CPF e NA do HP dos animais tratados. Os níveis de DA do CPF apresentaram uma redução significativa de 28% após o tratamento com MGO (50 mg/kg, i.p.), em comparação com o grupo controle [$F(2, 26) = 1,718$; $p < 0,01$] (Fig.12 A). Ainda, o HP dos animais tratados com as doses de 50 mg/kg i.p. de MGO apresentam uma diminuição significativamente estatística nos níveis de NA [$F(2, 26) = 2.051$; $p < 0,05$] (Fig.12 E). Ademais, não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) quanto aos níveis de 5-HT do CPF e HP dos animais tratados com MGO (Fig.12 C e F).

Figura 12. Efeitos da administração repetida de MGO sobre as concentrações de monoaminas. Análise das concentrações dos neurotransmissores dopamina, noradrenalina e serotonina, no córtex pré-frontal e hipocampo após 7 dias de administração de MGO. Valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (7 – 8 animais por grupo). Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Dunnett. Diferenças significativas estão indicadas como, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ em relação ao grupo controle.

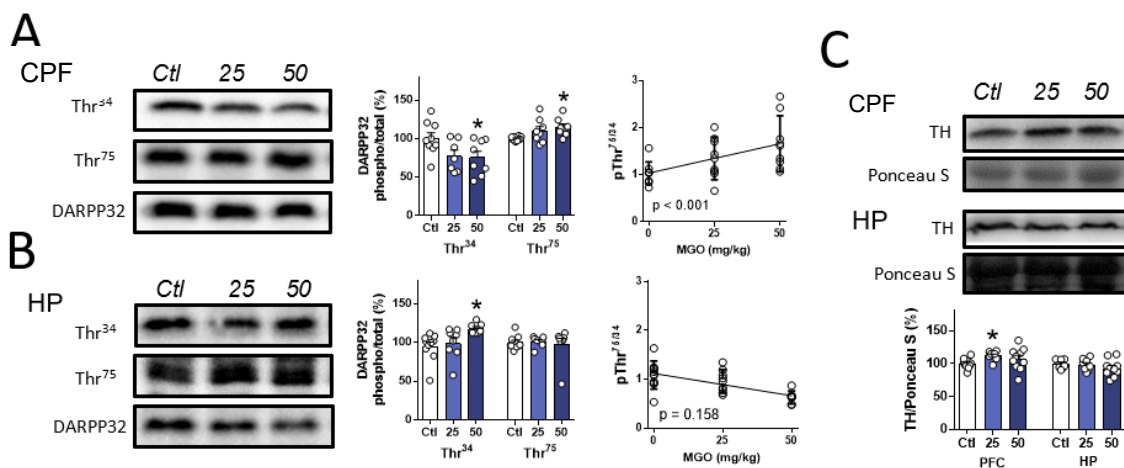


5.7 Efeitos do tratamento com metilglioxal sobre as vias de neurotransmissão dopaminérgica

O presente estudo investigou o efeito da administração de MGO sobre o imunoconteúdo da proteína TH e os níveis de fosforilação dos resíduos de treonina nas posições 34 e 75 (Thr75 e Thr34) da proteína DARPP-32 e, por meio da técnica de Western blot (Fig. 13). A análise estatística de Holm-Sidak não revelou alterações significativas nos níveis totais de DARPP-32 após o tratamento com MGO, no CPF (Fig.13 A) e no HP (Fig.13 B). Contudo, no CPF, o tratamento com MGO promoveu uma diminuição da fosforilação do sítio Thr34 [$F(2, 21) = 0.3614$; $p < 0,05$] e aumento em Thr75 [$F(2, 23) = 4.248$; $p < 0,05$]. Ainda, no CPF a análise de correlação entre os níveis de fosforilação da Thr75/Thr34 demonstrou aumento na razão entre a fosforilação dos dois sítios de fosforilação, indicando a ativação de fosfatase intracelulares. Inversamente, no HP a fosforilação do sítio Thr34 apresentou um aumento e o sítio Thr75 não ocorreu

alteração significativa da sua fosforilação (Fig.13 B). Ainda, a análise estatística demonstrou aumento significativo no imunoconteúdo da proteína TH (12%) no CPF após o tratamento com 25 mg/kg de MGO, e nenhuma alteração foi observada no HP (Fig.13 C). Ademais, a maior dose de MGO (50 mg/kg) não induziu alterações nos níveis de TH em nenhuma das áreas cerebrais estudadas.

Figura 13. Efeitos da administração repetida de MGO sobre a fosforilação de DARPP-32 e imunoconteúdo de tirosina hidroxilase. Os animais foram tratados com MGO por 7 dias, nas concentrações indicadas. Vinte e quatro horas após a última administração, os tecidos foram removidos e analisados. (A e B) Análise da fosforilação dos resíduos Thr34 e Thr75 da proteína DARPP-32, no CPF (A) e HP (B), e suas respectivas análises de correlação da razão entre Thr75/Thr34. (C) Conteúdo de tirosina hidroxilase (TH), no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HP). A intensidade das bandas das formas fosforiladas de DARPP-32 foram normalizadas pelo conteúdo total da proteína DARPP-32. Ponceau-S foi utilizado como controle de carga de proteína para a análise da TH. Valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (8 – 10 animais por grupo). Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Holm-Sidak e Kruskal-Wallis. Diferenças significativas são indicadas como, * $p < 0.05$ quando comparado ao grupo controle.

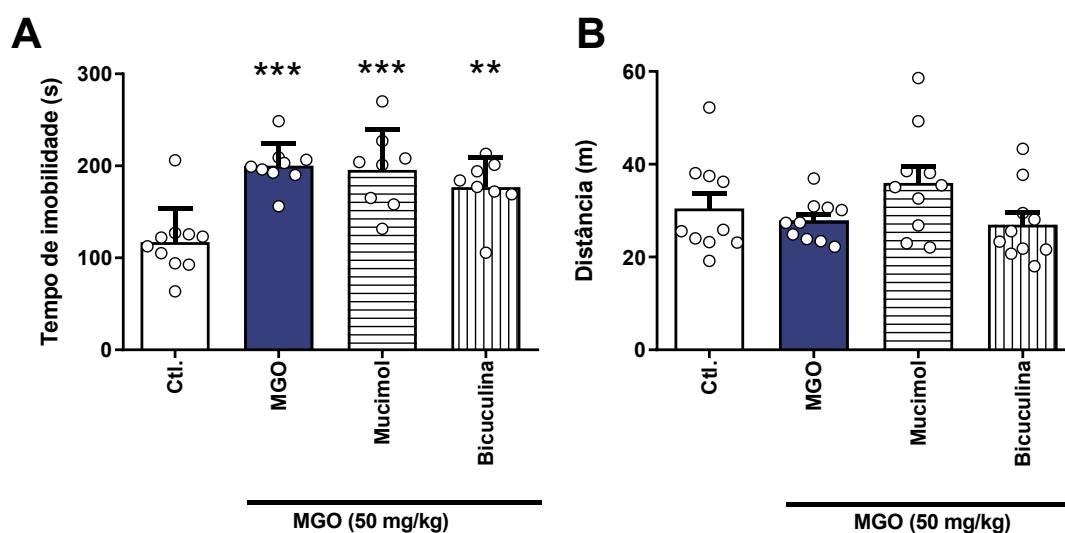


5.8 Efeitos do tratamento com metilglioxal juntamente com bicuculina e muscimol

A fim de elucidar o efeito tipo-depressivo induzido pela administração de MGO por 7 dias, realizamos tratamentos com MGO em conjunto com fármacos (Fig. 14) envolvidos na neurotransmissão GABAérgica. Os camundongos Swiss foram tratados por 7 dias somente com Salina (Ctl), ou MGO (50 mg/kg, i.p.), ou com uma combinação de MGO e um agonista de receptores GABA_A (muscimol, 0,5 mg/kg, i.p.), ou um antagonista de receptores GABA_A (bicuculina, 2 mg/kg, i.p.). Bicuculina e muscimol foram administrados diariamente, 30 minutos antes da administração de MGO. Vinte e quatro horas após a última administração de MGO os animais foram submetidos ao TSC e ao aparato do campo aberto. A ANOVA de uma via revelou diferenças estatisticamente

significantes [$F_{(3, 31)} = 0.6808$; $p < 0,001$]. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis mostrou que os animais tratados com MGO apresentaram um aumento significativo no tempo de imobilidade (Fig.14 A). Este efeito continuou a ser observado quando os animais foram tratados com a combinação MGO e muscimol ou bicuculina (Fig.14 A). Este resultado indica que o muscimol e a bicuculina foram incapazes de reverter o aumento no tempo de imobilidade induzido pelo MGO.

Figura 14. Tempo de imobilidade e atividade locomotora de camundongos tratados com MGO e fármacos. Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e atividade ambulatoria na arena do campo aberto foram avaliadas após 7 dias de administração de MGO (50 mg/kg) ou MGO e fármacos envolvidos na modulação de neurotransmissão. Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Kruskal-Wallis. Diferenças significativas estão indicadas como, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, quando comparadas ao grupo controle, # $p < 0,05$ quando comparadas ao grupo MGO.



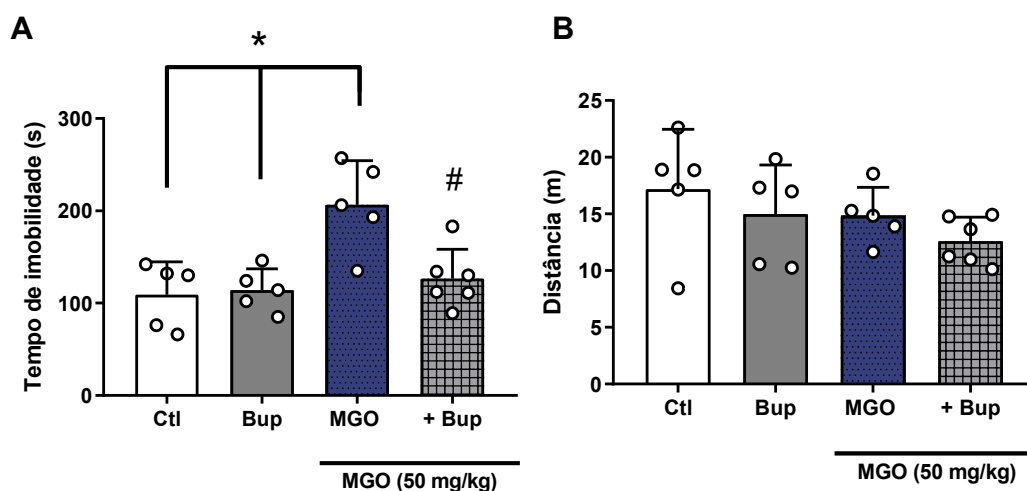
5.9 Efeitos do tratamento com metilglioxal juntamente com Bupropiona sobre as alterações comportamentais e níveis de monoaminas

Um grupo independente de animais recebeu a administração de bupropiona (BUP), um antidepressivo atípico, inibidor da recaptação de dopamina e noradrenalina. Os animais foram tratados por 12 dias com MGO (50 mg/kg), BUP (50 mg/kg) ou com a combinação de ambos (Fig. 15A). A ANOVA revelou ausência de efeito da BUP, mas revelou um efeito do tratamento com MGO e da interação MGO vs BUP [$F_{(3, 17)} = 0.4695$; $p < 0,01$]. O teste *post-hoc* Holm-Sidak revelou que o grupo de animais que recebeu a administração apenas de BUP apresentou tempo de imobilidade no TSC semelhante aos animais que receberam salina (Ctl). Os animais que receberam a administração de MGO

apresentaram um aumento no tempo de imobilidade no TSC quando comparados com o grupo controle. O grupo de animais que recebeu a coadministração de BUP e MGO, apresentaram tempo de imobilidade semelhante ao grupo controle no TSC, revertendo o aumento no tempo de imobilidade induzido pelo MGO.

O campo aberto foi utilizado para analisar alterações na atividade locomotora dos animais. A ANOVA não evidenciou efeito do MGO ou BUP [$F_{(3, 17)} = 0.5017$; $p > 0,05$] e nem da interação entre ambos. Não houve nenhuma alteração significativa na distância percorrida (Fig. 15B) nos animais tratados com Salina, BUP, MGO ou com a combinação de MGO e BUP.

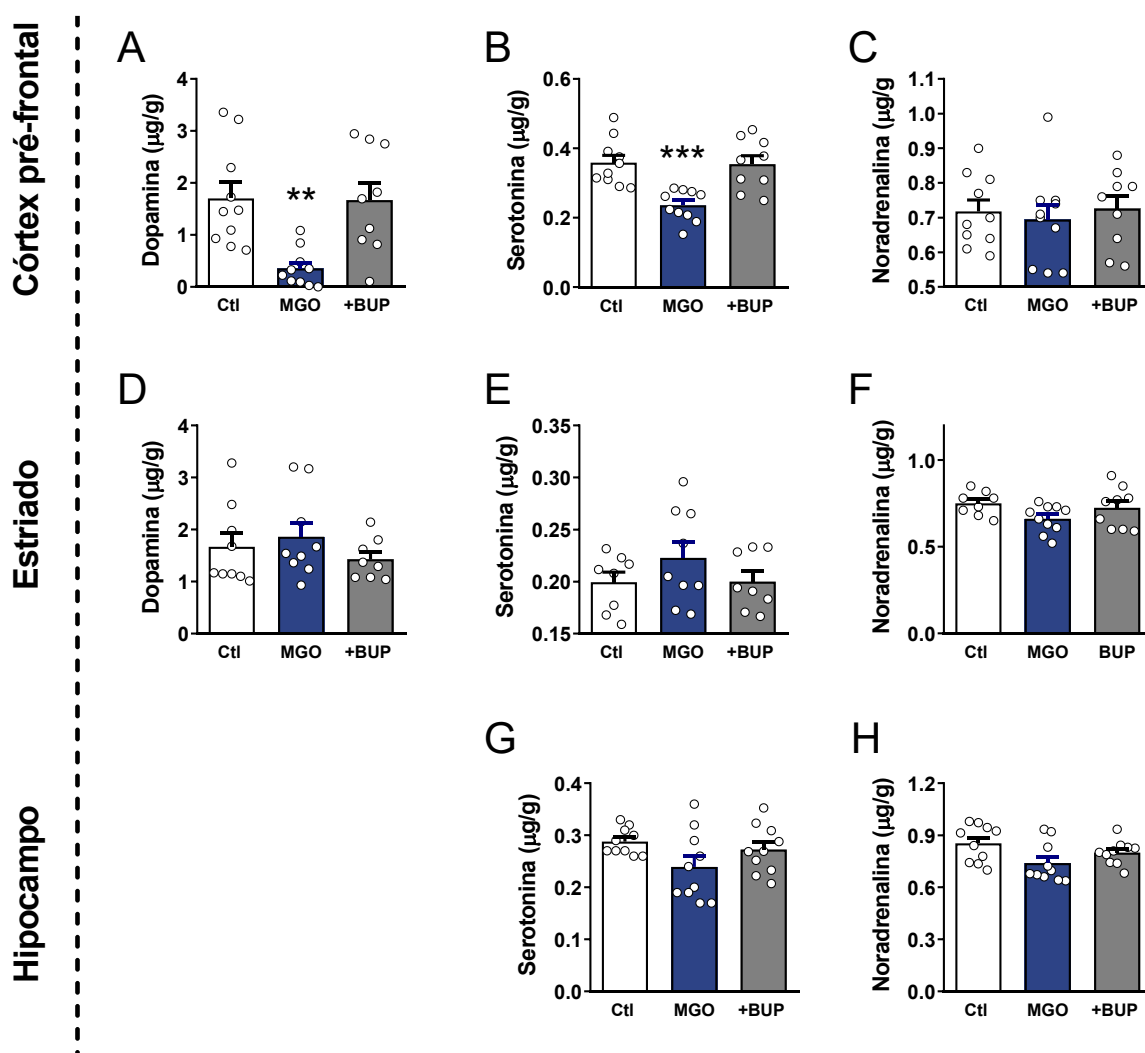
Figura 15. Tempo de imobilidade e atividade locomotora de camundongos tratados com MGO e/ou Bupropiona. Tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda e atividade ambulatoria no aparato do campo aberto foram avaliadas após 12 dias de administração de MGO (50 mg/kg), Bupropiona (BUP) (50 mg/kg) ou MGO e BUP (50 mg/kg, ambos). Os resultados foram avaliados por ANOVA e *post-hoc* de Kruskal-Wallis. Diferenças significativas estão indicadas como, * $p < 0.05$, quando comparadas ao grupo controle e ao grupo BUP, # $p < 0.05$ quando comparado ao grupo MGO.



Os níveis de monoaminas foram avaliados em animais tratados com Salina (Ctl), MGO, BUP ou com a combinação de ambos (Fig. 16). O MGO reduziu os níveis de DA no CPF [$F_{(2, 26)} = 3.393$; $p < 0,01$] (Fig. 16A), mas não no estriado (Fig. 16D), os níveis de DA no HP ficaram abaixo dos níveis detectáveis. Os níveis de 5-HT foram significativamente menores nos no CPF de animais tratado com MGO [$F_{(2,26)} = 1.058$; $p < 0,001$] (Fig. 16B), mas não no estriado (Fig. 16E) ou HP (Fig. 16G). Após o tratamento com MGO, os níveis de NA permaneceram inalterados CPF (Fig. 16C), estriado (Fig. 16F) e HP (Fig. 16H).

A coadministração de BUP com MGO foi capaz de impedir o decaimento nos níveis de DA (Fig. 16A) e 5-HT (Fig. 16B) no CPF. Os níveis de DA, 5-HT e NA nas outras estruturas, como o efeito do MG, permaneceram ao nível dos animais tratados com Salina (Ctl) (Fig. 16C-H).

Figura 16. Efeitos do pré-tratamento de Bupropiona sobre a administração repetida de MGO na depleção das concentrações de monoaminas. Análise das concentrações de dopamina (DA), serotonina (5-HT) e noradrenalina (NA), no córtex pré-frontal (CPF) (A – C), estriado (D – F) e hipocampo (HP) (G e H) após 12 dias de administração de MGO. Os valores de dopamina encontrados para o hipocampo estavam abaixo do limite de detecção. Valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (8 – 10 animais por grupo). Os resultados foram avaliados por ANOVA e post-hoc de Kruskal-Wallis. Diferenças significativas estão indicadas como, ** $p < 0.01$; *** $p < 0.01$ em relação ao grupo controle (Ctl).



6 DISCUSSÃO

Considerando os poucos estudos *in vivo* demonstrando os efeitos comportamentais induzidos pelo MGO, na avaliação do comportamento tipo-depressivo, elaboramos este protocolo de avaliação, que consiste em diferentes períodos de tempo [15 min (SZCZEPANIK et al., 2020b), 4 hrs, 7 dias] e em diferentes linhagens de camundongos (Swiss, C57BL/6 e Balb/C) no tratamento repetido por 7 dias. O efeito tipo-depressivo induzido pelo MGO é denotado através de observações comportamentais de camundongos submetidos ao TSC. De acordo, estudos têm demonstrado que modelos experimentais de depressão induzidos por estresse, agentes farmacológicos ou cirurgias, geram aumento no tempo de imobilidade neste teste, similar ao obtido em nosso estudo (ABELAIRA et al., 2013; CASTAGNÉ et al., 2011; CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005).

O TSC é um ensaio baseado na observação de camundongos à uma situação de desespero comportamental inescapável. Inicialmente, este teste foi proposto para o *screening* de novos agentes dotados de potencial antidepressivo. A administração de antidepressivos de distintas classes reduz o tempo de imobilidade no TSC (Steru et al., 1985). Entretanto, este teste pode apresentar resultados falsos positivos ou falso negativos. Por exemplo, drogas psicoestimulantes como a cocaína ou anfetamina podem reduzir o tempo de imobilidade dos animais, porém não exercem efeito antidepressivo observados no manejo clínico da depressão (RINCÓN-CORTÉS et al., 2018). Além disso, intervenções que são depressoras da ambulação dos animais, como por exemplo a utilização de alguns sedativos, aumentam o tempo de imobilidade, entretanto não geram comprometimentos no humor dos indivíduos (PITSIKAS et al., 2019). Para eliminar este viés, os testes preditivos de atividade antidepressiva são associados a testes de atividade locomotora, para excluir efeitos sobre esta (CAN et al., 2012).

No presente estudo, o efeito tipo-depressivo induzido pela administração de MGO não pode ser atribuída a alterações na atividade locomotora espontânea dos animais, uma vez que não houve nenhuma alteração na atividade ambulatoria dos mesmos, além destes resultados, protocolos semelhantes com o MGO também demonstraram o mesmo padrão de atividade ambulatoria (HANSEN et al., 2016a; SZCZEPANIK et al., 2020a, 2020b). Similar aos nossos resultados, os animais nocaute para a enzima Glo1 apresentaram comportamento tipo-depressivo (JANG et al., 2017), indicando que níveis elevados de MGO estão associados a um efeito depressogênico.

O tratamento com MGO pode ser capaz de induzir um efeito tipo-antidepressivo (BENTON et al., 2012; HAMBSCHE et al., 2010), em contradição aos resultados apresentados pelo nosso grupo (SZCZEPANIK et al., 2020b). E estudos investigaram o papel da Glo1 e mostraram uma correlação entre a sua expressão e o efeito tipo-antidepressivo em camundongos. Por exemplo, (BENTON et al., 2012) reportou que camundongos apresentando níveis aumentados de Glo1, exibiram comportamento tipo-depressivo. E, ainda, os dados apresentados por Hambusch e colaboradores (HAMBSCHE et al., 2010), reportaram uma diminuição do tempo de imobilidade (efeito tipo-antidepressivo) em camundongos que receberam no lado direito do terceiro ventrículo cerebral a administração de MGO (0,7 $\mu\text{mol/sítio}$, i.c.v. por infusão) por 6 dias consecutivos. Além destes, em um modelo de estresse crônico imprevisível, os ratos apresentaram uma diminuição de MGO, avaliado pela diminuição nos adutos MG-H1, e aumento na expressão de Glo1 no CPF e HP. Os autores demonstram um efeito tipo-antidepressivo induzido pela administração diária de 5 mM/kg/dia de MGO por 3 semanas, que foi atribuído a uma interação do MGO com o domínio extracelular do receptor TrkB, levando a uma ativação de cascatas de sinalização “downstream” a este receptor (WU et al., 2018).

Similar ao estudo de (GHOSH et al., 2006), o nosso estudo pontuou que quatro horas após uma única administração de MGO, os níveis séricos de MGO se encontram elevados. Ghosh e colaboradores (2006), estudando a farmacocinética da administração de MGO em camundongos, demonstrou que seu pico plasmático ocorre em torno de 4 hrs após o tratamento. No presente estudo, através de uma análise quantitativa dos valores de MGO, nós demonstramos que uma administração única de MGO (50 mg/kg, i.p.) dobrou os níveis plasmáticos de MGO. Similar aos dados demonstrados anteriormente, Distler e colaboradores (2012) também demonstraram um aumento nos níveis cerebrais de MGO logo após os camundongos terem recebido a administração i.p. de MGO (50-300 mg/kg). Na presente tese os níveis plasmáticos de MGO também foram avaliados 24 hrs após a última injeção diária, ao final de 7 dias de tratamento. Os nossos resultados reportaram que a administração de MGO por 7 dias não gerou diferenças estatísticas nos níveis plasmáticos de MGO. Este resultado indica que o aumento encontrado em 4 h após a administração de MGO, desaparece em 24h. Nós também sugerimos que devido a sua alta reatividade, o MGO administrado foi em grande parte degradado pelo sistema das glioxalases ou conjugado à outras proteínas em um período inferior à 24 hrs (THORNALLEY, 2008; DEGEN et al., 2013). Além disso, foi demonstrado, que sob

condições fisiológicas, 70% do MGO livre reage com a albumina sérica bovina dentro de um período de 15 hrs (LO et al., 1994)

O MGO é um dos principais agentes de glicação, o que pode levar à formação de AGEs (LO et al., 1994; THORNALLEY, 2003; 2005; THORNALLEY & RABBANI, 2011; BROWNLEE, 2001; BEISSWENGER, 2013). Além disso, o MGO induz estresse oxidativo, danos celulares e apoptose que podem prejudicar a função neuronal (DASURI; ZHANG; KELLER, 2013; KALAPOPOS, 2008; LOH et al., 2006). O aduto MG-H1 é um dos principais AGEs gerados pelo tratamento com MGO, e provavelmente poderia estar envolvido nas alterações comportamentais observadas neste estudo, como descrito por Wu e colaboradores (WU et al., 2018). A metodologia de tratamentos repetidos por 7 dias demonstra um aumento significativo na marcação de um dos adutos do MGO com proteínas (MG-H1) formados pela reação do MGO com resíduos de arginina, no CPF do grupo de animais tratados com a dose de 25 mg/kg. Embora os resultados presentes neste trabalho não foram capaz de denotar aumento significativo na formação de AGEs na dose de 50 mg/kg, a via de sinalização AGE/RAGE pode ser descrita com frequência em uma variedade de doenças neurodegenerativas e eventos de disfunção cognitiva (KODL; SEAQUIST, 2008; KÖNIG; VICENTE MIRANDA; OUTEIRO, 2018; MIRANDA; OUTEIRO, 2010; YAMAGISHI et al., 2008).

O MGO pode prontamente gerar adutos MG-H1 que podem se ligar ao RAGE (THORNALLEY, 2008; XUE et al., 2014). Como as proteínas modificadas por MGO encontradas no tecido ou plasma e podem se ligar ao RAGE, isso pode levar à ativação da resposta inflamatória mediada pela sinalização dependente do receptor, que pode estar associada a doenças neurodegenerativas e transtornos psiquiátricos (HOFMANN et al., 1999; XUE et al., 2014; SCHMIDT et al., 1995; FANG et al., 2010). Dessa forma, uma vez que a ativação do RAGE modula positivamente a sua própria expressão, uma resposta inflamatória gerada periféricamente pelo MGO a partir de um tratamento repetido de 7 dias, poderia amplificar seus efeitos, e dessa forma contribuir para as alterações demonstradas no SNC (SCHLEICHER & FRIESS, 2007). Um trabalho recente do nosso grupo também evidenciou que o tratamento com um antagonista seletivo de RAGE (FPS-ZM1) que é capaz de permear a barreira hematoencefálica, impediu as alterações comportamentais induzidas pela administração de MGO (SZCZEPANIK et al., 2020). De forma similar, camundongos C57BL/6 que receberam uma administração de MGO (340 mM) na SNPc, demonstraram um incremento significativo na marcação de um aduto de

MGO, N ϵ -carboximetilisina ligada a α -sinucleína (CML-syn), (SHARMA; RAO; KALIVENDI, 2019^a).

A respeito dos animais nocaute para Glo1, em que os autores não encontraram aumento na marcação de adutos de MGO nos tecidos cerebrais, os autores discutem a possibilidade de erros metodológicos e sugerem o uso de técnicas mais eficientes de análise para a quantificação destes adutos de MGO, como por exemplo, o uso de HPLC acoplado ao espectrômetro de massa (LC-MS) (JANG et al., 2017). No entanto, estudos *in vitro* utilizando células S2, SH-SY5Y ou HT22 incubadas com MGO, aumentaram os níveis de N ϵ -carboxietilisina (CEL), e MG-H1 (DAFRE et al., 2015a; NISHIMOTO et al., 2017; PFAFF et al., 2017; THORNALLEY, 2003).

A Glo1 representa a enzima limitante para a eliminação de MGO, impedindo grande parte dos seus efeitos, sendo assim, uma diminuição dos seus níveis gera um aumento dos níveis intracelulares de MGO (SHIN et al., 2014). Entretanto, considerando que o organismo tem outros mecanismos de detoxificação de α -oxoaldeídos, os quais podem estar exercendo mecanismos de compensação, como a proteína DJ-1, recentemente classificada como uma enzima tipo-glioxalase (RICHARME et al., 2015a), e as enzimas da família das AKR (RABBANI; THORNALLEY, 2008), nós avaliamos a atividade da Glo1 e da AKR nos animais tratados com MGO. Muito embora tenha sido encontrada uma pequena diminuição (12%) na atividade da AKR no HP dos animais que receberam o tratamento com MGO (50 mg/kg), esta diferença estatística pode não representar relevância biológica nos mecanismos de detoxificação do MGO descritos. Ainda, para elucidar completamente os mecanismos participantes na eliminação do MGO seria necessário acessar a atividade enzimática da DJ-1 e das enzimas álcool desidrogenases.

Em pacientes diabéticos, não só os níveis plasmáticos de MGO estão elevados (THORNALLEY, 1993; KONG et al, 2014), mas também o conteúdo celular de enzimas envolvidas na detoxificação de α -oxoaldeídos (AKRs, Glo1 e Glo2), as quais também apresentaram níveis elevados em células mono- e polimorfonucleares (RATLIFF et al., 1996). Nos estudos de Dafre e colaboradores (2015) e Schmitz et al. (2017) foi demonstrado que o MGO tem um efeito dual. Em baixas concentrações e curto prazo (horas), o MGO pode induzir fortemente a Glo2, mas em altas concentrações e maior tempo de exposição, o MGO pode inibir a Glo1 e diminuir os níveis de Glo2. Foi ainda posteriormente demonstrado que essa diminuição nos níveis de Glo2 foi mediada por autofagia dependente da ativação da proteína ativada por adenosina monofosfato (DAFRE; SCHMITZ; MAHER, 2017; SCHMITZ et al., 2017).

A injeção i.c.v. repetida de MGO (0,7 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$) durante 5 dias induziu um aumento nos níveis de RNAm e proteína da Glo1 no encéfalo de camundongos (HAMBSCHE et al., 2010). Em outro estudo com ratos, após administrações repetidas de MGO (3 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$, i.c.v.) por 6 dias, a atividade enzimática da Glo1 não foi alterada no CPF, e apenas um aumento transiente no HP foi observado 21 dias após a interrupção do tratamento (HANSEN et al., 2016). No presente estudo, o tratamento com MGO durante 7 dias levou a aumento significativo na expressão da Glo2 no CPF. Em um protocolo semelhante ao realizado por nosso grupo de estudo, porém por um período mais longo de tratamento (11 dias), a administração de MGO (10 e 50 mg/kg) foi capaz de diminuir os níveis de Glo1 no HP e CPF (SZCZEPANIK et al., 2020b). Relacionado a isso, os níveis de Glo1 foram menores em amostras de sangue de pacientes diabéticos com nefropatia (HAMOUDANE et al., 2015).

Estudos prévios em células HT22 demonstraram que o MGO foi capaz de diminuir os níveis e a atividade Trx1, assim como, a atividade da TrxR (DAFRE et al., 2015). Ainda, em células HT22 e fatias hipocâmpais de camundongos, o tratamento com MGO foi capaz de depletar os níveis de GSH e diminuição na atividade da GR. Apesar da indução significativa do conteúdo de TrxR e GR em células HT22 e fatias hipocâmpais, o correspondente aumento na atividade destas enzimas não foi observado (SCHMITZ et al., 2017). A forte glicação da TrxR (DAFRE et al., 2015b), foi indicado como possíveis mecanismos de inibição da GR e TrxR pelo MGO. Estudos *in vitro* com enzimas purificadas demonstraram o potencial inibitório do MGO sobre a GR e TrxR (Bion, 2020). Em nossos estudos, a administração repetida de 50 mg/kg de MGO por 7 dias foi capaz de induzir um aumento significativo nos níveis GR no HP. Entretanto, não houve alteração na atividade enzimática da GR, sugerindo uma inibição de sua atividade enzimática. O conteúdo total de GSH não sofreu alterações, assim como, o imunocônto de GCL e a atividade e expressão da TrxR, indicando que o tratamento por 7 dias com MGO 50 mg/kg não é capaz de afetar estas defesas antioxidantes.

O MGO é capaz de afetar o conteúdo de monoaminas (DE ALMEIDA et al., 2020; DENG et al., 2012; TANG; HU; SANG, 2020; XIE et al., 2015), sendo assim, os níveis de DA, NA e 5-HT foram quantificados no HP e no CPF dos animais tratados repetidamente com MGO. Em uma compilação de dados de 3 experimentos (N= 18-22), é possível verificar que o tratamento com MGO por 7-12 dias leva a diminuição nos níveis de DA no CPF (-54%) e 5-HT no CPF (-33%) e HP (-16%). A diminuição nos níveis de DA no CPF são marcantes. Entretanto, a diminuição de 5-HT no CPF e HP são menos

expressivos e muitas vezes não detectados em experimentos com número reduzido de animais, bem como, alterações significativas nos níveis de 5-HT foram encontradas apenas no protocolo de administração de 12 dias. Desta forma, o objetivo do nosso trabalho foi caracterizar os efeitos do MGO sobre os mecanismos relacionados às alterações dos níveis de DA que estão presentes em ambos protocolos de administração repetida.

O grupo tratado com a maior dose de MGO (50 mg/kg) apresentou níveis menores de DA (-54%) no CPF quando comparado ao grupo controle. Os animais que receberam a maior dose de MGO também demonstram uma diminuição abrupta dos níveis de dopamina em um tratamento por 11 dias (SZCZEPANIK et al., 2020b). É possível que os menores níveis de DA se correlacionem com o comportamento tipo-depressivo demonstrado no TSC. É importante ressaltar que, até onde se sabe, estas são as primeiras evidências *in vivo* da possível ligação do MGO com níveis diminuídos de DA.

É importante salientar que este estudo é o primeiro a analisar os níveis de TH *in vivo*, após a administração i.p. de MGO. A análise da enzima TH por Western blot demonstrou um aumento significativo de seus níveis no CPF de camundongos tratados com 25 mg/kg, mas não na dose de 50 mg/kg. O tratamento com MGO por 7 dias não alterou os níveis de TH no CPF. Efeito similar ao encontrado no CPF foi demonstrado em células de neuroblastoma SH-SY5Y, em que o tratamento com até 400 μ M de MGO foi capaz de aumentar os níveis de TH (XIE et al., 2014). Contudo, em um protocolo de administração intra-estriatal de MGO, o número de neurônios positivos para a marcação por imuno-histoquímica da TH apresentou uma diminuição, assim como, os níveis de imunoconteúdo desta proteína (SHARMA; RAO; KALIVENDI, 2019^a).

Os níveis de conteúdo total da DARPP-32 não apresentaram alterações no CPF e HP após o tratamento com MGO (50 mg/kg). Contudo, a administração de MGO promoveu uma diminuição na fosforilação do sítio Thr34, enquanto que aumentou a fosforilação do sítio Thr75, o que resultou em uma razão maior na correlação realizada entre os sítios Thr75/Thr34 no CPF. Ademais, ainda que no HP a fosforilação do sítio Thr34 foi aumentada, o tratamento com MGO não foi capaz de induzir alterações no sítio Thr75 e, portanto, não houve alteração da razão Thr 75/Thr34, indicando que o MGO afeta preferencialmente o CPF. De forma interessante, animais submetidos ao protocolo de derrota social também apresentaram aumento na fosforilação da Thr75 do CPF, mas não na amígdala e HP (JIN et al., 2015).

DARPP-32 é uma importante fosfoproteína, responsável pela regulação de diversos sistemas de neurotransmissão (SVENNINGSSON et al., 2004) e que tem sido apontada como uma proteína responsável pelos efeitos antidepressivos induzidos pela administração de fluoxetina (SVENNINGSSON et al., 2002^a). A fosforilação de sítios específicos, como a Thr34, que faz com que a DARPP-32 cause a inibição da fosfatase 1 (SVENNINGSSON et al., 2004). Ou ainda, a fosforilação da Thr75 que causa um efeito antagônico, e diminui a atividade da DARPP-32 sobre outras proteínas. Os dados apresentados neste trabalho indicam uma inibição da sinalização de DARPP-32 no CPF, que pode causar uma diminuição na inibição da atividade da proteína fosfatase 1. Este mecanismo pode ser consequência da diminuição de DA observada no CPF, resultado da inibição da sinalização dopaminérgica e aumento na razão Thr75/Thr34. Entretanto, é necessário salientar a necessidade de novos experimentos, como no protocolo 12 dias, para a visualização prolongada às alterações nesta via de sinalização celular.

Contudo, é importante mencionar que a sinalização glutamatérgica também pode estar envolvida nesta resposta, devido à capacidade da DARPP-32 em modular esta via de neurotransmissão (YGER; GIRAULT, 2011), aspecto o qual não foi tratado neste trabalho. O MGO exerce efeito agonista sobre os receptores GABA_A (DISTLER et al., 2012c), e a modulação nos níveis de dopamina pode afetar estes receptores (HOERBELT; LINDSLEY; FLECK, 2015). Baseado nestas evidências, a depleção de DA e a modulação da ativação de receptores GABA_A pelo MGO pode ser responsável pelas alterações observadas na sinalização da DARPP-32.

Considerando que o MGO pode agir como um agonista parcial competitivo de receptores GABA_A (DISTLER et al., 2012^a), não somente o acúmulo patológico de MGO poderia exercer seus efeitos no SNC, porém, espera-se que a sua produção endógena também possa assumir algum papel. Além disso, verificou-se que em altas doses, e de forma aguda, o MGO pode causar depressão locomotora, ataxia e hipotermia em camundongos, o que sugere a ativação de receptores GABAérgicos (DISTLER et al., 2012a). O MGO é gerado intracelularmente tanto por neurônios quanto por células gliais, e como é permeável à membrana plasmática, pode ativar os receptores GABA_A de maneira parácrina (DISTLER et al., 2012a).

Achados prévios do nosso grupo (SZCZEPANIK et al., 2020b) indicam que doses mais altas de MGO em uma única administração (80 e 200 mg/kg) são capazes de causar hipolocomoção dos animais, corroborando com os dados da literatura. Isso indica que, após a injeção sistêmica, os efeitos agudos do MGO sobre a atividade locomotora surgem

apenas quando em doses superiores a 50 mg/kg, em camundongos. Todos estes efeitos mencionados podem ser considerados característicos de ação inibitória no sistema nervoso, que podem ser desencadeadas pela ativação dos receptores GABA_A (DISTLER et al., 2012b; KULLMANN et al., 2005).

A dopamina é um neurotransmissor amplamente associado a vias de recompensas mesolímbicas que modulam comportamentos de hedonia. Desta forma, vem sendo proposto que um aumento na neurotransmissão dopaminérgica poderia estar atuando terapêuticamente frente à anedonia, principal sintoma atribuído à depressão (D'AQUILA et al., 2000). Por fim, um grupo experimental de animais recebeu apenas a administração de BUP e o protocolo de pré-tratamento com BUP. Nossos resultados estão sugerindo que o pré-tratamento com a BUP foi capaz de impedir o efeito tipo-depressivo induzido pela administração de MGO. Como já tínhamos pontuado, a possível modulação de neurotransmissores na modulação deste comportamento analisado, foi realizada a quantificação das monoaminas após 12 administrações consecutivas dos compostos mencionados acima. Os níveis de dopamina e serotonina apresentaram uma diminuição significativa em seus níveis no grupo de animais que receberam apenas a administração de MGO, e o pré-tratamento com BUP foi capaz de reverter as reduções de dopamina e serotonina observadas no CPF.

Importante ressaltar que, os mecanismos envolvidos na depleção de neurotransmissores induzida pelo tratamento com o MGO ainda necessitam de mais investigações. Como mencionado anteriormente, autores descrevem a capacidade do MGO de reagir com a DA, 5-HT e NA (SZENT-GYÖRGYI; MCLAUGHLIN, 1975), podendo desencadear a formação de diversos produtos tóxicos. Estudos recentes caracterizam a formação de diversos produtos altamente tóxicos a partir da reação com DA e 5-HT (SACHIN et al., 2018; TANG; HU; SANG, 2020; XIE et al., 2015). Salientando a alta reatividade do MGO e, sua capacidade de reagir com estas aminas e resíduos de aminoácidos, um aumento nas concentrações de MGO, após um protocolo de administração prolongado seria um dos mecanismos responsáveis pelas alterações descritas aqui.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados pode-se concluir que:

- Administrações consecutivas de MGO são capazes de induzir um efeito tipo-depressivo nas linhagens de camundongos *Swiss*, *C57BL/6* e *BALB/C*;
- A administração de MGO foi capaz de elevar os níveis plasmáticos de MGO após 4 hrs, mas não 24 hrs após o tratamento por 7 dias consecutivos;
- O CPF e HP de Camundongos *Swiss* tratados com MGO na dose de 25 mg/kg por 7 dias demonstram aumento da quantidade de proteínas glicadas (aduto MG-H1), indicando que os eventos de glicação que podem ser desencadeados por concentrações elevadas de MGO;
- A dose de 50 mg/kg de MGO é capaz de elevar o imunocontéudo de Glo2 no CPF e diminuir a atividade enzimática da AKR no HP, corroborando com os efeitos de resposta celular demonstrado *in vitro* e *in vivo*;
- A administração de 50 mg/kg de MGO por 7 dias foi capaz de induzir aumento no imunocontéudo de GR, mas não na TrxR, GCL e GSH porém, sem alteração das atividades enzimáticas GR e TrxR, indicando que o tratamento utilizado tem pouco efeito sobre estes parâmetros.
- O tratamento de 7 dias com MGO foi capaz de induzir diminuição nos níveis de dopamina do CPF e de serotonina no CPF e HP de camundongos *Swiss*. Sugerindo possíveis novos mecanismos de ação do MGO no SNC, capaz de agir sobre o sistema dopaminérgico e serotoninérgico, influenciando nas alterações comportamentais demonstradas;
- O protocolo de administrações diárias de 50 mg/kg de MGO induziu uma diminuição da fosforilação do sítio Thr34 de DARPP-32 no CPF e um aumento da fosforilação do sítio Thr75 apenas no CPF. No HP, o protocolo experimental induziu um aumento na fosforilação do sítio Thr34 de DARPP-32. Indicando um possível mecanismo de ação sobre a sinalização da cinase DARPP32;
- A administração de MGO na dose de 25 mg/kg foi capaz de aumentar o imunocontéudo de TH no CPF;

- O pré-tratamento de Bupropiona foi capaz de impedir a diminuição dos neurotransmissores DA e 5-HT no CPF e, de impedir o aumento no tempo de imobilidade induzido pelo MGO no TSC, corroborando com a hipótese de ação do MGO sobre o sistema monoaminérgico.

ANEXOS

ANEXO 1 – Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC (CEUA/UFSC)



Comissão de Ética no
Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Mecanismos de ação do metilglicoxal, uma toxina endógena", protocolada sob o CEUA nº 7245210616, sob a responsabilidade de **Alcir Luiz Dafre e equipe; Barbara dos Santos; Gudrian Ricardo Lopes de Almeida; Jozimar Carlos Szczepanik** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 07/10/2016.

We certify that the proposal "Action mechanisms of methylglyoxal, an endogenous toxin", utilizing 1200 Heterogenics mice (males and females), protocol number CEUA 7245210616, under the responsibility of **Alcir Luiz Dafre and team; Barbara dos Santos; Gudrian Ricardo Lopes de Almeida; Jozimar Carlos Szczepanik** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 10/07/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **05/2016 a 04/2020** Área: **Bioquímica**

Origem: **CCB - Biotério de Roedores e animais aquáticos do Labdef**
Espécie: **Camundongos heterogênicos** sexo: **Machos e Fêmeas** idade: **60 a 120 dias** N: **1200**
Linhagem: **Swiss** Peso: **25 a 50 g**

Resumo: Existe forte correlação entre o mal funcionamento sistema de degradação do metilglicoxal (MGO) e o desenvolvimentos da doença neurodegenerativas. O Metilglicoxal (MG) é um alfa-cetoaldeído de três carbonos formado por diferentes rotas metabólicas, sendo a glicólise a principal delas. O cérebro dos pacientes com a doença de Alzheimer apresentam elevados níveis de produtos avançados de glicação (AGE), menores níveis de glutathione e estresse oxidativo, os quais são estritamente correlacionados como os níveis de MGO. Recentemente, mostrou-se que a proteína DJ-1 possui atividade glyoxalase, e a ausência desta atividade tem sido considerada como uma das causas de uma doença autossomal rara da doença de Parkinson. Além disto, o envelhecimento está associado a uma menor expressão da glicoxalase 1 (Glo1) em roedores e humanos. Estes exemplos realçam a relevância em se descobrir novos mecanismo de toxicidade do MGO. Por outro lado, em células HT22, o MGO modula a via o fator de transcrição Nrf2, induzindo a expressão de defesas antioxidantes. Diversos estudos tem identificado a associação entre a expressão da Glo1 e fenótipos comportamentais em várias linhagens de camundongos. As evidências de alterações na expressão de Glo1 ou que níveis de MG estariam associados a modulação do comportamento tipo-ansioso e tipo-depressivo em roedores. Sendo assim, propomos um aprofundamento nos estudos dos mecanismo de ação do MGO, envolvendo processos autofágicos.

Local do experimento: Departamento de Bioquímica, CCB, UFSC

Florianópolis, 07 de outubro de 2016

Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Aderbal Silva Aguiar Júnior
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

ANEXO 2

Publicações que fazem parte desta tese de Doutorado

1. SCZEPANIK, J.C., **ALMEIDA, G.R.L.**, CUNHA, M.P., DAFRE, A.L. Repeated Methylglyoxal Treatment Depletes Dopamine in the Prefrontal Cortex, and Causes Memory Impairment and Depressive-Like Behavior in Mice. **Neurochemical Research**, 45(2):354-370, 2020 Feb. DOI: 10.1007/s11064-019-02921-2.
2. DE ALMEIDA, G. R. L. et al. Methylglyoxal-Mediated Dopamine Depletion, Working Memory Deficit, and Depression-Like Behavior Are Prevented by a Dopamine/Noradrenaline Reuptake Inhibitor. **Molecular Neurobiology**, 4 out. 2020.

Publicações em colaboração durante a realização da Tese de Doutorado

1. DOS SANTOS, B; SCHMITZ, A. E.; **DE ALMEIDA, G. R. L.**; DE SOUZA, L. F.; SCZEPANIK, J. C.; NUNES, E. A.; BRUNETTA, H. S.; MACK, J. M.; PREDIGER, R. D.; CUNHA, M. P.; DAFRE, A. L. Fructose Intake Impairs Cortical Antioxidant Defenses Allied to Hyperlocomotion in Middle-Aged C57BL/6 Female Mice. **Neurochemical Research**, 2020.
2. ZIMATH, P. L; DALMAGRO, A. P.; RIBEIRO, T. C., DA SILVA, R. M. L.; ALMEIDA, G. R. L. Antidepressant-like effect of hydroalcoholic extract from barks of *Rapanea ferruginea*: Role of monoaminergic system and effect of its isolated compounds myrsinoic acid A and B. **Behavioural Brain Research**, v. 389, p. 112601, 1 jul. 2020.
3. SCZEPANIK, J.C., GARCIA, A.F., **DE ALMEIDA, G.R.L.**, et al (2020) Protective effects against memory impairment induced by methylglyoxal in mice co-treated with FPS-ZM1, an advanced glycation end products receptor antagonist. **Acta Neurobiol Exp** (Wars). DOI: 10.21307/ane-2020-033.

REFERÊNCIAS

- ABELAIRA, H. M. et al. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 35, p. S112–S120, 2013.
- AHMED, N. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 67, n. 1, p. 3–21, jan. 2005.
- AHMED, S. et al. Neuroadaptations in the Striatal Proteome of the Rat Following Prolonged Excessive Sucrose Intake. **Neurochemical Research**, v. 39, n. 5, p. 815–824, 1 maio 2014.
- ALI, S. et al. The prevalence of co-morbid depression in adults with Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association**, v. 23, n. 11, p. 1165–1173, nov. 2006.
- ALLAMAN, I.; BÉLANGER, M.; MAGISTRETTI, P. J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, p. 23, 2015.
- ALLEN, R. E.; LO, T. W. C.; THORNALLEY, P. J. Purification and characterisation of glyoxalase II from human red blood cells. **European Journal of Biochemistry**, v. 213, n. 3, p. 1261–1267, 1 maio 1993.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th ed, Washington, DC, 2013**. [s.l.: s.n.].
- ANGELONI, C.; ZAMBONIN, L.; HRELIA, S. **Role of Methylglyoxal in Alzheimer's Disease**. Review Article. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/238485/>>. Acesso em: 21 jul. 2020.
- BALU, D. T. et al. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments. **Brain Research**, v. 1211, p. 37–43, 23 maio 2008.
- BARSKI, O. A.; TIPPARAJU, S. M.; BHATNAGAR, A. The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification. **Drug Metabolism Reviews**, v. 40, n. 4, p. 553–624, 2008.
- BEISSWENGER, B. G. K. et al. Ketosis leads to increased methylglyoxal production on the Atkins diet. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1043, p. 201–210, jun. 2005.
- BEISSWENGER, P. J. et al. Metformin reduces systemic methylglyoxal levels in type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 48, n. 1, p. 198–202, jan. 1999.
- BÉLANGER, M. et al. Role of the Glyoxalase System in Astrocyte-Mediated Neuroprotection. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 50, p. 18338–18352, 14 dez. 2011.
- BELUJON, P.; GRACE, A. A. Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 12, p. 1036–1046, 29 jun. 2017.
- BENTON, C. S. et al. Evaluating genetic markers and neurobiochemical analytes for fluoxetine response using a panel of mouse inbred strains. **Psychopharmacology**, v. 221, n. 2, p. 297–315, maio 2012a.

- BIBB, J. A. et al. Phosphorylation of DARPP-32 by Cdk5 modulates dopamine signalling in neurons. **Nature**, v. 402, n. 6762, p. 669–671, dez. 1999.
- BIESSELS, G. J. et al. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. **The Lancet. Neurology**, v. 5, n. 1, p. 64–74, jan. 2006.
- BILICI, M. et al. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. **Journal of Affective Disorders**, v. 64, n. 1, p. 43–51, abr. 2001.
- BIRKENHÄGER, T. K.; MOLEMAN, P.; NOLEN, W. A. Benzodiazepines for depression? A review of the literature. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 10, n. 3, p. 181–195, set. 1995.
- BOKU, S. et al. Neural basis of major depressive disorder: Beyond monoamine hypothesis. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 72, n. 1, p. 3–12, 2018.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 7 maio 1976.
- BRANCHI, I. et al. Antidepressant Treatment Outcome Depends on the Quality of the Living Environment: A Pre-Clinical Investigation in Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 30 abr. 2013.
- BRAUN, L. et al. Methylglyoxal and cell viability. **The International Journal of Biochemistry**, v. 26, n. 8, p. 987–990, ago. 1994.
- BRENE, S. et al. Expression of mRNAs encoding ARPP-16/19, ARPP-21, and DARPP-32 in human brain tissue. **Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 3, p. 985–998, 1 mar. 1994.
- BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 813–820, 13 dez. 2001.
- BUNN, H. F. et al. Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A1c. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 67, n. 1, p. 103–109, 3 nov. 1975.
- CAI, Z. et al. Role of RAGE in Alzheimer's Disease. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 36, n. 4, p. 483–495, maio 2016.
- CALABRESE, G.; MORGAN, B.; RIEMER, J. Mitochondrial Glutathione: Regulation and Functions. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 27, n. 15, p. 1162–1177, 20 nov. 2017.
- CAN, A. et al. The Tail Suspension Test. **Journal of Visualized Experiments : JoVE**, n. 59, 28 jan. 2012.
- CAPRA, J. C. et al. Antidepressant-like effect of scopoletin, a coumarin isolated from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice: evidence for the involvement of monoaminergic systems. **European Journal of Pharmacology**, v. 643, n. 2–3, p. 232–238, 25 set. 2010.
- CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. **Methods in Enzymology**, v. 113, p. 484–490, 1985.

- CASTAGNÉ, V. et al. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. **Current Protocols in Neuroscience**, v. Chapter 8, p. Unit 8.10A, abr. 2011.
- CASTRO, M. C. et al. Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid. **Life Sciences**, v. 137, p. 1–6, 15 set. 2015.
- CHEN, A. C. et al. ECS-Induced mossy fiber sprouting and BDNF expression are attenuated by ketamine pretreatment. **The Journal of ECT**, v. 17, n. 1, p. 27–32, mar. 2001.
- CHEN, F. et al. Role for glyoxalase I in Alzheimer's disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 20, p. 7687–7692, 18 maio 2004.
- CHEN, G. et al. Association Between Serum Endogenous Secretory Receptor for Advanced Glycation End Products and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus with Combined Depression in the Chinese Population. **Diabetes Technology & Therapeutics**, v. 14, n. 10, p. 936–942, 2 ago. 2012.
- CHEN, S. et al. Association of depression with pre-diabetes, undiagnosed diabetes, and previously diagnosed diabetes: a meta-analysis. **Endocrine**, v. 53, n. 1, p. 35–46, jul. 2016.
- CHENG, Z. et al. Reactivity of thioredoxin as a protein thiol-disulfide oxidoreductase. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 9, p. 5768–5783, 14 set. 2011.
- CIPRIANI, A. et al. Comparative efficacy and acceptability of 12 new-generation antidepressants: a multiple-treatments meta-analysis. **Lancet (London, England)**, v. 373, n. 9665, p. 746–758, 28 fev. 2009.
- COLANTUONI, C. et al. Age-related changes in the expression of schizophrenia susceptibility genes in the human prefrontal cortex. **Brain Structure and Function**, v. 213, n. 1, p. 255–271, 1 set. 2008.
- COLLINS, M. A.; NEAFSEY, E. J. Potential neurotoxic “agents provocateurs” in Parkinson's disease. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 24, n. 5, p. 571–577, out. 2002.
- COPPEN, A. J.; DOOGAN, D. P. Serotonin and its place in the pathogenesis of depression. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 49 Suppl, p. 4–11, ago. 1988.
- COUTO, N.; WOOD, J.; BARBER, J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 95, p. 27–42, jun. 2016.
- CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 238–245, maio 2002.
- CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4–5, p. 571–625, 2005.
- DAFRE, A. L. et al. Methylglyoxal, the foe and friend of glyoxalase and Trx/TrxR systems in HT22 nerve cells. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 89, p. 8–19, dez. 2015a.

DAFRE, A. L.; SCHMITZ, A. E.; MAHER, P. Methylglyoxal-induced AMPK activation leads to autophagic degradation of thioredoxin 1 and glyoxalase 2 in HT22 nerve cells. **Free radical biology & medicine**, v. 108, p. 270–279, jul. 2017.

D'AQUILA, P. S. et al. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **European Journal of Pharmacology**, v. 405, n. 1–3, p. 365–373, 29 set. 2000.

DASURI, K.; ZHANG, L.; KELLER, J. N. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. **Free Radical Biology and Medicine**, Neurodegeneration. v. 62, p. 170–185, 1 set. 2013.

DE ALMEIDA, G. R. L. et al. Methylglyoxal-Mediated Dopamine Depletion, Working Memory Deficit, and Depression-Like Behavior Are Prevented by a Dopamine/Noradrenaline Reuptake Inhibitor. **Molecular Neurobiology**, 4 out. 2020.

DE BENEDETTO, G. E. et al. A rapid and simple method for the determination of 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, norepinephrine, dopamine, and serotonin in mouse brain homogenate by HPLC with fluorimetric detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 98, p. 266–270, set. 2014.

DEANE, R. et al. A multimodal RAGE-specific inhibitor reduces amyloid β -mediated brain disorder in a mouse model of Alzheimer disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 4, p. 1377–1392, abr. 2012.

DENG, Y. et al. Occurrence and distribution of salsolinol-like compound, 1-acetyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (ADTIQ) in parkinsonian brains. **Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)**, v. 119, n. 4, p. 435–441, abr. 2012.

DISTLER, M. G. et al. Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABAA receptor agonist methylglyoxal. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 6, p. 2306–2315, jun. 2012a.

DISTLER, M. G. et al. Glyoxalase 1 and its substrate methylglyoxal are novel regulators of seizure susceptibility. **Epilepsia**, v. 54, n. 4, p. 649–657, 1 abr. 2013.

DISTLER, M. G.; PALMER, A. A. Role of Glyoxalase 1 (Glo1) and methylglyoxal (MG) in behavior: recent advances and mechanistic insights. **Behavioral and Psychiatric Genetics**, v. 3, p. 250, 2012.

DOWLATI, Y. et al. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. **Biological Psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 446–457, 1 mar. 2010.

DUMAN, R. S. Depression: a case of neuronal life and death? **Biological Psychiatry**, v. 56, n. 3, p. 140–145, 1 ago. 2004.

DUMAN, R. S. Neurotrophic factors and regulation of mood: role of exercise, diet and metabolism. **Neurobiology of Aging**, v. 26 Suppl 1, p. 88–93, dez. 2005.

DURÃES, F.; PINTO, M.; SOUSA, E. Old Drugs as New Treatments for Neurodegenerative Diseases. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 2, 11 maio 2018.

EHRlich, M. E. et al. DARPP-32 development in the caudate nucleus is independent of afferent input from the substantia nigra. **Developmental Brain Research**, v. 54, n. 2, p. 257–263, 1 jul. 1990.

- ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. **Progress in Neuro-Psycho pharmacology and Biological Psychiatry**, v. 28, n. 3, p. 435–451, maio 2004.
- EMANUELE, E. et al. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE) in patients with different psychiatric disorders. **Neuroscience Letters**, v. 487, n. 1, p. 99–102, 3 jan. 2011.
- EMENDATO, A. et al. Glycation affects fibril formation of A β peptides. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 34, p. 13100–13111, 24 2018a.
- FERNANDEZ, É. et al. DARPP-32 Is a Robust Integrator of Dopamine and Glutamate Signals. **PLOS Computational Biology**, v. 2, n. 12, p. e176, 22 dez. 2006.
- FISHMAN, S. L. et al. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review. **Molecular Medicine**, v. 24, n. 1, p. 59, 23 nov. 2018.
- FLEISCHHACKER, W. W. et al. A multicenter double-blind study of three different doses of the new cAMP-phosphodiesterase inhibitor rolipram in patients with major depressive disorder. **Neuropsychobiology**, v. 26, n. 1–2, p. 59–64, 1992.
- FORD, A. H. et al. Insulin Resistance and Depressive Symptoms in Older Men: The Health in Men Study. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, Clinical Assessment Tools. v. 23, n. 8, p. 872–880, 1 ago. 2015.
- FORMAN, H. J.; ZHANG, H.; RINNA, A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 30, n. 1–2, p. 1–12, abr. 2009.
- FRANSEN, J.; NARAYANASAMY, P. Flavonoid Enhances the Glyoxalase Pathway in Cerebellar Neurons to Retain Cellular Functions. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 5126, 11 jul. 2017.
- FRANKLIN, T. C. et al. Persistent Increase in Microglial RAGE Contributes to Chronic Stress-Induced Priming of Depressive-like Behavior. **Biological Psychiatry**, v. 83, n. 1, p. 50–60, 1 jan. 2018.
- FUKUNAGA, M. et al. Methylglyoxal induces apoptosis through activation of p38 MAPK in rat Schwann cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 320, n. 3, p. 689–695, 30 jul. 2004.
- FULLER, R. W. Pharmacology of central serotonin neurons. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 20, p. 111–127, 1980.
- GAŁECKI, P. et al. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. **Pharmacological reports: PR**, v. 61, n. 3, p. 436–447, jun. 2009.
- GANGWISCH, J. E. et al. High glycemic index diet as a risk factor for depression: analyses from the Women’s Health Initiative. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 2, p. 454–463, 1 ago. 2015.

GASPAR, P.; BLOCH, B.; MOINE, C. L. D1 and D2 Receptor Gene Expression in the Rat Frontal Cortex: Cellular Localization in Different Classes of Efferent Neurons. **European Journal of Neuroscience**, v. 7, n. 5, p. 1050–1063, 1995.

GHOSH, M. et al. In vivo assessment of toxicity and pharmacokinetics of methylglyoxal: Augmentation of the curative effect of methylglyoxal on cancer-bearing mice by ascorbic acid and creatine. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 212, n. 1, p. 45–58, 1 abr. 2006.

GOLD, B. I. et al. GABA levels in CSF of patients with psychiatric disorders. **The American Journal of Psychiatry**, v. 137, n. 3, p. 362–364, mar. 1980.

GOLDMAN-RAKIC, P. S.; MULY, I., E. C.; WILLIAMS, G. V. D1 receptors in prefrontal cells and circuits. **Brain Research Reviews**, v. 31, n. 2, p. 295–301, 1 mar. 2000.

GONÇALVES, A. E. et al. The antidepressant-like effect of Hedyosmum brasiliense and its sesquiterpene lactone, podoandin in mice: Evidence for the involvement of adrenergic, dopaminergic and serotonergic systems. **European Journal of Pharmacology**, 12 nov. 2011.

GÖREN, M. Z. et al. Fluoxetine partly exerts its actions through GABA: a neurochemical evidence. **Neurochemical Research**, v. 32, n. 9, p. 1559–1565, set. 2007.

GREENGARD, P.; ALLEN, P. B.; NAIRN, A. C. Beyond the Dopamine Receptor: the DARPP-32/Protein Phosphatase-1 Cascade. **Neuron**, v. 23, n. 3, p. 435–447, 1 jul. 1999.

GROVES, J. O. Is it time to reassess the BDNF hypothesis of depression? **Molecular Psychiatry**, v. 12, n. 12, p. 1079–1088, dez. 2007.

HAMBSCHE, B. et al. Methylglyoxal-mediated anxiolysis involves increased protein modification and elevated expression of glyoxalase 1 in the brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 113, n. 5, p. 1240–1251, jun. 2010a.

HANSEN, F. et al. Methylglyoxal can mediate behavioral and neurochemical alterations in rat brain. **Physiology & Behavior**, v. 164, n. Pt A, p. 93–101, 01 2016a.

HARRELL, C. S. et al. High-fructose diet during periadolescent development increases depressive-like behavior and remodels the hypothalamic transcriptome in male rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 62, p. 252–264, 1 dez. 2015.

HARRIS, R. A.; AMOR, S. Sweet and sour--oxidative and carbonyl stress in neurological disorders. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 10, n. 1, p. 82–107, fev. 2011.

HASLER, G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? **World psychiatry: official journal of the World Psychiatric Association (WPA)**, v. 9, n. 3, p. 155–161, out. 2010b.

HILLHOUSE, T. M.; PORTER, J. H. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. **Experimental and clinical psychopharmacology**, v. 23, n. 1, p. 1–21, fev. 2015.

HIPKISS, A. R. On the Relationship between Energy Metabolism, Proteostasis, Aging and Parkinson's Disease: Possible Causative Role of Methylglyoxal and Alleviative Potential of Carnosine. **Aging and Disease**, v. 8, n. 3, p. 334–345, 2 maio 2017.

HOERBELT, P.; LINDSLEY, T. A.; FLECK, M. W. Dopamine Directly Modulates GABAA Receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 8, p. 3525–3536, 25 fev. 2015.

HOLMGREN, A.; BJORNSTEDT, M. [21] Thioredoxin and thioredoxin reductase. In: **Biothiols Part B: Glutathione and Thioredoxin: Thiols in Signal Transduction and Gene Regulation**. [s.l.] Academic Press, 1995. v. Volume 252p. 199–208.

HOROWSKI, R.; SASTRE-Y-HERNANDEZ, M. Clinical effects of the neurotropic selective cAMP phosphodiesterase inhibitor rolipram in depressed patients: Global evaluation of the preliminary reports. **Current Therapeutic Research**, v. 38, n. 1, p. 23–29, 1985.

HOTTE, M. et al. D1 receptor modulation of memory retrieval performance is associated with changes in pCREB and pDARPP-32 in rat prefrontal cortex. **Behavioural Brain Research**, v. 171, n. 1, p. 127–133, 15 jul. 2006.

HOVATTA, I. et al. Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. **Nature**, v. 438, n. 7068, p. 662–666, 1 dez. 2005.

HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 71, n. 2, p. 171–186, mar. 2009.

HUANG, X. et al. Possible link between the cognitive dysfunction associated with diabetes mellitus and the neurotoxicity of methylglyoxal. **Brain Research**, v. 1469, p. 82–91, 21 ago. 2012.

HUNTER, R. M. et al. Modelling the cost-effectiveness of preventing major depression in general practice patients. **Psychological Medicine**, v. 44, n. 7, p. 1381–1390, maio 2014.

IEMOLO, A. et al. Withdrawal from chronic, intermittent access to a highly palatable food induces depressive-like behavior in compulsive eating rats. **Behavioural Pharmacology**, v. 23, n. 5 and 6, p. 593–602, set. 2012.

JACQUES, A. et al. The impact of sugar consumption on stress driven, emotional and addictive behaviors. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 103, p. 178–199, 1 ago. 2019.

JANG, S. et al. Generation and characterization of mouse knockout for glyoxalase 1. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 490, n. 2, p. 460–465, 19 2017.

JC, P. et al. **Dopamine release in response to a psychological stress in humans and its relationship to early life maternal care: a positron emission tomography study using [11C]raclopride**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15028776/>>. Acesso em: 21 set. 2020.

JIN, H.-M. et al. The effects of social defeat on behavior and dopaminergic markers in mice. **Neuroscience**, v. 288, p. 167–177, 12 mar. 2015.

KALAPOUS, M. P. et al. Effect of methylglyoxal on glucose formation, drug oxidation and glutathione content in isolated murine hepatocytes. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1092, n. 3, p. 284–290, 17 maio 1991.

KALAPOUS, M. P. Methylglyoxal and glucose metabolism: a historical perspective and future avenues for research. **Drug Metabolism and Drug Interactions**, v. 23, n. 1–2, p. 69–91, 2008.

- KALAPOUS, M. P. Where does plasma methylglyoxal originate from? **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 99, n. 3, p. 260–271, mar. 2013.
- KALIA, L. V.; LANG, A. E. Parkinson's disease. **The Lancet**, v. 386, n. 9996, p. 896–912, 29 ago. 2015.
- KAN, C. et al. A Systematic Review and Meta-analysis of the Association Between Depression and Insulin Resistance. **Diabetes Care**, v. 36, n. 2, p. 480–489, 1 fev. 2013.
- KAREGE, F. et al. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 9, p. 1068–1072, 1 maio 2005.
- KAY, A. M.; SIMPSON, C. L.; STEWART, J. A. The Role of AGE/RAGE Signaling in Diabetes-Mediated Vascular Calcification. **Journal of Diabetes Research**, v. 2016, 2016.
- KIAEI, M. New Hopes and Challenges for Treatment of Neurodegenerative Disorders: Great Opportunities for Young Neuroscientists. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 4, n. 1, p. 3–4, 2013.
- KIERDORF, K.; FRITZ, G. RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 94, n. 1, p. 55–68, 1 jul. 2013.
- KIM, G. H. et al. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. **Experimental Neurobiology**, v. 24, n. 4, p. 325–340, dez. 2015.
- KNÜPPEL, A. et al. Sugar intake from sweet food and beverages, common mental disorder and depression: prospective findings from the Whitehall II study. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 6287, 27 jul. 2017.
- KODL, C. T.; SEAQUIST, E. R. Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus. **Endocrine Reviews**, v. 29, n. 4, p. 494–511, 1 jun. 2008.
- KODYDKOVÁ, J. et al. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. **Clinical Biochemistry**, v. 42, n. 13–14, p. 1368–1374, set. 2009.
- KOIKE, S. et al. Age-related alteration in the distribution of methylglyoxal and its metabolic enzymes in the mouse brain. **Brain Research Bulletin**, v. 144, p. 164–170, 1 jan. 2019.
- KÖNIG, A.; VICENTE MIRANDA, H.; OUTEIRO, T. F. Alpha-Synuclein Glycation and the Action of Anti-Diabetic Agents in Parkinson's Disease. **Journal of Parkinson's Disease**, v. 8, n. 1, p. 33–43, 1 jan. 2018.
- KOVAČEVIĆ, S. et al. Fructose-enriched diet induces inflammation and reduces antioxidative defense in visceral adipose tissue of young female rats. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 1, p. 151–160, 1 fev. 2017.
- KRÖMER, S. A. et al. Identification of glyoxalase-I as a protein marker in a mouse model of extremes in trait anxiety. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 25, n. 17, p. 4375–4384, 27 abr. 2005.
- KUHAR, M. J.; COUCEYRO, P. R.; LAMBERT, P. D. Biosynthesis of Catecholamines. 1999.

KUHLA, B. et al. Methylglyoxal, glyoxal, and their detoxification in Alzheimer's disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1043, p. 211–216, jun. 2005.

KUNII, Y. et al. Elevated postmortem striatal t-DARPP expression in schizophrenia and associations with DRD2/ANKK1 polymorphism. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 53, p. 123–128, 4 ago. 2014.

LE NOVÈRE, N.; LI, L.; GIRAULT, J.-A. DARPP-32: molecular integration of phosphorylation potential. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 14, p. 2125–2127, 1 jul. 2008.

LEE, B.-H. et al. Decreased plasma BDNF level in depressive patients. **Journal of Affective Disorders**, v. 101, n. 1–3, p. 239–244, ago. 2007.

LEE, D. et al. The modification of alpha-synuclein by dicarbonyl compounds inhibits its fibril-forming process. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1794, n. 3, p. 421–430, mar. 2009.

LEMOS, C. et al. High sucrose consumption induces memory impairment in rats associated with electrophysiological modifications but not with metabolic changes in the hippocampus. **Neuroscience**, v. 315, p. 196–205, 19 fev. 2016.

LEVY, A. et al. Fructose:Glucose Ratios—A Study of Sugar Self-Administration and Associated Neural and Physiological Responses in the Rat. **Nutrients**, v. 7, n. 5, p. 3869–3890, maio 2015.

LI, J. et al. Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 12, p. 24438–24475, 16 dez. 2013.

LINDSKOG, M. et al. Activation of dopamine D2 receptors decreases DARPP-32 phosphorylation in striatonigral and striatopallidal projection neurons via different mechanisms. **Neuroscience**, v. 88, n. 4, p. 1005–1008, 1 fev. 1999.

LINDSKOG, M. et al. Transient Calcium and Dopamine Increase PKA Activity and DARPP-32 Phosphorylation. **PLOS Computational Biology**, v. 2, n. 9, p. e119, 8 set. 2006.

LIU, T. et al. A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, 7 out. 2015.

LO, T. W. et al. Binding and modification of proteins by methylglyoxal under physiological conditions. A kinetic and mechanistic study with N alpha-acetylarginine, N alpha-acetylcysteine, and N alpha-acetyllysine, and bovine serum albumin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 51, p. 32299–32305, 23 dez. 1994.

LOH, K. P. et al. Oxidative stress: apoptosis in neuronal injury. **Current Alzheimer Research**, v. 3, n. 4, p. 327–337, set. 2006.

LU, J.; HOLMGREN, A. Thioredoxin system in cell death progression. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 17, n. 12, p. 1738–1747, 15 dez. 2012.

LU, J.; HOLMGREN, A. The thioredoxin antioxidant system. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 66, p. 75–87, jan. 2014.

LUSTMAN, P. J. et al. Fluoxetine for depression in diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Diabetes Care**, v. 23, n. 5, p. 618–623, maio 2000a.

LUSTMAN, P. J. et al. Depression and poor glycemic control: a meta-analytic review of the literature. **Diabetes Care**, v. 23, n. 7, p. 934–942, jul. 2000b.

M, D.-W.; P, W.; M, P. **Changes in dopamine receptor mRNA expression following chronic mild stress and chronic antidepressant treatment.** Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9832973/>>. Acesso em: 21 set. 2020.

M, S. et al. **Dopamine transporter binding in depressed patients with anhedonia.** Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16952448/>>. Acesso em: 21 set. 2020.

MAES, M. et al. An IgM-mediated immune response directed against nitro-bovine serum albumin (nitro-BSA) in chronic fatigue syndrome (CFS) and major depression: evidence that nitrosative stress is another factor underpinning the comorbidity between major depression and CFS. **Neuro Endocrinology Letters**, v. 29, n. 3, p. 313–319, jun. 2008.

MAES, M. et al. Increased plasma peroxides and serum oxidized low density lipoprotein antibodies in major depression: markers that further explain the higher incidence of neurodegeneration and coronary artery disease. **Journal of Affective Disorders**, v. 125, n. 1–3, p. 287–294, set. 2010.

MAHER, P. The effects of stress and aging on glutathione metabolism. **Ageing Research Reviews**, v. 4, n. 2, p. 288–314, maio 2005.

MANN, J. J. et al. Demonstration in vivo of reduced serotonin responsivity in the brain of untreated depressed patients. **The American Journal of Psychiatry**, v. 153, n. 2, p. 174–182, fev. 1996.

MARKS, D. M.; PAE, C.-U.; PATKAR, A. A. Triple Reuptake Inhibitors: The Next Generation of Antidepressants. **Current Neuropharmacology**, v. 6, n. 4, p. 338–343, dez. 2008.

MASELLA, R. et al. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, n. 10, p. 577–586, out. 2005.

MATHERS, C. D.; LONCAR, D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. **PLoS Medicine**, v. 3, n. 11, nov. 2006.

MATSUDA, N. et al. Parkinson's disease-related DJ-1 functions in thiol quality control against aldehyde attack in vitro. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 12816, 9 out. 2017.

MCCABE, C.; COWEN, P. J.; HARMER, C. J. Neural representation of reward in recovered depressed patients. **Psychopharmacology**, v. 205, n. 4, p. 667–677, set. 2009.

MCEWEN, B. S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. **Brain Research**, v. 886, n. 1–2, p. 172–189, 15 dez. 2000.

MCLELLAN, A. C. et al. Glyoxalase system in clinical diabetes mellitus and correlation with diabetic complications. **Clinical Science (London, England: 1979)**, v. 87, n. 1, p. 21–29, jul. 1994.

MCMURRAY, K. M. J. et al. Neuronal overexpression of Glo1 or amygdalar microinjection of methylglyoxal is sufficient to regulate anxiety-like behavior in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 301, p. 119–123, 15 mar. 2016.

MEYER, J. H. et al. Lower dopamine transporter binding potential in striatum during depression. **Neuroreport**, v. 12, n. 18, p. 4121–4125, 21 dez. 2001.

MIHOUB, M.; ABDALLAH, J.; RICCHARME, G. Protein Repair from Glycation by Glyoxals by the DJ-1 Family Maillard Deglycates. In: ARIGA, H.; IGUCHI-ARIGA, S. M. M. (Eds.). . **DJ-1/PARK7 Protein: Parkinson's Disease, Cancer and Oxidative Stress-Induced Diseases**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Singapore: Springer, 2017. p. 133–147.

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 1, p. 22–34, jan. 2016.

MINK, J. W.; BLUMENSCHINE, R. J.; ADAMS, D. B. Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 241, n. 3, p. R203–R212, 1 set. 1981.

MIRANDA, H. V.; OUTEIRO, T. F. The sour side of neurodegenerative disorders: the effects of protein glycation. **The Journal of Pathology**, v. 221, n. 1, p. 13–25, 2010.

ML, K. et al. **Dopamine receptors and learned helplessness in the rat: an autoradiographic study**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12188094/>>. Acesso em: 21 set. 2020.

MORGENSTERN, J. et al. Loss of Glyoxalase 1 Induces Compensatory Mechanism to Achieve Dicarbonyl Detoxification in Mammalian Schwann Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 8, p. 3224–3238, 24 fev. 2017.

MURAKAMI, S. et al. Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. **Neuroscience Research**, v. 53, n. 2, p. 129–139, out. 2005.

NAKANO, T. et al. A Kinetic Model of Dopamine- and Calcium-Dependent Striatal Synaptic Plasticity. **PLOS Computational Biology**, v. 6, n. 2, p. e1000670, 12 fev. 2010.

NARDI, A. E. Depressão no Ciclo da Vida. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, n. 3, p. 151–152, set. 2000.

NEMEROFF, C. B. The burden of severe depression: a review of diagnostic challenges and treatment alternatives. **Journal of Psychiatric Research**, v. 41, n. 3–4, p. 189–206, jun. 2007.

NEMET, I.; VARGA-DEFTERDAROVIC, L. Methylglyoxal-derived beta-carbolines formed from tryptophan and its derivatives in the Maillard reaction. **Amino Acids**, v. 32, n. 2, p. 291–293, fev. 2007.

NESTLER, E. J.; GREENGARD, P. Protein phosphorylation in the brain. **Nature**, v. 305, n. 5935, p. 583–588, out. 1983.

NG, S. W.; SLINING, M. M.; POPKIN, B. M. Use of Caloric and Noncaloric Sweeteners in US Consumer Packaged Foods, 2005-2009. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 11, p. 1828- 1834.e6, 1 nov. 2012.

NISHIMOTO, S. et al. Activation of Nrf2 attenuates carbonyl stress induced by methylglyoxal in human neuroblastoma cells: Increase in GSH levels is a critical event for the detoxification mechanism. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 483, n. 2, p. 874–879, 05 2017.

OBA, T. et al. Methylglyoxal has deleterious effects on thioredoxin in human aortic endothelial cells. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, n. 2, p. 117–126, set. 2012.

OEPPEN, J.; VAUPEL, J. W. Demography. Broken limits to life expectancy. **Science (New York, N.Y.)**, v. 296, n. 5570, p. 1029–1031, 10 maio 2002.

OGASAWARA, Y. et al. Determination of methylglyoxal in human blood plasma using fluorescence high performance liquid chromatography after derivatization with 1,2-diamino-4,5-methylenedioxybenzene. **Journal of Chromatography B**, v. 1029–1030, p. 102–105, 1 set. 2016.

ORDWAY, G. A. et al. Quantitative distribution of monoamine oxidase A in brainstem monoamine nuclei is normal in major depression. **Brain Research**, v. 847, n. 1, p. 71–79, 13 nov. 1999.

OROSZ, F.; OLÁH, J.; OVÁDI, J. Triosephosphate isomerase deficiency: New insights into an enigmatic disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Mitochondrial Disease**. v. 1792, n. 12, p. 1168–1174, dez. 2009.

OUIMET, C. C. et al. DARPP-32, a dopamine- and adenosine 3':5'-monophosphate-regulated phosphoprotein enriched in dopamine-innervated brain regions. III. Immunocytochemical localization. **Journal of Neuroscience**, v. 4, n. 1, p. 111–124, 1 jan. 1984.

OUIMET, C. C. DARPP-32, a dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein, is present in corticothalamic neurons of the rat cingulate cortex. **Brain Research**, v. 562, n. 1, p. 85–92, 18 out. 1991.

OZCAN, M. E. et al. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 19, n. 2, p. 89–95, mar. 2004.

PADMARAJU, V. et al. Role of advanced glycation on aggregation and DNA binding properties of α -synuclein. **Journal of Alzheimer's disease: JAD**, v. 24 Suppl 2, p. 211–221, 2011.

PALANISSAMI, G.; PAUL, S. F. D. RAGE and Its Ligands: Molecular Interplay Between Glycation, Inflammation, and Hallmarks of Cancer-a Review. **Hormones & Cancer**, v. 9, n. 5, p. 295–325, 2018.

PATKI, G. et al. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. **Brain Research**, v. 1539, p. 73–86, 20 nov. 2013.

PAUL, R. G.; BAILEY, A. J. Glycation of collagen: the basis of its central role in the late complications of ageing and diabetes. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 28, n. 12, p. 1297–1310, dez. 1996.

PAYNE, A. N.; CHASSARD, C.; LACROIX, C. Gut microbial adaptation to dietary consumption of fructose, artificial sweeteners and sugar alcohols: implications for host–microbe interactions contributing to obesity. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 9, p. 799–809, 2012.

PEET, M. et al. Depletion of Omega-3 Fatty Acid Levels in Red Blood Cell Membranes of Depressive Patients. **Biological Psychiatry**, v. 43, n. 5, p. 315–319, 1 mar. 1998.

PEHRSON, A. L.; SANCHEZ, C. Altered γ -aminobutyric acid neurotransmission in major depressive disorder: a critical review of the supporting evidence and the influence of serotonergic antidepressants. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 9, p. 603–624, 19 jan. 2015.

PENNINX, B. W. J. H. et al. Inflammatory markers and depressed mood in older persons: results from the Health, Aging and Body Composition study. **Biological Psychiatry**, v. 54, n. 5, p. 566–572, 1 set. 2003.

PETERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. **Analytical Biochemistry**, v. 83, n. 2, p. 346–356, dez. 1977.

PETRAK, F. et al. Cognitive behavioural therapy in elderly type 2 diabetes patients with minor depression or mild major depression: study protocol of a randomized controlled trial (MIND-DIA). **BMC geriatrics**, v. 10, p. 21, 4 maio 2010.

PFAFF, D. H. et al. Evidence Against a Role for the Parkinsonism-associated Protein DJ-1 in Methylglyoxal Detoxification. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 2, p. 685–690, 13 jan. 2017.

PITSIKAS, N. et al. Effects of Anesthetic Ketamine on Anxiety-Like Behaviour in Rats. **Neurochemical Research**, v. 44, n. 4, p. 829–838, abr. 2019.

POOLE, L. B. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 80, p. 148–157, mar. 2015.

PRATT-HYATT, M.; LICKTEIG, A. J.; KLAASSEN, C. D. Tissue Distribution, Ontogeny, and Chemical Induction of Aldo-Keto Reductases in Mice. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 41, n. 8, p. 1480–1487, ago. 2013.

QI, Z.; MILLER, G. W.; VOIT, E. O. The internal state of medium spiny neurons varies in response to different input signals. **BMC Systems Biology**, v. 4, n. 1, p. 26, 17 mar. 2010.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Dicarbonyls linked to damage in the powerhouse: glycation of mitochondrial proteins and oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 36, n. Pt 5, p. 1045–1050, out. 2008.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Methylglyoxal, glyoxalase 1 and the dicarbonyl proteome. **Amino Acids**, v. 42, n. 4, p. 1133–1142, abr. 2012.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Measurement of methylglyoxal by stable isotopic dilution analysis LC-MS/MS with corroborative prediction in physiological samples. **Nature Protocols**, v. 9, n. 8, p. 1969–1979, ago. 2014.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 458, n. 2, p. 221–226, 6 mar. 2015a.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 458, n. 2, p. 221–226, 6 mar. 2015b.

RABBANI, N.; XUE, M.; THORNALLEY, P. J. Dicarbonyls and glyoxalase in disease mechanisms and clinical therapeutics. **Glycoconjugate Journal**, v. 33, n. 4, p. 513–525, 1 ago. 2016.

RACAGNI, G.; POPOLI, M. Cellular and molecular mechanisms in the long-term action of antidepressants. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 10, n. 4, p. 385–400, dez. 2008.

RACKER, E. The mechanism of action of glyoxalase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 190, n. 2, p. 685–696, jun. 1951.

RAISMAN-VOZARI, R. et al. Lack of change in striatal DARPP-32 levels following nigrostriatal dopaminergic lesions in animals and in parkinsonian syndromes in man. **Brain Research**, v. 507, n. 1, p. 45–50, 15 jan. 1990.

RAMASAMY, R. et al. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. **Glycobiology**, v. 15, n. 7, p. 16R-28R, 1 jul. 2005.

RASOOL, M. et al. **Recent Updates in the Treatment of Neurodegenerative Disorders Using Natural Compounds.** Review Article. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/979730/>>. Acesso em: 9 jan. 2021.

RAWDIN, B. J. et al. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. **Brain, Behavior, and Immunity, Inflammation and Mental Health**. v. 31, p. 143–152, jul. 2013.

RAY, M. T.; SHANNON WEICKERT, C.; WEBSTER, M. J. Decreased BDNF and TrkB mRNA expression in multiple cortical areas of patients with schizophrenia and mood disorders. **Translational Psychiatry**, v. 4, p. e389, 6 maio 2014.

REIS, D. J. et al. The depressogenic potential of added dietary sugars. **Medical Hypotheses**, v. 134, p. 109421, 1 jan. 2020.

REIS, H. J. et al. Is DARPP-32 a potential therapeutic target? **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 11, n. 12, p. 1649–1661, dez. 2007.

RICHARME, G. et al. Parkinsonism-associated Protein DJ-1/Park7 Is a Major Protein Deglycase That Repairs Methylglyoxal- and Glyoxal-glycated Cysteine, Arginine, and Lysine Residues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 3, p. 1885–1897, 16 jan. 2015a.

RICHARME, G. et al. Parkinsonism-associated protein DJ-1/Park7 is a major protein deglycase that repairs methylglyoxal- and glyoxal-glycated cysteine, arginine, and lysine residues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 3, p. 1885–1897, 16 jan. 2015b.

RINCÓN-CORTÉS, M. et al. Diazepam reverses increased anxiety-like behavior, social behavior deficit, and dopamine dysregulation following withdrawal from acute amphetamine. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 12, p. 2418–2425, nov. 2018.

ROSA, D. V. F. et al. DARPP-32 expression in rat brain after electroconvulsive stimulation. **Brain Research**, v. 1179, p. 35–41, 7 nov. 2007.

ROSSI, A.; BARRACO, A.; DONDA, P. Fluoxetine: a review on evidence based medicine. **Annals of General Hospital Psychiatry**, v. 3, p. 2, 12 fev. 2004.

SACHIN, L. S. et al. Identification and characterization of reaction products of 5-hydroxytryptamine with methylglyoxal and glyoxal by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 32, n. 17, p. 1529–1539, 2018.

SAI SACHIN, L. et al. Identification and Characterization of Reaction Products of 5-Hydroxytryptamine with Methylglyoxal and Glyoxal by LC/MS/MS. **Rapid communications in mass spectrometry: RCM**, 6 jun. 2018.

SANACORA, G. et al. Increased occipital cortex GABA concentrations in depressed patients after therapy with selective serotonin reuptake inhibitors. **The American Journal of Psychiatry**, v. 159, n. 4, p. 663–665, abr. 2002.

SANACORA, G. et al. Increased cortical GABA concentrations in depressed patients receiving ECT. **The American Journal of Psychiatry**, v. 160, n. 3, p. 577–579, mar. 2003.

SANCHEZ-VILLEGAS, A. et al. Added sugars and sugar-sweetened beverage consumption, dietary carbohydrate index and depression risk in the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) Project. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 2, p. 211–221, jan. 2018.

SARANDOL, A. et al. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. **Human Psychopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 67–73, mar. 2007.

SAYYAH, M. et al. Cognitive Function before and during Treatment with Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Patients with Depression or Obsessive-Compulsive Disorder. **Psychiatry Journal**, v. 2016, p. 5480391, 2016.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 30, n. 11, p. 1191–1212, 1 jun. 2001.

SCHALKWIJK, C. G.; STEHOUWER, C. D. A. Methylglyoxal, a Highly Reactive Dicarbonyl Compound, in Diabetes, Its Vascular Complications, and Other Age-Related Diseases. **Physiological Reviews**, v. 100, n. 1, p. 407–461, 20 set. 2019.

SCHEGGI, S.; MONTIS, M. G. D.; GAMBARANA, C. DARPP-32 in the orchestration of responses to positive natural stimuli. **Journal of Neurochemistry**, v. 147, n. 4, p. 439–453, 2018.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American Journal of Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509–522, nov. 1965.

SCHLOTTERER, A. et al. Methylglyoxal induces retinopathy-type lesions in the absence of hyperglycemia: studies in a rat model. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 33, n. 3, p. 4141–4153, mar. 2019.

SCHMITZ, A. E. et al. Methylglyoxal-Induced Protection Response and Toxicity: Role of Glutathione Reductase and Thioredoxin Systems. **Neurotoxicity Research**, v. 32, n. 3, p. 340–350, 1 out. 2017.

SELLEY, M. L. Increased (E)-4-hydroxy-2-nonenal and asymmetric dimethylarginine concentrations and decreased nitric oxide concentrations in the plasma of patients with major depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 80, n. 2–3, p. 249–256, jun. 2004.

SERAFINI, G. et al. The Role of Ketamine in Treatment-Resistant Depression: A Systematic Review. **Current Neuropharmacology**, v. 12, n. 5, p. 444–461, set. 2014.

SHALTIEL, G.; CHEN, G.; MANJI, H. K. Neurotrophic signaling cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. **Current Opinion in Pharmacology**, Neurosciences. v. 7, n. 1, p. 22–26, fev. 2007.

SHARMA, N.; RAO, S. P.; KALIVENDI, S. V. The deglycase activity of DJ-1 mitigates α -synuclein glycation and aggregation in dopaminergic cells: Role of oxidative stress mediated downregulation of DJ-1 in Parkinson's disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 135, p. 28–37, 20 fev. 2019a.

SHARMA, N.; RAO, S. P.; KALIVENDI, S. V. The deglycase activity of DJ-1 mitigates α -synuclein glycation and aggregation in dopaminergic cells: Role of oxidative stress mediated downregulation of DJ-1 in Parkinson's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 135, p. 28–37, 1 maio 2019b.

SHEN, D. et al. Glutathione redox state regulates mitochondrial reactive oxygen production. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 27, p. 25305–25312, 8 jul. 2005.

SHERDELL, L.; WAUGH, C. E.; GOTLIB, I. H. Anticipatory pleasure predicts motivation for reward in major depression. **Journal of Abnormal Psychology**, v. 121, n. 1, p. 51–60, fev. 2012.

SHIMIZU, E. et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. **Biological Psychiatry**, v. 54, n. 1, p. 70–75, 1 jul. 2003.

SHIN, M. J. et al. Tat-glyoxalase protein inhibits against ischemic neuronal cell damage and ameliorates ischemic injury. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 67, p. 195–210, 1 fev. 2014.

SHINPO, K. et al. Selective vulnerability of spinal motor neurons to reactive dicarbonyl compounds, intermediate products of glycation, in vitro: implication of inefficient glutathione system in spinal motor neurons. **Brain Research**, v. 861, n. 1, p. 151–159, 7 abr. 2000.

SINGH, V. P. et al. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology : Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology**, v. 18, n. 1, p. 1–14, fev. 2014.

SOHEL, A. J.; SHUTTER, M. C.; MOLLA, M. Fluoxetine. In: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.

SOUSA, K. T. DE et al. Food consumption and depression among Brazilian adults: results from the Brazilian National Health Survey, 2013. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 1, 2020.

SRIVASTAVA, S. et al. Structural and Kinetic Determinants of Aldehyde Reduction by Aldose Reductase. **Biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 42–54, 1 jan. 1999.

STAHL, S. M. et al. A Review of the Neuropharmacology of Bupropion, a Dual Norepinephrine and Dopamine Reuptake Inhibitor. **Primary Care Companion to The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 6, n. 4, p. 159–166, 2004.

STEELE, E. M. et al. Ultra-processed foods and added sugars in the US diet: evidence from a nationally representative cross-sectional study. **BMJ Open**, v. 6, n. 3, p. e009892, 1 jan. 2016.

STERU, L. et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367–370, 1 mar. 1985.

SVENNINGSSON, P. et al. Regulation of the phosphorylation of the dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein of 32 kDa in vivo by dopamine D1, dopamine D2, and adenosine A2A receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 4, p. 1856–1860, 15 fev. 2000.

SVENNINGSSON, P. et al. Involvement of striatal and extrastriatal DARPP-32 in biochemical and behavioral effects of fluoxetine (Prozac). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 5, p. 3182–3187, 5 mar. 2002a.

SVENNINGSSON, P. et al. DARPP-32 mediates serotonergic neurotransmission in the forebrain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 5, p. 3188–3193, 5 mar. 2002b.

SVENNINGSSON, P. et al. DARPP-32: An Integrator of Neurotransmission. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 44, n. 1, p. 269–296, 16 jan. 2004.

SZCZEPANIK, J. C. et al. Protective effects against memory impairment induced by methylglyoxal in mice co-treated with FPS-ZM1, an advanced glycation end products receptor antagonist. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 80, n. 4, p. 364–374, 2020a.

SZCZEPANIK, J. C. et al. Repeated Methylglyoxal Treatment Depletes Dopamine in the Prefrontal Cortex, and Causes Memory Impairment and Depressive-Like Behavior in Mice. **Neurochemical Research**, v. 45, n. 2, p. 354–370, 1 fev. 2020b.

SZENT-GYÖRGYI, A.; MCLAUGHLIN, J. A. Interaction of glyoxal and methylglyoxal with biogenic amines. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 72, n. 4, p. 1610–1611, 1 abr. 1975.

TANG, Y.; HU, C.; SANG, S. Characterization of Reaction Products and Mechanisms between Serotonin and Methylglyoxal in Model Reactions and Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 8, p. 2437–2444, 26 fev. 2020.

THORNALLEY, P. J. et al. The human red blood cell glyoxalase system in diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 7, n. 2, p. 115–120, 1 jan. 1989.

THORNALLEY, P. J. Pharmacology of methylglyoxal: formation, modification of proteins and nucleic acids, and enzymatic detoxification--A role in pathogenesis and antiproliferative chemotherapy. **General Pharmacology: The Vascular System**, v. 27, n. 4, p. 565–573, jun. 1996a.

THORNALLEY, P. J. Pharmacology of methylglyoxal: formation, modification of proteins and nucleic acids, and enzymatic detoxification--a role in pathogenesis and antiproliferative chemotherapy. **General Pharmacology**, v. 27, n. 4, p. 565–573, jun. 1996b.

THORNALLEY, P. J. Glyoxalase I--structure, function and a critical role in the enzymatic defence against glycation. **Biochemical Society transactions**, v. 31, n. Pt 6, p. 1343–1348, dez. 2003.

THORNALLEY, P. J.; LANGBORG, A.; MINHAS, H. S. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. **Biochemical Journal**, v. 344, n. Pt 1, p. 109–116, 15 nov. 1999.

TIETZE, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 27, n. 3, p. 502–522, 1 mar. 1969.

- TREADWAY, M. T.; ZALD, D. H. Reconsidering anhedonia in depression: lessons from translational neuroscience. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 3, p. 537–555, jan. 2011.
- TYE, K. M. et al. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour. **Nature**, v. 493, n. 7433, p. 537–541, jan. 2013.
- UCHIKI, T. et al. Glycation-altered proteolysis as a pathobiologic mechanism that links dietary glycemic index, aging, and age-related disease (in nondiabetics). **Aging Cell**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 1 fev. 2012.
- VAN DOOREN, F. E. P. et al. Advanced Glycation End Product (AGE) Accumulation in the Skin is Associated with Depression: The Maastricht Study. **Depression and Anxiety**, v. 34, n. 1, p. 59–67, 2017.
- VENDRUSCOLO, L. F. et al. Sugar Overconsumption during Adolescence Selectively Alters Motivation and Reward Function in Adult Rats. **PLOS ONE**, v. 5, n. 2, p. e9296, 19 fev. 2010.
- VICENTE MIRANDA, H. et al. Glycation potentiates α -synuclein-associated neurodegeneration in synucleinopathies. **Brain: A Journal of Neurology**, v. 140, n. 5, p. 1399–1419, 1 maio 2017a.
- VICENTE MIRANDA, H. et al. Glycation potentiates α -synuclein-associated neurodegeneration in synucleinopathies. **Brain**, v. 140, n. 5, p. 1399–1419, 1 maio 2017b.
- VICENTE MIRANDA, H.; OUTEIRO, T. F. The sour side of neurodegenerative disorders: The effects of protein glycation. **Journal of Pathology**, v. 221, n. 1, p. 13–25, 2010.
- VÖHRINGER, P. A.; GHAEMI, S. N. Solving the Antidepressant Efficacy Question? Effect Sizes in Major Depressive Disorder. **Clinical therapeutics**, v. 33, n. 12, p. B49–B61, dez. 2011.
- WEERAPANA, E. et al. Quantitative reactivity profiling predicts functional cysteines in proteomes. **Nature**, v. 468, n. 7325, p. 790–795, 9 dez. 2010.
- WILLIAMS, R. et al. A Common and Unstable Copy Number Variant Is Associated with Differences in Glo1 Expression and Anxiety-Like Behavior. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, 6 mar. 2009.
- WILLNER, P.; SCHEEL-KRÜGER, J.; BELZUNG, C. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 10 Pt 1, p. 2331–2371, dez. 2013.
- WONG, M.-L.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 5, p. 343–351, maio 2001a.
- WORLD CANCER RESEARCH FUND. **Curbing Global Sugar Consumption**, 2015. . Acesso em: 17 dez. 2020
- WU, Z. et al. Gating TrkB switch by methylglyoxal enables GLO1 as a target for depression. **bioRxiv**, p. 435867, 4 out. 2018.
- XIE, B. et al. Methylglyoxal increases dopamine level and leads to oxidative stress in SH-SY5Y cells. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, v. 46, n. 11, p. 950–956, nov. 2014.

XIE, B. et al. A newly discovered neurotoxin ADTIQ associated with hyperglycemia and Parkinson's disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 459, n. 3, p. 361–366, 10 abr. 2015.

XU, Y. et al. Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 97, n. 1, p. 1–13, 1 abr. 2012.

YAMADA, K. et al. Neuronal circuits and physiological roles of the basal ganglia in terms of transmitters, receptors and related disorders. **The journal of physiological sciences: JPS**, v. 66, n. 6, p. 435–446, nov. 2016.

YAMAGISHI, S. et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE): a novel therapeutic target for diabetic vascular complication. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, n. 5, p. 487–495, 2008.

YAN, L.-J.; YAN, L.-J. Pathogenesis of Chronic Hyperglycemia: From Reductive Stress to Oxidative Stress, Pathogenesis of Chronic Hyperglycemia: From Reductive Stress to Oxidative Stress. **Journal of Diabetes Research, Journal of Diabetes Research**, v. 2014, 2014, p. e137919, 16 jun. 2014.

YANG, Y. et al. Proteomics reveals energy and glutathione metabolic dysregulation in the prefrontal cortex of a rat model of depression. **Neuroscience**, v. 247, p. 191–200, 5 set. 2013.

YGER, M.; GIRAULT, J.-A. DARPP-32, Jack of All Trades... Master of Which? **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 5, 2011.

ZONDLER, L. et al. DJ-1 interactions with α -synuclein attenuate aggregation and cellular toxicity in models of Parkinson's disease. **Cell Death & Disease**, v. 5, n. 7, p. e1350–e1350, jul. 2014.