

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PRÉVIA DE N-
ACETILCISTEÍNA NA COGNIÇÃO E NO FÍGADO EM UM
MODELO EXPERIMENTAL DE CONSUMO DE ÁLCOOL EM
BINGE CRÔNICO NA ADOLESCÊNCIA**

MATHEUS LOUREIRO DAS NEVES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
Vitória, Janeiro de 2022**

MATHEUS LOUREIRO DAS NEVES

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PRÉVIA DE N-ACETILCISTEÍNA NA COGNIÇÃO E
NO FÍGADO EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE CONSUMO DE ÁLCOOL EM
BINGE CRÔNICO NA ADOLESCÊNCIA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Área de concentração: Neurociências

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Livia Carla de Melo Rodrigues

Vitória
2022

Dedico esse trabalho a mim mesmo e a todos
que acreditaram em mim.

“Faça o plano, execute o plano, espere ele dar errado, descarte o plano.”

(Leonard Snart)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todos os movimentos que tive ao longo do mestrado, pois eles me fizeram ser quem eu sou hoje, e foi um ambiente de muito aprendizado, conheci muitas pessoas, fiz bons amigos e sou muito grato por isso, também agradeço a ele por ter me colocado no caminho da minha orientadora Livia Carla de Melo Rodrigues, uma excelente pessoa que sempre esteve presente ajudando a todos do laboratório e se dedicando ao máximo para fazer tudo acontecer, e quando algo deu errado ela estava lá para dar suporte no que precisasse, não importava dia ou horário, agradeço a ela por tudo isso também, pelo companheirismo e amizade. Agradeço a minha mãe Elisa e minha tia Regina por todo apoio que me deram ao longo de todas as jornadas que me fizeram chegar aonde estou hoje, sem elas isso tudo dificilmente teria acontecido. Também sou muito grato a minha namorada Jordana, que conheci durante o mestrado e que inicialmente me ajudava muito nas matérias e depois se tornou uma pessoa ainda mais importante na minha vida, que sempre esteve ao meu lado nos momentos bons e nos momentos difíceis. Agradeço também a todos os meus amigos e professores que me ajudaram a concluir esse trabalho, em especial aos companheiros de laboratório Matheus Cavatti e Igor. Muito obrigado a todos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT	II
LISTA DE FIGURAS.....	III
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IV
1 – INTRODUÇÃO	16
1.1 – O consumo de álcool.....	16
1.2 – O consumo de álcool em <i>binge</i> por adolescentes.....	16
1.3 – A farmacocinética do álcool.....	18
1.4 – Estresse oxidativo e danos hepáticos.....	19
1.5 – Efeitos do álcool no sistema nervoso central (SNC)	20
1.6 – Sistema de recompensa cerebral	21
1.7 – Efeitos do álcool na memória.....	23
1.8 – Efeitos prejudiciais do álcool no cérebro.....	26
1.9 – Tratamentos contra os transtornos relacionados ao uso de álcool	27
1.10 – A N-acetilcisteína como medida de tratamento contra transtornos relacionados ao uso de álcool	28
2 - JUSTIFICATIVA.....	31
3 – OBJETIVOS	32

3.1 – Geral	32
3.2 – Específicos	32
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1 – Animais.....	33
4.2 – Drogas.....	33
4.3 – Desenho experimental	33
4.4 – Teste de reconhecimento de objetos.....	34
4.5 – Teste de localização de objetos	35
4.6 – Critérios de exploração de objetos	37
4.7 – Ensaio bioquímicos	38
4.8 – Preparação do tecido e dosagem de proteína para ensaios de estresse oxidativo....	39
4.9 – Determinação de produtos avançados da oxidação proteica.....	39
4.10 – Análise de glutathiona reduzida	39
4.11 – Ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	40
4.12 – Histologia do fígado	40
4.13 – Avaliação das transaminases	40
4.14 – Análise estatística.....	41
5 - RESULTADOS.....	42
4.1 – Teste de reconhecimento de objetos.....	42
4.2 – Teste de localização de objetos	43
4.3 – Parâmetros de estresse oxidativo	45

4.3.1 – Determinação dos produtos avançados de oxidação proteica (AOPP).....	45
4.3.2 – Ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	46
4.3.3 – Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH).....	48
4.4 – Análise dos níveis das enzimas transaminases.....	50
4.5 – Análise das fibras colágenas hepáticas	52
4.6 – Análise de mastócito no fígado	54
5 – DISCUSSÃO	55
6 – CONCLUSÃO.....	66
7 – REFERÊNCIAS	67

RESUMO

O álcool é a droga mais consumida em todo o mundo e, nos círculos sociais de adolescentes e jovens, sua forma de consumo mais consolidada é em *binge*. O consumo de álcool em *binge* se dá pela sua ingestão episódica, em alta quantidade e em um curto período de tempo. Essa forma de consumo contribui para possíveis reações neurotóxicas, podendo causar déficits cognitivos. Além disso, essa forma de consumo de etanol é capaz de provocar prejuízos hepáticos relacionados ao estresse oxidativo e ativação de mecanismos inflamatórios nesse órgão. A N-acetilcisteína (NAC) tem sido apresentada como uma droga promissora no tratamento e reversão de efeitos causados por várias drogas de abuso, dentre elas o álcool. Neste estudo, ratos Wistar machos, adolescentes, foram divididos em seis grupos (SAL/H₂O, NAC/H₂O, SAL/EtOH 3 g/kg, NAC/EtOH 3 g/kg, SAL/EtOH 6 g/kg e NAC/EtOH 6 g/kg) e foram submetidos a um regime em *binge* crônico, com três dias de tratamento por semana ao longo de quatro semanas. Foram observados os possíveis efeitos da administração prévia de NAC sobre os danos na memória de curto e longo prazo e os prejuízos hepáticos causados pelo consumo de álcool em *binge* na adolescência, através de uma avaliação comportamental pelo Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO) e de Localização de Objetos (TLO) e de análises bioquímicas no CPF, HPC e EST. Para função hepática TGO e TGP foram dosados no soro e análises histológicas do tecido hepático foram realizadas. Os resultados demonstraram que a NAC inibiu os prejuízos que o álcool provocou na memória de reconhecimento e de localização de curto e longo prazo, apesar disso, o regime de álcool em *binge* crônico parece não ter provocado estresse oxidativo nas regiões cerebrais estudadas. Com relação ao fígado, a NAC protegeu a função hepática contra os danos que o álcool provocou em ambas as doses. Com isso, os resultados desse estudo podem reforçar os possíveis efeitos protetores da NAC sobre a função cognitiva e danos ao fígado, auxiliando na consolidação do conhecimento do potencial desse fármaco como um adjuvante no tratamento do abuso do álcool.

Palavras-chave: Álcool. Adolescência. *Binge*. Fígado. N-acetilcisteína. Memória.

ABSTRACT

Alcohol is the most consumed drug in the world and, in the social circles of adolescents and young people, its most consolidated form of consumption is binge. The consumption of alcohol in binge is characterized by its episodic ingestion, in high amounts and in a short period of time. This form of consumption contributes to possible neurotoxic reactions, which can cause cognitive deficits. Furthermore, this form of ethanol consumption is capable of causing liver damage related to oxidative stress and activation of inflammatory mechanisms in this organ. N-acetylcysteine (NAC) has been presented as a promising drug in the treatment and reversal of effects caused by various drugs of abuse, including alcohol. In this study, adolescent male Wistar rats were divided into six groups (SAL/H₂O, NAC/H₂O, SAL/EtOH 3 g/kg, NAC/EtOH 3 g/kg, SAL/EtOH 6 g/kg e NAC/EtOH 6 g/kg) and were subjected to a regimen in chronic binge, with three days of treatment per week over four weeks. The possible effects of previous NAC administration on short- and long-term memory damage and liver damage caused by binge drinking during adolescence were observed, through a behavioral assessment using the Object Recognition Test (TRO) and Object Location (TLO), and through biochemical in the CPF, HPC and EST. Liver function was assessed through quantification of serum TGO and TGP and through histological analyses of liver tissue. The results showed that NAC prevented the damage that alcohol caused in short- and long-term recognition and location memory, despite this, the chronic binge drinking regimen seems not to have provoked oxidative stress in the brain regions studied. NAC also protected liver function against the damage that alcohol caused in both doses. Thus, the results of this study can reinforce the possible protective effects of NAC on cognitive function and liver damage, helping to consolidate knowledge of the potential of this drug as an adjuvant in the treatment of alcohol abuse.

Keywords: Alcohol. Adolescence. Binge. Liver. N-acetylcysteine. Memory.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Quantidades correspondentes à 1 dose de álcool. O "beber em binge" é caracterizado por 4 doses ou mais para mulheres e 5 doses ou mais para homens, em um intervalo de 2 horas. Fonte: adaptado de ("Relatório Global sobre Álcool e Saúde - 2018," [s.d.])17
- Figura 2** - Sistema enzimático de metabolização do álcool. Fonte: Compilação do autor.....19
- Figura 3** - Representação de um corte sagital médio do encéfalo humano com a marcação das principais áreas do sistema de recompensa cerebral. A neurotransmissão dopaminérgica está representada nas setas verde (para o NAc) e azul (para o CPF). Fonte: Compilação do autor...23
- Figura 4** - Mecanismo de ação da N-acetilcisteína (DEAN; GIORLANDO; BERK, 2011)29
- Figura 5** - Ativação do sistema antiport xc no núcleo accumbens, realizado pela NAC. Fonte: Compilação do autor.....30
- Figura 6** - Delineamento experimental.....34
- Figura 7** - (A) demonstração da sessão treino em que os objetos eram semelhantes, descritos na figura como A1; (B) demonstração da aplicação do teste de Memória de Curto Prazo, em que A1 aparece como objeto conhecido e B1 como objeto novo; (C) demonstração da aplicação do teste de Memória de Longo Prazo, em que A1 representa o objeto conhecido e C1 o segundo objeto novo. Todas as demonstrações em questão tiveram duração de 300 segundos de exposição e monitoramento.....35
- Figura 8** - (A) demonstração da aplicação da fase de treino, em que os objetos são semelhantes, descritos na figura como A1; (B) demonstração da aplicação do teste de Memória de Curto Prazo, em que A1 e A2 são objetos conhecidos, porém A2 aparece em uma nova localização em relação à fase de treino; (C) demonstração da aplicação do teste de Memória de Longo Prazo, em que A1 apresenta-se na mesma localização e A3 se encontra em uma nova localização em relação à fase de treino e ao teste de Memória de Curto Prazo.....37
- Figura 9** - (A) Objetos do Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO). (B) Objetos do Teste de Localização de Objetos (TLO).....38
- Figura 10** – Em verde é a região do CPF, e azul representa as regiões de HPC e EST. Corte frontal foi feito para a retirada do CPF, seguido de um corte sagital para a retirada do HPC e EST. Fonte: Compilação do autor.Figura 10 – Em verde é a região do CPF, e azul representa as regiões de HPC e EST. Corte frontal foi feito para a retirada do CPF, seguido de um corte sagital para a retirada do HPC e EST. Fonte: Compilação do autor.....38
- Figura 11** - Avaliação da memória de reconhecimento de curto prazo (% de reconhecimento) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (****) $p < 0,0001$, (**) $p < 0,05$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....42

Figura 12 - Avaliação da memória de reconhecimento de longo prazo (% de reconhecimento) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (***) p < 0,001. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	43
Figura 13 - Gráfico de avaliação da memória de localização de curto prazo (% de localização) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (***) p < 0,001, (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	44
Figura 14 - Gráfico de avaliação da memória de localização de longo prazo (% de localização) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (***) p < 0,0001, (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	45
Figura 15 – Efeito dos tratamentos sobre os níveis de produtos avançados de oxidação proteica (AOPP) no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HPC) e estriado (EST) (n = 8 por grupo). Os dados foram expressos em μmol de Cloramina-T/mg de proteína total. (****) p < 0,0001, (***) p < 0,001, (**) p < 0,01 (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	46
Figura 16 – Efeito dos tratamentos sobre os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HPC) e estriado (EST) (n = 8 por grupo). Os dados foram expressos em μmol de MDA/mg de proteína total. (***) p < 0,001, (**) p < 0,01 (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	48
Figura 17 - Avaliação dos níveis de glutathione reduzida (n = 8 por grupo). \square = SAL/H ₂ O e NAC/H ₂ O comparado com os grupos tratados com álcool (com ou sem administração prévia de NAC). (****) p < 0,0001, (***) p < 0,001, (**) p < 0,01 (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	49
Figura 18 – Análise de correlação (n = 8 por grupo) entre a Memória de Longo Prazo (MLP) no Teste de Reconhecimento de Objeto (TRO) do grupo NAC/EtOH 6, e os níveis de Glutathione Reduzida (GSH) no hipocampo (HPC) do mesmo grupo. r = 0,76, p < 0,05. Análise de correlação de Pearson.....	50
Figura 19 - Avaliação dos níveis de TGO (n = 6 por grupo). SAL/ETOH 3 apresentou um aumento significativo nos níveis de TGO em comparação com o grupo SAL/ H ₂ O (controle). (**) p < 0,01. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	51
Figura 20 - Avaliação dos níveis de TGP (n = 6 por grupo). (****) p < 0,0001, (**) p < 0,01 (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.....	52

Figura 21 - Avaliação das fibras colágenas hepáticas (n = 8 por grupo). (A) Análise da densidade de colágeno no fígado. (****) $p < 0,0001$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey. (B) Imagem histológica do fígado corado com Picrosirius Red (objetiva: 40x; barra: 50 μm)53

Figura 22 – Contagem de mastócitos no fígado (n = 8 por grupo). (A) Quantificação de mastócitos no fígado. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey. (B) Imagem histológica do fígado corado com Alcian Blue (objetiva: 40x; barra: 50 μm)54

LISTA DE ABREVIATURAS

AD	Álcool desidrogenase
ALD	Aldeído desidrogenase
ALT	Alanina aminotransferase
AOPP	Produtos avançados da oxidação proteica
AST	Aspartato aminotransferase
ATV	Área tegumentar ventral
CCS	Centro de Ciências da Saúde
COX-2	Ciclooxigenase-2
CPF	Córtex pré-frontal
CYP2E1	Enzima citocromo P450 2E1
DA	Dopamina
DHA	Doença Hepática Alcoólica
EAAC	Carreador de aminoácidos excitatórios neuronal
EAAT	Transportador de aminoácidos derivados de células astrogliais
ERO	Espécies reativas de oxigênio
EtOH	Etanol
EST	Estriado
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
H₂O	Água destilada
HPC	Hipocampo
IG	Via intragástrica
IP	Via intraperitoneal
IL-10	Interleucina 10
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
iNOS	Óxido nítrico sintase
LENAD	Levantamento Nacional de Álcool e Drogas
LPS	Lipopolissacarídeo

MEOS	Sistema de oxidação microsomal do etanol
mGlu	Receptores acoplados à proteína Gi
MCP	Memória de curto prazo
MLP	Memória de longo prazo
NAC	N-acetilcisteína
NAc	Núcleo accumbens
SAL	Salina estéril
SNC	Sistema nervoso central
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
TLO	Teste de localização de objetos
TRO	Teste de reconhecimento de objetos
xCT	Sistema antiporter cisteína-glutamato

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – O consumo de álcool

As bebidas alcoólicas estão fortemente ligadas à sociedade humana, pois seu consumo é adaptado em diversas culturas e eventos (CAETANO et al., 2011). O consumo de álcool é um hábito antigo do ser humano, com registros históricos datados a aproximadamente 6000 a.C. apresentando indícios de que essa droga já era utilizada, reconhecida muitas vezes como uma substância divina, e isso pode ser um dos fatores que levaram o consumo de etanol prevalecer ao longo do tempo (“Livreto Informativo sobre Drogas Psicotrópicas - CEBRID,” [s.d.]).

O uso de etanol é muito comum em todo o mundo, e estima-se que anualmente cerca de 2 bilhões de pessoas utilizam esta droga nas mais diversas ocasiões. No Brasil, o álcool gera problemas graves na saúde pública, sendo uma das drogas mais consumidas no país (GALDURÓZ; CAETANO, 2004). De acordo com o III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira (2017), cerca de 66,4% da população já consumiu álcool na vida, incluindo os adolescentes; apesar disso, é preciso se atentar também para a forma de consumo desta droga.

1.2 – O consumo de álcool em *binge* por adolescentes

A ingestão excessiva do etanol (EtOH) ou álcool etílico ou simplesmente álcool por adolescentes tem sido uma preocupação de saúde pública, pois os deixa expostos à comportamentos de risco, como dirigir embriagados, envolvimento em brigas e mudanças de comportamento social (MENDONÇA et al., 2018). Estas mudanças comportamentais provocadas pelo uso de álcool estão relacionadas ao fato de que o cérebro adolescente ainda se encontra em processo de maturação, que envolve mudanças estruturais e funcionais na plasticidade sináptica e considerando isto, o cérebro em desenvolvimento possui uma vulnerabilidade aos efeitos prejudiciais do álcool, e por isso esse efeitos podem ser potencializados nesses indivíduos, podendo levar a um impacto significativo no cérebro adulto (GUERRI; PASCUAL, 2010; LEES et al., 2020).

A avaliação das consequências do consumo de álcool deve considerar não somente a frequência do uso, mas, também, o padrão *binge* – termo utilizado para caracterizar o consumo excessivo de álcool em um curto intervalo de tempo (2 horas). Esse padrão de uso está associado a problemas relacionados ao consumo de álcool (BEDENDO et al., 2017), pois esta droga tem efeitos prejudiciais principalmente nestes indivíduos (adolescentes) em longo prazo, afetando regiões importantes no processo cognitivo, como Córtex Pré-Frontal (CPF) e o hipocampo (HPC) (MCCLINTICK et al., 2018).

No último Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (Lenad II), realizado em 2012, observou-se que cerca de 78% dos adolescentes (entre 14 e 17 anos de idade) bebem até 4 doses e 22% bebem 5 doses ou mais (em uma mesma ocasião em um intervalo de 2 horas), que corresponde a aproximadamente 2 litros de cerveja ou 1 garrafa de vinho (Figura 1), e essas quantidades são consideradas consumo em *binge* (LENAD, 2012). Em contrapartida, no último Levantamento Nacional Sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira (2017), entre os adolescentes de 12 a 17 anos entrevistados, 5% (correspondente a um milhão de adolescentes) relatou o consumo de álcool em *binge*, e 34,3% (aproximadamente sete milhões) dos indivíduos menores de 18 anos afirmaram já ter ingerido bebida alcoólica na vida. Em ratos, objeto de estudo do presente trabalho, essa faixa etária (12 a 18 anos) corresponde ao intervalo entre 25 e 42 dias pós-natal aproximadamente (SPEAR, 2015).



Figura 1 - Quantidades correspondentes à 1 dose de álcool. O "beber em *binge*" é caracterizado por 4 doses ou mais para mulheres e 5 doses ou mais para homens, em um intervalo de 2 horas. Fonte: adaptado de ("Relatório Global sobre Álcool e Saúde - 2018," [s.d.]

1.3 – A farmacocinética do álcool

O etanol é absorvido por todo trato gastrointestinal e distribuído para todos os tecidos através do sangue, e as concentrações de álcool em um tecido podem variar, de acordo com o conteúdo de água, fluxo sanguíneo e a massa desse tecido (BODE, Christiane; BODE, 2003; CEDERBAUM, 2012). Seu metabolismo inicia-se no estômago, onde parte do álcool ingerido reage à enzima álcool desidrogenase gástrica, e o restante segue para o intestino e posteriormente é distribuído para os outros sistemas fisiológicos (CEDERBAUM, 2012; MATSUMOTO; FUKUI, 2002). Assim, a eficiência do metabolismo de primeira passagem do álcool determina a sua biodisponibilidade e pode ser retardado ou não dependendo do nível do esvaziamento gástrico (HENDRIKS, 2020). No intestino, o etanol pode provocar disbiose (interrupção da homeostase da microbiota intestinal), o que contribui para a liberação de endotoxinas, e estas, juntamente ao álcool, são entregues ao fígado, e em seguida inicia-se o metabolismo (ENGEN et al., 2015; LOWE et al., 2018).

No fígado o álcool é metabolizado em acetaldeído, um metabólito tóxico, e então em acetato pela ação das enzimas álcool desidrogenase (AD) hepática e aldeído desidrogenase (ALD) hepática que reduzem o cofator NAD^+ a NADH, como está representado na figura 2 (LIEBER, 1997; ROCCO et al., 2014; SALASPURO et al., 1999). Em concentrações elevadas (concentrações plasmáticas em torno de 100 Mm), o sistema de oxidação microsomal do etanol (MEOS) é ativado e intensifica a transformação de álcool em acetaldeído através da ação da enzima citocromo P450, ou CYP2E1 (CEDERBAUM, 2012; JIANG et al., 2020).

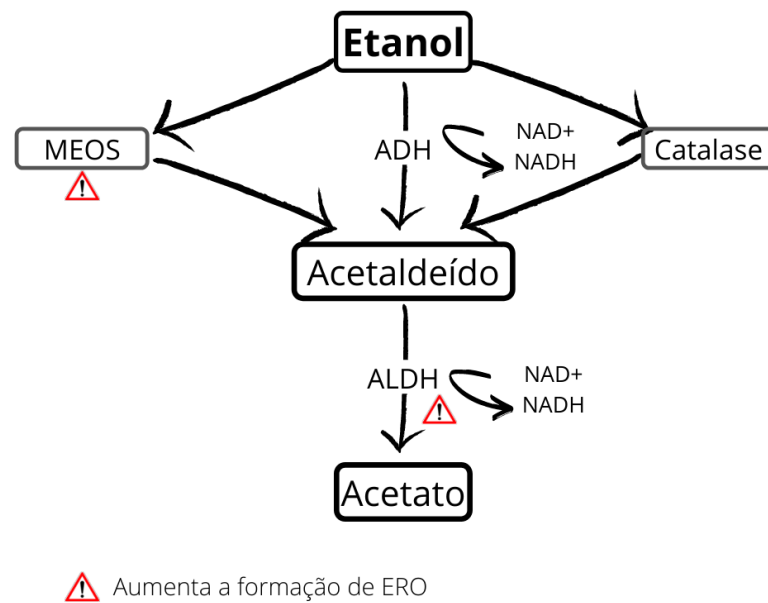


Figura 2 - Sistema enzimático de metabolização do álcool. Fonte: Compilação do autor.

O aumento da concentração de acetaldeído provocado pelo MEOS e a presença de endotoxinas, contribuem para o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e danos hepáticos (BODE, C.; KUGLER; BODE, 1987; KOŁOTA et al., 2020; LOUVET; MATHURIN, 2015; TESCHKE, 2018).

1.4 – Estresse oxidativo e danos hepáticos

Como resultado do aumento da transformação de álcool em acetaldeído, mais NADH é utilizado, e isso requer quantidades adicionais de oxigênio (molécula utilizada no processo de redução de NAD⁺) o que desencadeia em hipóxia nos hepatócitos. Como consequência, há a formação de EROs, moléculas instáveis e que em excesso são responsáveis por provocar danos hepáticos, danos estes denominados de estresse oxidativo, decorrentes do desequilíbrio entre as EROs e a capacidade de atuação dos sistemas de defesa antioxidantes (BARRA et al., 2010; ROCCO et al., 2014; WU; CEDERBAUM, 2003).

Além disto, o aumento da concentração de acetaldeído e das endotoxinas entregues ao fígado juntamente do álcool também contribuem para induzir a produção de EROs (sendo as principais o superóxido, peróxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila) e como resultado, temos o estresse oxidativo (WU; CEDERBAUM, 2003) e uma atividade pró-inflamatória gerada pela liberação de citocinas inflamatórias como a IL-6 e a TNF- α e o recrutamento de neutrófilos, o

que contribui para a peroxidação lipídica (e conseqüentemente acúmulo de gordura) relacionada com o dano hepático (ČAPEK; ROUŠAR, 2021; ROCCO et al., 2014). Toda essa cascata pode levar ao desenvolvimento da Doença Hepática Alcoólica (DHA), que inclui em sua patogênese os estágios de fígado gorduroso, hepatite alcoólica, fibrose e cirrose, podendo em casos mais graves, provocar um carcinoma hepatocelular (DUNN; SHAH, 2016; HK et al., 2018; TESCHKE, 2019; WILLIAMS; DING, 2020).

Por conta dos danos celulares ocasionados por toda a cascata inflamatória dita anteriormente, os níveis séricos das transaminases aumentam, tanto de transaminase oxalacética (TGO) também conhecida como aspartato aminotransferase (AST), quanto de transaminase pirúvica (TGP) ou alanina aminotransferase (ALT), pois ambas (TGO e TGP) se apresentam em alta concentração no fígado por ser o local de produção dessas enzimas (sendo a TGP produzida exclusivamente no fígado), e após a lesão acabam sendo liberadas de forma mais intensa no sangue, por isso são vistos como potenciais biomarcadores relacionados à função hepática (MONTEIRO et al., 2017; T, 1997; TORRUELLAS; FRENCH; MEDICI, 2014; WANG et al., 2012a). Não só o fígado é afetado por todo esse processo metabólico, mas também o cérebro, principal local de ação do etanol (SCIVOLETTO, 2008).

1.5 – Efeitos do álcool no sistema nervoso central (SNC)

Em quantidades baixas ou moderadas, o álcool alivia a ansiedade e pode causar uma sensação de euforia, porém, em doses mais altas essa bebida pode causar riscos à saúde e danos ao cérebro, principalmente nos lobos frontais (GILMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2005; MASTERS, 2014). Seu consumo afeta regiões importantes para a formação de memória, como o CPF, uma área de maturação tardia, tendo em vista que o amadurecimento cortical ocorre em sentido caudal-rostral, e da porção medial para a lateral (PELIÇÃO et al., 2016; SOWELL et al., 1999).

O consumo de álcool em longo prazo pode influenciar de forma direta a saúde física e mental do adolescente, provocando também a diminuição do rendimento escolar (este, também está relacionado com o consumo em curto prazo), e comportamentos de risco para a saúde, como dirigir sob efeito do álcool e comportamentos sexuais de risco (TRINDADE; CORREIA, 1995). Esses comportamentos podem estar relacionados com a perda do controle inibitório no CPF – região relacionada à tomada de decisão – (KING et al., 2020; MCCLINTICK et al., 2018), e

com a tolerância aumentada do indivíduo ao álcool, que por sua vez, está diretamente ligada com a dependência – uma vez que o organismo necessita de doses maiores para obter os mesmos efeitos iniciais (ROZIN; PALMIRA; ZAGONEL, 2012).

O efeito depressor do álcool no Sistema Nervoso Central (SNC) está diretamente ligado aos níveis desta droga no plasma sanguíneo, que está relacionado com parâmetros farmacocinéticos, como a quantidade e velocidade de ingestão (MATSUMOTO; FUKUI, 2002). Essa propriedade também se associa com o aumento da neurotransmissão inibitória e inibição da neurotransmissão excitatória, pois ele estimula o ácido gama-aminobutírico (GABA) e inibe o glutamato (COSTARDI et al., 2015; TESCHKE, 2018). Assim, o álcool potencializa os efeitos de GABA através da sua atuação receptores GABAérgicos, aumentando seus efeitos inibitórios, como sedação, perda de inibição e relaxamento (FLEMING; MIHIC; HARRIS, 2005). A inibição dos efeitos excitatórios do glutamato pelo etanol também provoca um efeito depressor no SNC, devido ao aumento de cálcio no meio intracelular, que pode desencadear déficit de atenção e uma regulação deficiente do sono-vigília (COSTARDI et al., 2015).

O consumo abusivo e episódico do álcool pode levar a alterações no comportamento, estrutura e fisiologia cerebrais (COURTNEY; POLICH, 2009; HILL et al., 2000; YAN et al., 2015), e essas alterações estão muito relacionadas ao sistema de recompensa cerebral, o que pode contribuir para o processo de dependência (CLARKE; ADERMARK, 2015).

1.6 – Sistema de recompensa cerebral

Esse circuito está envolvido na modulação de respostas que envolvem uma recompensa, regulando-as através de estímulos que gerem uma sensação de prazer (HYMAN; MALENKA, 2001), e é constituído pela área tegumentar ventral (ATV), núcleo accumbens (NAc) e córtex pré-frontal (CPF) (Figura 3), além de outras regiões importantes como hipocampo (HPC), estriado (EST) e amígdala basolateral, sendo essa uma neurocircuitaria envolvida no desenvolvimento e manutenção da dependência química (COSTARDI et al., 2015; JOFFE; GRUETER; GRUETER, 2014). Esse processo está relacionado ao aumento do desejo que consequentemente leva à diminuição do prazer a estímulos previamente experimentados, forçando o indivíduo a consumir doses maiores de álcool (BURNETT; CHANDLER; TRANTHAM-DAVIDSON, 2016; GRIFFIN et al., 2015).

O sistema de recompensa cerebral que é composto principalmente por circuitarias neuronais que transmitem dopamina (DA) é desenvolvido e consolidado durante a fase da adolescência (GALVAN, 2010). Apesar de a DA dominar as funções e temas de estudos científicos sobre a sua relação com o comportamento baseado em recompensa (DI CHIARA, Gaetano; BASSAREO, 2007), o sistema de recompensa cerebral também é afetado por outros neurotransmissores como a serotonina e o GABA, entre outros que também estão envolvidos no reforço do álcool como glutamato, peptídeos opioides, colinérgicos e noradrenérgicos (CRUZ et al., 2004; KOOB, G. F. et al., 1994; KOOB, George F., 2004; KRANZ; KASPER; LANZENBERGER, 2010; TOMKINS D. M; SELLERS E. M, 2001), que de maneira geral, auxiliam na liberação de dopamina no NAc. A liberação de dopamina estimula a procura pela sensação de prazer obtida com o uso da droga, o que faz com que o usuário volte a fazer o uso da substância responsável por essa sensação. Dessa forma, quanto maior a capacidade de indução da dependência química, maiores serão os esforços do usuário para consegui-la novamente (NESTLER, 2001).

Dependência química é uma condição neurobiológica, causada pelo abuso repetitivo de substâncias que corrompem o sistema de recompensa e comportamentos adaptativos, que promovem mudanças neuroplásticas (ARIAS-CARRIÁN et al., 2010). A maioria dos achados indicam que drogas de abuso compartilham a característica de aumentar o funcionamento dopaminérgico no mesencéfalo, principalmente nos terminais do NAc (DI CHIARA, G.; IMPERATO, 1988; OLIVE et al., 2001).

Em contraste, o etanol afeta primariamente o funcionamento de receptores GABA, que são os principais receptores inibitórios do cérebro (KUMAR et al., 2009), e durante a abstinência, ocorre o aumento nos níveis extracelulares de glutamato, e conseqüentemente, o desejo pela droga é elevado (BURNETT; CHANDLER; TRANTHAM-DAVIDSON, 2016).

As principais alterações na neurotransmissão glutamatérgica envolvidas nesses processos ocorrem no EST, HPC, ATV, CPF e principalmente no NAc (GRIFFIN et al., 2015). A manutenção de glutamato no NAc é um fator importante para o aumento do desejo pelo etanol e entre os vários processos envolvidos para tal regulação, os transportadores de aminoácidos derivados de células astrogliais (EAAT1 e EAAT2) são os mais fartos. O primeiro atua removendo glutamato extracelular e o segundo promove a troca de cisteína extracelular por

glutamato intracelular. Além desses transportadores, o sistema antiporter cisteína-glutamato (xCT) também favorece essa regulação, da mesma forma que o EAAT2 (DING et al., 2013; J et al., 2015; TRANTHAM-DAVIDSON et al., 2012).

Estudos apontam que após a exposição repetida de etanol, a atividade de EAAT1 se apresenta reduzida, o que diminui a recaptção de glutamato e favorece a elevação os níveis de glutamato no NAc, isto auxilia no efeito do desejo pela droga e a recaída no período de abstinência, além de desencadear prejuízos cognitivos, como a perda do controle inibitório sobre o comportamento e danos na memória e aprendizado (BURNETT; CHANDLER; TRANTHAM-DAVIDSON, 2016; GRIFFIN et al., 2015; LEES et al., 2020).

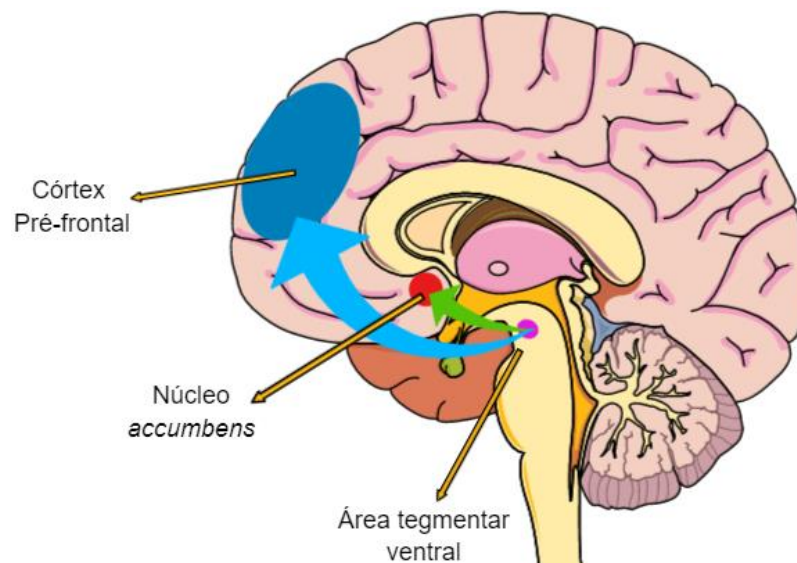


Figura 3 - Representação de um corte sagital médio do encéfalo humano com a marcação das principais áreas do sistema de recompensa cerebral. A neurotransmissão dopaminérgica está representada nas setas verde (para o NAc) e azul (para o CPF). Fonte: Compilação do autor.

1.7 – Efeitos do álcool na memória

Há décadas que se sabe que o uso crônico do álcool também afeta a formação e armazenamento da memória, processo que passa por vários estágios, iniciando com a memória sensorial (que dura apenas alguns segundos), passando pela memória de curto prazo (que dura minutos se a memória for ensaiada), até seu armazenamento na memória de longo prazo (ATKINSON; SHIFFRIN, 1968). O álcool parece influenciar na maior parte desse processo, porém, tem seu

efeito primário na transferência de informação da memória de curto para longo prazo (WHITE, 2003). Indivíduos intoxicados pelo álcool são capazes de se lembrar de eventos ou informações após a sua apresentação e até armazená-las na memória de curto prazo por alguns minutos se não forem distraídos. No entanto, com o aumento das doses, eles começam a apresentar deficiência na capacidade de transferência de informação para armazenamento em longo prazo. Em casos de intoxicação mais grave, após voltar à sobriedade, o sujeito não consegue se lembrar de eventos que ocorreram enquanto estava intoxicado (ACHESON; STEIN; SWARTZWELDER, 1998; WHITE, 2003).

A memória é composta por múltiplos sistemas separados, apoiados por estruturas cerebrais que podem ou não se comunicar entre si, de acordo com o tipo de memória ativada (SQUIRE, 2004). Neste trabalho daremos ênfase às memórias de reconhecimento e localização (ou espacial).

A memória de reconhecimento está relacionada à capacidade de julgar a ocorrência prévia de estímulos, e por isso, é fundamental para o registro de eventos e para aprendizagem (BARKER; WARBURTON, 2011). Através desses estímulos podemos avaliar a capacidade de julgamento a diferentes tipos de informação. Por exemplo, pode ser analisado se um determinado indivíduo é novo ou familiar, e/ou associar um item a um local ou contexto específico ou até mesmo a outro objeto. Esse julgamento pode ser feito usando a familiaridade de um indivíduo a um determinado item. As principais regiões cerebrais envolvidas nas tarefas da memória de reconhecimento são o Córtex Pré-Frontal (CPF) e Hipocampo (HPC) (WARBURTON; BROWN, 2015).

A memória de localização consiste em múltiplos mecanismos específicos para codificar, armazenar e recuperar informações sobre rotas, configurações e localizações espaciais, e o HPC está seletivamente envolvido nesse tipo de memória, e se associa com outras regiões como o EST e CPF (EPSTEIN et al., 2017; JOHNSON et al., 2016; SOLARI; HANGYA, 2018).

O CPF está envolvido em processos mentais relacionados à aprendizagem, concentração, memória, julgamento, entre outras funções de alta complexidade que envolve raciocínio e planejamento (NAKAMURA-PALACIOS, 2011). Em ratos, essa região pode ser dividida em CPF medial, lateral e ventral (PELIÇÃO, 2014). Estudos mostram que lesões nessa região pode afetar o julgamento do animal entre um objeto “mais novo” e um “mais antigo”, fazendo com

que eles preferam explorar o objeto já familiarizado, sugerindo seu envolvimento na memória de reconhecimento (MORICI; BEKINSCHTEIN; WEISSTAUB, 2015).

Um fato importante sobre o CPF é que essa região se desenvolve tardiamente, pois a maturação cortical ocorre em sentido caudal-rostral. Assim, o CPF é a última região a sofrer maturação, tendo seu desenvolvimento completo por volta dos 30 anos nos seres humanos – em ratos observa-se que a maturação dessa região ocorre na fase adulta, o que equivale a aproximadamente 15 semanas (SOWELL et al., 1999; PELIÇÃO, 2014; CHOI et al., 2015; MENGLER et al., 2014). Isso é muito importante no abuso de drogas, principalmente entre adolescentes (PASCUAL et al., 2007), que ainda não possuem esta região em plena maturação e sendo essa uma área cerebral envolvida no processo neural de dependência de droga e comportamento, lesões nessa região poderiam não só afetar o desenvolvimento de suas estruturas, mas também, suas funções cognitivas (THOMPSON et al., 2004; PELIÇÃO, 2014).

O hipocampo se localiza na porção medial do lobo temporal e é uma estrutura em forma de C. Esta é uma área importante para a memória de curto e longo prazo, além de estar envolvida no processo de aprendizagem (WARBURTON; BROWN, 2015; PELIÇÃO, 2014). Esta é uma região essencial na memória de reconhecimento e espacial. Estudos mostraram que lesões nessa área podem afetar os processos da memória, principalmente em tarefas de reconhecimento. Por outro lado, se a tarefa envolver a discriminação de algo por familiaridade, essas lesões não terão efeito (WARBURTON; BROWN, 2015; CLARK; ZOLA; SQUIRE, 2000).

Juntamente do córtex pré-frontal e do hipocampo, temos o estriado, região que também auxilia nos processos de memória e aprendizagem, e possui um papel importantíssimo no planejamento motor e na seleção de ações. Sua disfunção está não só associada ao déficit de aprendizagem como também a dependência (DO et al., 2013; PUIGHERMANAL et al., 2020).

Os dois tipos de memória avaliados nesse trabalho podem ser mais afetados negativamente após uma exposição prolongada ao álcool, por conta do advento de processos inflamatórios principalmente nas regiões citadas anteriormente, que estão relacionadas a formação de memória e outros processos cognitivos (KING et al., 2020; TERASAKI; SCHWARZ, 2017).

1.8 – Efeitos prejudiciais do álcool no cérebro

Os produtos gerados no metabolismo do álcool, incluindo endotoxinas do lúmen do intestino, caem na circulação sistêmica e atingem o SNC, e assim, também auxiliam na indução de estresse oxidativo e na ativação da resposta neuroinflamatória (DUMITRESCU et al., 2018; LOWE et al., 2018; SALIM, 2017).

O consumo de álcool em *binge* provoca efeitos neurotóxicos, o que pode danificar regiões como o CPF, HPC e EST, através de um processo inflamatório, e isso acaba prejudicando as funções cognitivas como memória e aprendizado (MARSHALL; GEIL; NIXON, 2016). Entretanto, os mecanismos subjacentes aos danos cerebrais induzidos por esta droga ainda são pouco conhecidos, mas, pesquisas mostraram que há mediadores inflamatórios (liberados devido a intoxicação pelo álcool) no cérebro que ativam células gliais, como a micróglia – também conhecida como macrófago cerebral (PASCUAL et al., 2007).

A micróglia é a principal célula imune do Sistema Nervoso Central (SNC). Sua morfologia é alterada de acordo com o seu estado de ativação e o fenótipo expresso por ela (M1 ou M2) (MARSHALL et al., 2013). Quando ela está em estado de repouso, sua morfologia apresenta várias ramificações, partindo do seu corpo celular, e ao entrar em estado reativo, essas ramificações diminuem, caracterizando o primeiro fenótipo expresso (M1) e o aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias e de Iba-1 (marcador microglial expresso em todos os estados de ativação) (MARSHALL et al., 2013; MARSHALL; GEIL; NIXON, 2016).

O estado de ativação M2 é também conhecido como estado fagocítico ou anti-inflamatório (SASAKI, 2016), onde a micróglia adquire uma morfologia ameboide. O mecanismo de ativação da micróglia pelo álcool ainda não é esclarecido, mas estudos relataram, em um modelo de neuroinflamação induzida pelo álcool, que todas as micróglias ativadas eram pró-inflamatórias (M1), enquanto que em um modelo de neurodegeneração, observou-se um baixo nível de micróglia fagocítica (M2) (MARSHALL; GEIL; NIXON, 2016; MARSHALL et al., 2013; SASAKI, 2016).

Esta célula inicia um processo inflamatório através da liberação de citocinas pró-inflamatórias, ao ser ativada, mas ainda não está claro se a ativação microglial associada à ingestão de álcool é a causa ou consequência da neuroinflamação causada por essa droga e dos danos gerados no

CPF, HPC e EST (BARTON et al., 2017; KANE; DREW, 2016; PASCUAL et al., 2007). Sabe-se que ao ser ativada (fenótipo M1), ela libera mediadores inflamatórios, como a ciclooxigenase-2 (COX-2), óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e citocinas pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α), a Interleucina-1 β (IL-1 β) e IL-6. Elas (principalmente o TNF- α) iniciam uma cascata de ativação de outras citocinas e fatores tróficos (AKHTAR et al., 2017; KRAYCHETE; CALASANS; VALENTE, 2006), começando assim, um processo neuroinflamatório, que prejudica a função cognitiva (ZHAO et al., 2013). Concomitantemente, EROs também se apresentam como um fator importante no desenvolvimento da neuroinflamação, o que torna o estresse oxidativo, uma condição adicional que também pode estar relacionada com os danos cognitivos, pois tem grande influência na cascata inflamatória desenvolvida pela micróglia (HENRIQUES et al., 2018).

Um mecanismo que protege contra a evolução do estresse oxidativo está relacionado à glutathiona reduzida (GSH), que constitui o sistema antioxidante não enzimático mais abundante no nosso organismo e desempenha um papel muito importante na eliminação das espécies reativas no tecido cerebral. A glutathiona reduzida (GSH) é um tripeptídeo, formado por glicina, glutamato e cisteína, - com grupo tiol livre - que pode doar elétrons para a redução de peróxidos, formando a glutathiona oxidada (GSSG). A GSH desempenha uma de suas funções antioxidantes por meio da doação de elétrons para a redução de peróxidos na reação com a glutathiona peroxidase (GPx). Por esse motivo, acredita-se que essa pode ser uma via para tratamento contra os danos relacionados ao álcool (CHANCE; SIES; BOVERIS, 1979; SALIM, 2017; SAMARGHANDIAN et al., 2017).

1.9 – Tratamentos contra os transtornos relacionados ao uso de álcool

Medidas de tratamento contra os transtornos relacionados ao uso de álcool já existem, a maioria delas aplicadas para a manutenção da abstinência (LITTEN et al., 2016), como por exemplo, o disulfiram, naltrexona e acamprosato, que mesmo agindo por mecanismos diferentes, seus efeitos promovem a redução no consumo de álcool (SKINNER et al., 2014). Além destes, outros medicamentos alternativos vêm sendo utilizados *off-label* (termo utilizado para drogas farmacêuticas empregadas em condições que não são as indicadas para ela) na clínica, como anticonvulsivantes (topiramato, gabapentina e pregabalina) e antipsicóticos (quetiapina e aripripazol), todos com o efeito em comum de manutenção da abstinência, mas sem relatos de

efeitos positivos em relação aos danos cognitivos e hepáticos provocados pelo uso de álcool (AKBAR et al., 2018).

1.10 – A N-acetilcisteína como estratégia terapêutica contra transtornos relacionados ao uso de álcool

A N-acetilcisteína (NAC) é considerada um fármaco seguro e bem tolerado que possui diversas indicações clínicas, tais como: tratamento de hepatotoxicidade por intoxicação com paracetamol, bronquite, fibrose cística, doença pulmonar obstrutiva crônica, dentre outras (HEARD, 2008; MILLEA, 2009). A NAC é uma substância quimicamente semelhante à cisteína. Em comparação à cisteína, a NAC é menos tóxica e menos propensa à oxidação (e dimerização) e é mais solúvel em água, por isso é preferível (BONANOMI; GAZZANIGA, 1980). Indivíduos que receberam suplementação com a NAC obtiveram efeito antioxidante e anti-inflamatório (ERIC et al., 2011), e ela também tem demonstrado ser eficaz no tratamento da esquizofrenia e na manutenção da abstinência de um número de drogas como maconha, cocaína, metanfetaminas e nicotina (MÖLLER et al., 2013; SQUEGLIA et al., 2016).

A NAC parece exercer um efeito direto nos macrófagos cerebrais (micróglia) através da regulação neuronal e suas propriedades antioxidantes. E em linhagens de células de macrófagos ativadas por lipopolissacarídeos (LPS) ela é capaz de inibir as citocinas pró-inflamatórias citadas anteriormente (MINARINI et al., 2017). Estudos mostram que a NAC pode inibir a alta produção de TNF- α no cérebro em casos de lesões agudas causadas por lipopolissacarídeos (SURY et al., 2006). Além disso, segundo Akhtar et al. (2017), a NAC estimula a liberação de citocinas anti-inflamatórias e conduz a micróglia a um fenótipo M2 (anti-inflamatório).

A NAC é um pró-fármaco, que age no interior da célula auxiliando na síntese de glutathiona (GSH), um agente antioxidante que neutraliza espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, promovendo uma defesa contra o estresse oxidativo e regulando a resposta imune (DEEPMALA et al., 2015). Ao entrar na célula ela é hidrolisada, liberando cisteína, um precursor de GSH, que sofrerá ação da glutamato-cisteína ligase, que promove a ligação da cisteína com o glutamato, formando a γ -glutamilcisteína, essa por sua vez dará origem à glutathiona, ao passar pela ação da GSH sintetase (BAVARSAAD SHAHRIPOUR; HARRIGAN; ALEXANDROV, 2014). GSH pode ser mantido em sua forma tiol no interior da célula, até

sofrer ação da GSH redutase, que utiliza NADPH, como pode ser observado na figura 4 (SEN, 1997; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

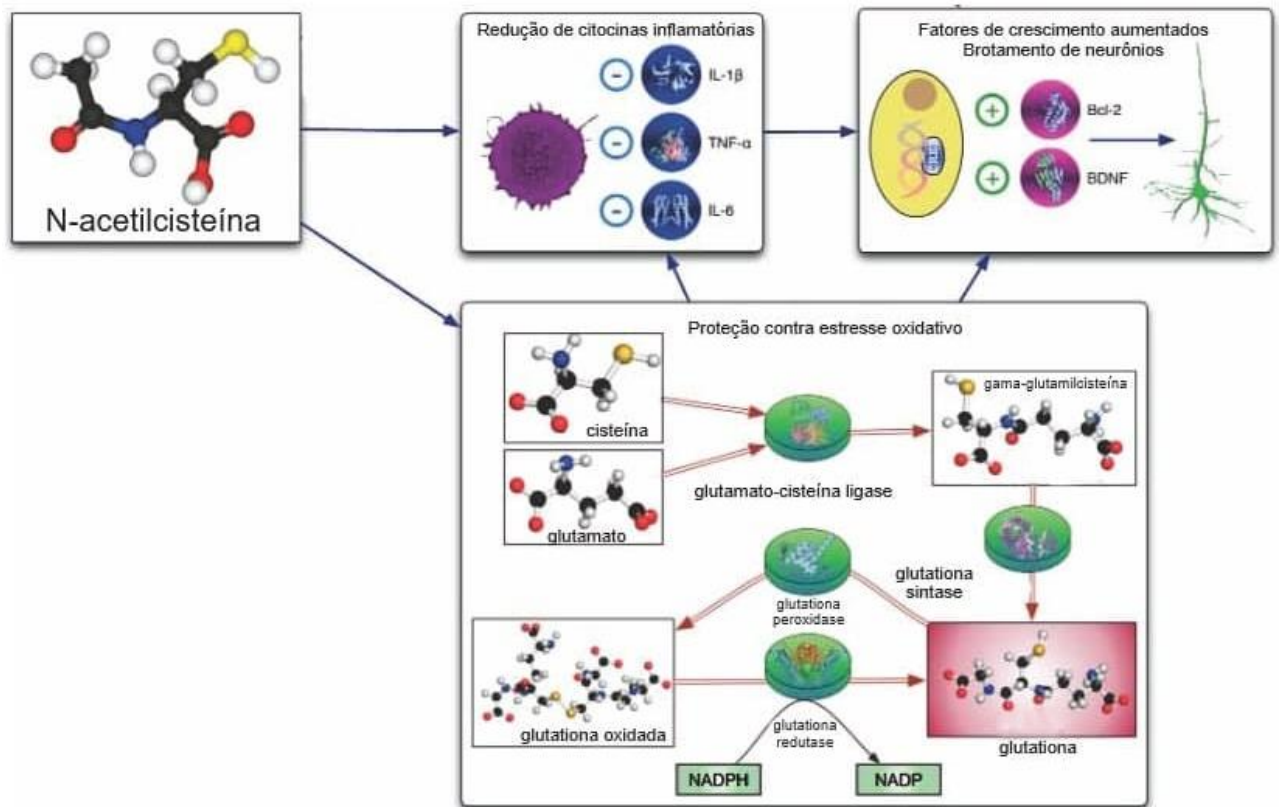


Figura 4 - Mecanismo de ação da N-acetilcisteína (DEAN; GIORLANDO; BERK, 2011).

Assim, ela irá atuar na proteção contra estresse oxidativo e na diminuição de citocinas inflamatórias, de forma enzimática e não enzimática. A glutatona envia um feedback negativo para inibir a ação da glutamato-cisteína ligase (BAVARSAID SHAHRIPOUR; HARRIGAN; ALEXANDROV, 2014; DEEPMALA et al., 2015).

Além de seus efeitos antioxidante e antiinflamatório, observa-se um efeito positivo na manutenção da abstinência de drogas como cocaína, maconha e álcool, e sugere-se que a NAC auxilie na manutenção das concentrações de glutamato no núcleo accumbens (que se apresenta elevada durante a escassez da droga) nos indivíduos dependentes, e isso reduz a motivação e a busca pela droga (LEBOURGEOIS et al., 2019). Esse mecanismo ocorre porque a NAC ativa o sistema antiporte x_c^- no astrócito (Figura 5), que promove a troca de cisteína extracelular por glutamato intracelular, e com isso as concentrações de glutamato extra-sináptico aumentam, o que promove feedback negativo ativando receptores pré-sinápticos mGlu 2/3 (receptores

acoplados à proteína Gi) inibindo assim a secreção de glutamato no núcleo accumbens (DRESSMAN et al., 2016; ISRAEL et al., 2019; LEBOURGEOIS et al., 2019b).

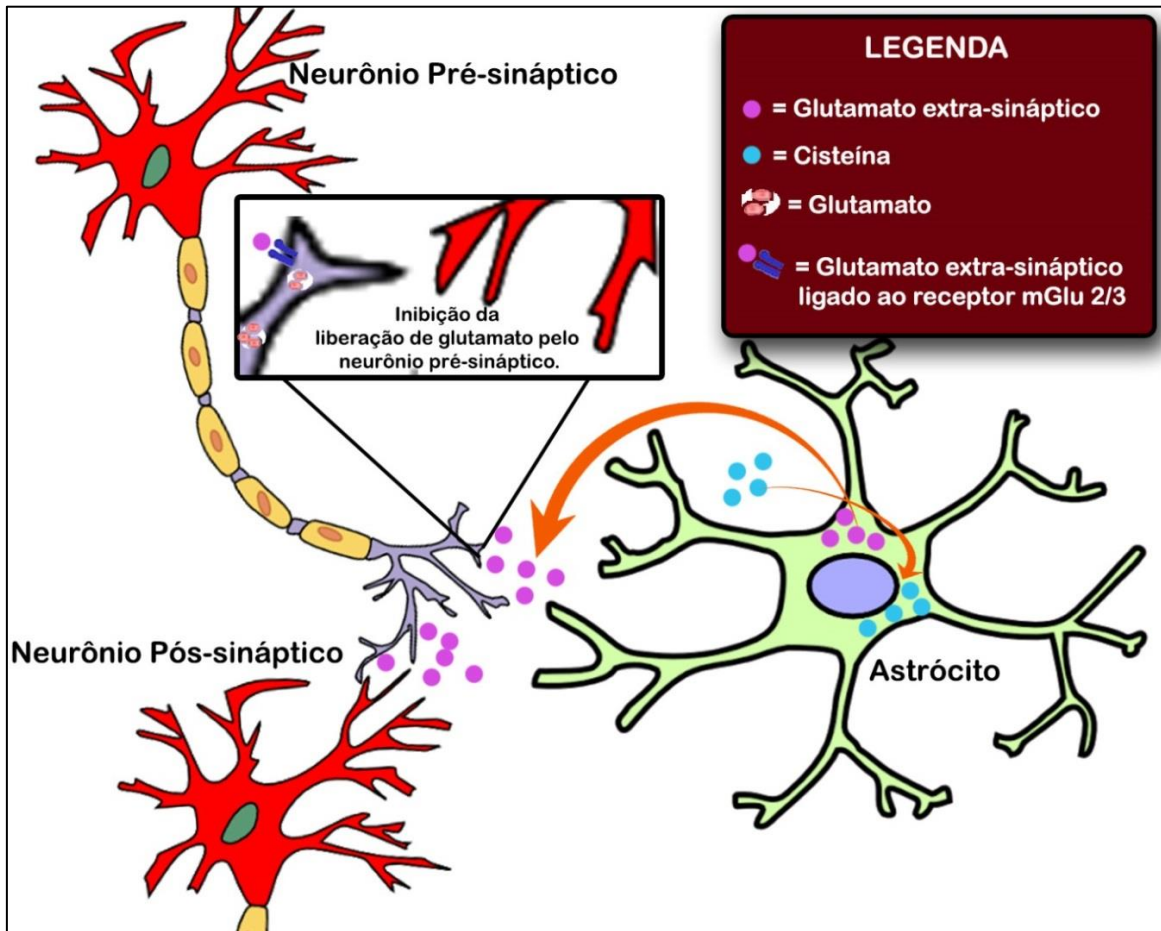


Figura 5 - Ativação do sistema antiporte x_c^- no núcleo accumbens, realizado pela NAC. Fonte: Compilação do autor.

2 - JUSTIFICATIVA

Em todo o mundo, o consumo abusivo e episódico de álcool é encarado como um dos principais problemas relacionado ao uso de drogas, pois essa forma de consumo (descrita como *binge*) está relacionada ao desenvolvimento de prejuízos em diferentes funções no SNC e no fígado, e por isso tem grande relevância no âmbito da saúde pública. O consumo de álcool em *binge* por adolescentes, tem aumentado cada vez mais, e isso é um fator preocupante principalmente porque o SNC e as funções cognitivas desse público não estão completamente desenvolvidas (em especial, o CPF), o que torna a busca por tratamentos que atendam esse problema necessária. Tendo em vista que a NAC se apresenta como uma droga promissora com efeitos positivos no tratamento de transtornos por uso de substâncias, esse estudo apresenta uma relevância na busca de estratégias de tratamentos sobre os efeitos deletérios do álcool, que pode refletir na sociedade e complementar uma série de outras pesquisas envolvidas na busca por fármacos que possam auxiliar no tratamento da dependência ao álcool.

3 – OBJETIVOS

3.1 – Geral

Investigar os efeitos protetores da NAC contra os possíveis danos no cérebro e no fígado provocados pelo consumo de álcool em *binge* crônico na adolescência.

3.2 – Específicos

- I. Avaliar os possíveis danos na memória de reconhecimento e localização provocados pelo consumo de álcool em *binge* crônico na adolescência.
- II. Estimar níveis de estresse oxidativo no CPF, HPC e EST nos ratos adolescentes submetidos ao tratamento de álcool em *binge* crônico.
- III. Investigar danos no fígado relacionados ao consumo de álcool em *binge* crônico na adolescência
- IV. Analisar os efeitos da NAC na memória de reconhecimento e localização, assim como nos parâmetros de estresse oxidativo em ratos adolescentes submetidos ao tratamento de álcool em *binge* crônico.
- V. Examinar os efeitos da NAC contra os possíveis danos hepáticos associados à ingestão de álcool em *binge* nos ratos adolescentes.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Animais

Foram utilizados 132 ratos Wistar machos (22 animais por grupo), jovens (30 dias), pesando entre 220 g e 270 g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram mantidos em gaiolas com controle de temperatura ($22^{\circ}\text{C} \pm 2$) e umidade, num ciclo claro-escuro artificial de 12 h, com água e alimento *ad libitum*. Os experimentos foram realizados conforme as orientações da Sociedade Brasileira de Biologia Experimental, utilizando métodos experimentais aprovados pela Comissão de Ética no uso de animais do CCS/UFES (Protocolos n.º. 12/2017 e 46/2018).

4.2 – Drogas

Foram utilizados para tratamento o álcool etílico (EtOH) e Nacetilcisteína (NAC). O EtOH absoluto pró-análise (Jand Química, São Paulo, SP) foi diluído em água destilada, na concentração máxima de 10% na dose de 3 g/kg e 20% na dose de 6 g/kg (m/v) e administrado por via intragástrica (IG), num volume de 3 mL para cada 100 g de animal. A N-acetilcisteína (Sigma Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, SP) foi diluída em salina estéril para administrações intraperitoneais (IP) na dose de 150mg/kg, num volume de 0,15ml da solução para cada 100g do animal. As soluções controle foram água destilada – H₂O (para o álcool) e salina estéril – SAL (para a NAC).

4.3 – Desenho experimental

Os animais receberam uma dose de SAL ou NAC 150 mg/kg, ambos via IP, e 30 minutos depois H₂O ou EtOH 3 g/kg ou 6 g/kg, IG. As doses por via IG foram divididas em duas administrações para evitar regurgitação e possíveis danos ao animal. O tratamento foi feito durante três dias consecutivos ao longo de um mês, caracterizando o que chamamos de *binge* crônico. Os animais foram divididos, portanto, em seis grupos de tratamento independentes: (1) SAL seguida de H₂O, (2) NAC seguido de H₂O, (3) SAL seguido de EtOH (3 g/kg), (4) SAL seguido de EtOH (6 g/kg), (5) NAC seguido de EtOH (3 g/kg) e (6) NAC seguido de EtOH (6 g/kg) (Figura 6).

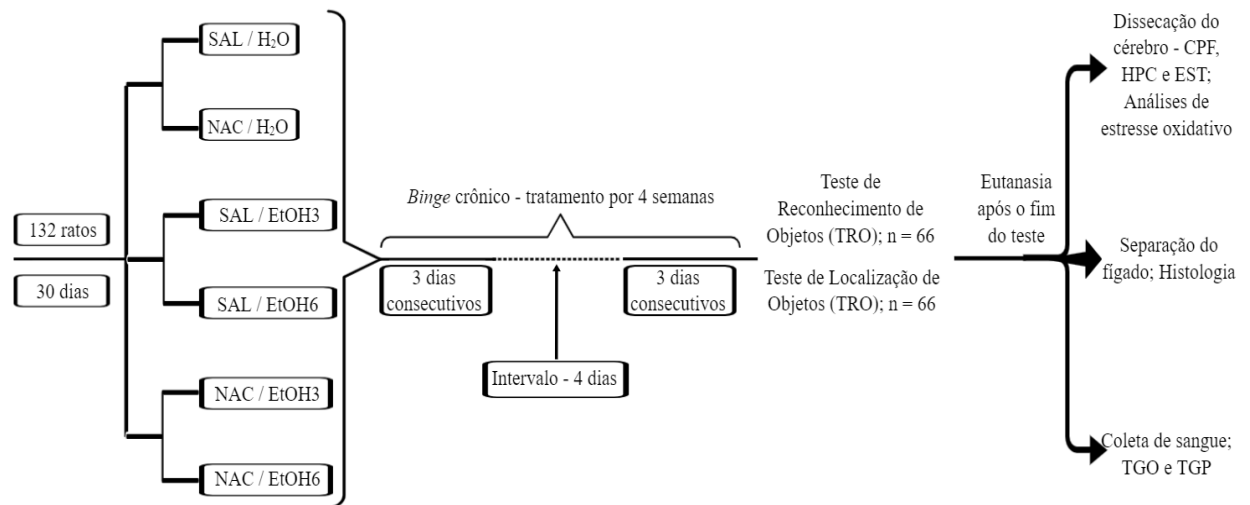


Figura 6 - Delineamento experimental.

4.4 – Teste de reconhecimento de objetos

Foram realizadas sessões com o Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO), seguindo um modelo adaptado (ENNACEUR; DELACOUR, 1988). A caixa de teste é confeccionada em acrílico transparente, nas dimensões 600mm x 600mm x 450mm, recoberta com papel adesivo preto nas laterais e no piso. As sessões foram gravadas utilizando o software ANY-maze Video Tracking System para análise posterior.

Esse teste é amplamente utilizado para avaliar a capacidade de memorizar e reconhecer objetos novos (Figura 7). No primeiro dia, considerado o dia de habituação, o animal foi posto na caixa, sem nenhum objeto, para que explorasse e se habituassem ao ambiente por um período de 10 minutos.

Após 24 horas, na sessão treino, o animal foi reconduzido à caixa, com dois objetos exatamente iguais (A1 e A1). Os objetos estavam equidistantes na caixa, a 15 cm das paredes laterais. A sessão teve tempo total de 5 minutos para que o animal explorasse o ambiente livremente.

Uma hora e 30 minutos após término da sessão treino, foi avaliada a memória de curto prazo (MCP). O animal foi novamente posto na caixa com dois objetos (A1 e B1), de material semelhante (plástico), porém de formas distintas. O tempo total dessa sessão também foi de 5 minutos.

Para testar a memória de longo prazo (MLP) o animal retornou à caixa, 24 horas após a sessão treino, com dois objetos (A1 e C1). Nessa sessão o animal também teve 5 minutos para explorar o ambiente. Para a análise dos dados foi utilizado o índice de reconhecimento, calculado pela fórmula $IR = \frac{TN}{(TA+TN)} \times 100$, onde TN é o tempo gasto para explorar o objeto novo e TA é o tempo gasto para explorar o objeto já familiar ao animal. Os objetos utilizados nesse teste são apresentados na Figura 9A

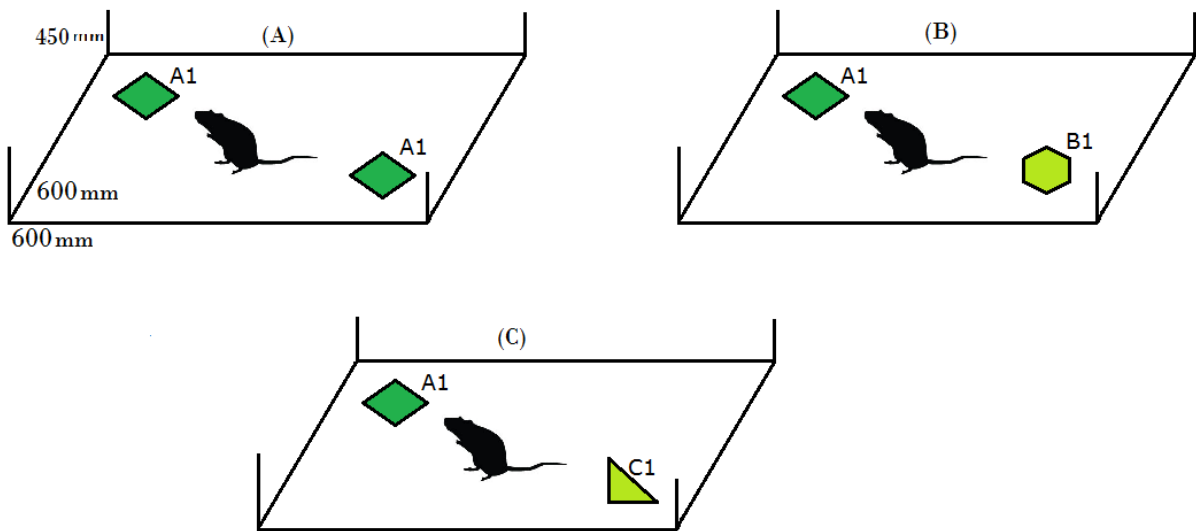


Figura 7 - (A) demonstração da sessão treino em que os objetos eram semelhantes, descritos na figura como A1; (B) demonstração da aplicação do teste de Memória de Curto Prazo, em que A1 aparece como objeto conhecido e B1 como objeto novo; (C) demonstração da aplicação do teste de Memória de Longo Prazo, em que A1 representa o objeto conhecido e C1 o segundo objeto novo. Todas as demonstrações em questão tiveram duração de 300 segundos de exposição e monitoramento.

4.5 – Teste de localização de objetos

Sessões com o Teste de Localização de Objetos (TLO) também foram realizadas, utilizando animais diferentes do teste anterior, seguindo um modelo adaptado de (ENNACEUR; NEAVE; AGGLETON, 1997). A caixa de teste foi a mesma utilizada no TRO, e o teste iniciava da mesma forma, com o animal sendo submetido a uma sessão de habituação por 10 minutos na caixa sem objetos (Figura 8). As sessões foram gravadas utilizando o software ANY-maze Video Tracking System para análise posterior.

Após 24 horas, na sessão de treino, o animal foi recolocado na caixa, com dois objetos exatamente iguais (A1 e A1). Os objetos estavam equidistantes na caixa, a 15 cm das paredes laterais. A sessão durou um tempo total de 5 minutos para que o animal explorasse o ambiente livremente.

Uma hora e 30 minutos após término da sessão treino, foi avaliada a memória de localização de curto prazo (MCP). O animal foi novamente posto na caixa com os dois objetos iguais (A1 e A1), porém um deles se encontrava em outro canto adjacente (chamamos o objeto em nova localização de A2). O tempo total dessa sessão também foi de 5 minutos.

Para testar a memória de localização de longa duração (MLP) o animal retornou à caixa, 24 horas após a sessão treino, com os mesmos dois objetos, mas dessa vez, o objeto A2 foi posto em uma localização diferente da sessão anterior, uma terceira localização (passamos a chamá-lo de objeto A3). Nessa sessão o animal também teve 5 minutos para explorar o novo local.

Os dados foram analisados da mesma forma do TRO, utilizando desta vez o índice de localização, calculado pela fórmula $IL = \frac{TN}{(TA+TN)} \times 100$, onde TN é o tempo gasto para explorar o objeto no novo local e TA é o tempo gasto para explorar o objeto no local já familiar ao animal. Os objetos utilizados nesse teste são apresentados na Figura 9B

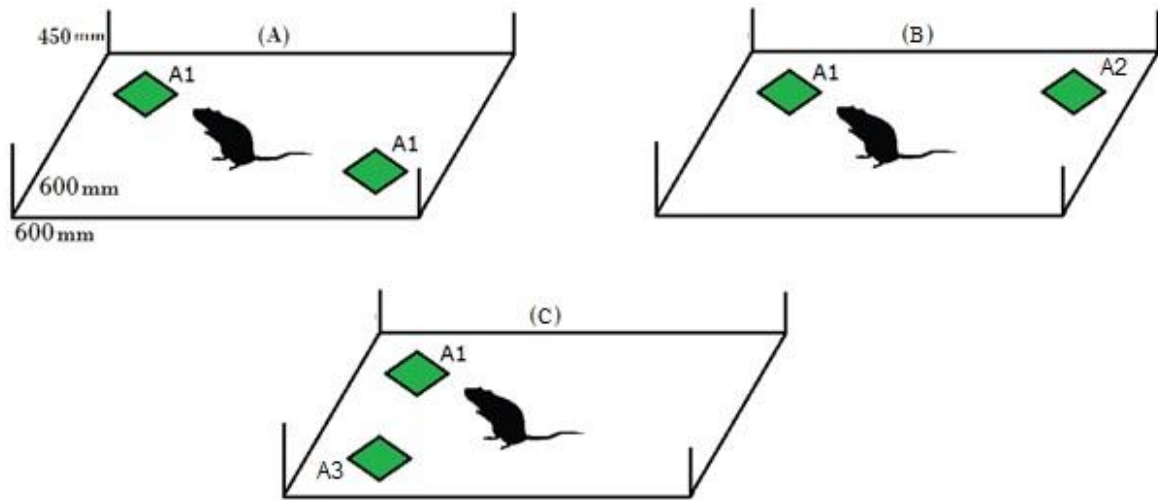


Figura 8 - (A) demonstração da aplicação da fase de treino, em que os objetos são semelhantes, descritos na figura como A1; (B) demonstração da aplicação do teste de Memória de Curto Prazo, em que A1 e A2 são objetos conhecidos, porém A2 aparece em uma nova localização em relação à fase de treino; (C) demonstração da aplicação do teste de Memória de Longo Prazo, em que A1 apresenta-se na mesma localização e A3 se encontra em uma nova localização em relação à fase de treino e ao teste de Memória de Curto Prazo.

4.6 – Critérios de exploração de objetos

O tempo gasto em cada objeto foi cronometrado durante os 5 minutos dos testes de curto e longo prazo, tanto do TRO quanto do TLO, para isso, foram considerados comportamentos exploratórios direcionar o nariz a uma distância < 2 centímetros, posicionar as patas e o nariz sobre os objetos. Virar-se ou acomodar-se ao lado dos objetos não foi considerado como exploração. Os critérios descritos foram adaptados de Ennaceur e Delacour (1988).



Figura 9 - (A) Objetos do Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO). (B) Objetos do Teste de Localização de Objetos (TLO).

4.7 – Ensaio bioquímicos

Dois dias após o final do tratamento, ao encerrar a última sessão dos testes comportamentais, os animais foram decapitados para a coleta de sangue da região cervical e a remoção do cérebro, seguida da dissecação cuidadosa do CPF, HPC, EST (figura 10), que foram colocados em tubos Eppendorf previamente rotulados, em seguida congelados em gelo seco, e posteriormente armazenados a -80°C em um freezer.

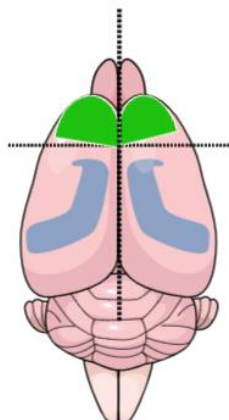


Figura 10 – Em verde é a região do CPF, e azul representa as regiões de HPC e EST. Corte frontal foi feito para a retirada do CPF, seguido de um corte sagital para a retirada do HPC e EST. Fonte: Compilação do autor.

4.8 – Preparação do tecido e dosagem de proteína para ensaios de estresse oxidativo

As estruturas cerebrais foram pesadas e homogeneizadas com solução salina tamponada com fosfato 0,01 M (PBS), pH 7,4, contendo cloreto de potássio 140 mM. Aproximadamente 400 µl de homogenato de cada amostra foram centrifugados a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C. O sedimento foi descartado e o sobrenadante foi imediatamente separado e utilizado para a determinação de produtos avançados da oxidação proteica (AOPP) e dosagem de proteína. A proteína foi medida pelo método de Bradford (1976) usando albumina de soro bovino como padrão. Uma outra porção de homogenato foi utilizada para o ensaio de glutathiona reduzida (GSH) e substâncias reativas a ácidos tiobarbitúricos.

4.9 – Determinação de produtos avançados da oxidação proteica

Os produtos avançados de oxidação de proteínas (AOPPs) foram medidos conforme descrito por (WITKO-SARSAT et al., 1998) por espectrofotometria em um leitor de microplacas (modelo Varioskan® Flash). O ensaio foi calibrado com soluções de cloramina-T que, na presença de potássio iodeto, é absorvida a 340 nm. 200 microlitros de sobrenadante diluído 1/5 em PBS ou solução padrão de cloramina-T (0 a 100 µM) em triplicata foram colocados em cada poço numa placa de microtitulação de 96 poços. Foram adicionados dez microlitros de 1,16 M de iodeto de potássio, seguidos pela adição de 20 µl de ácido acético. A absorbância da mistura de reação foi lida imediatamente a 340 nm no leitor de microplacas contra um branco contendo 200 µl de PBS, 10 µl de iodeto de potássio e 20 µl de ácido acético. A absorbância dos padrões de cloramina-T a 340 nm foi linear na faixa de 0 a 100 µM. Os AOPPs foram determinados quando o coeficiente de correlação foi maior que 0,95. As concentrações foram expressas em µmol de Cloramina-T/mg de proteína total.

4.10 – Análise de glutathiona reduzida

Para o ensaio de glutathiona reduzida (GSH) foram separados 100 µl de homogenato e diluídos em 70 µL de PBS 1x e 200 µL de ácido tricloroacético (TCA 12,5%). As amostras foram centrifugadas por 15 min/ 3000 RPM a 4°C. Então foram pipetados em triplicata 60 µL do sobrenadante para microplaca de 96 poços, juntamente com 200µL de TRIS-HCL 0,4 M e 20µL de DTNB (3,95 mg/mL). Foi pipetado também uma curva padrão de GSH nas concentrações de 2; 1; 0,5; 0,25; 0,12; 0,06; 0,03 e 0,01 mg/mL. A placa foi então incubada ao abrigo de luz

por 50 min e em seguida a leitura foi realizada em comprimento de onda de 415 nanômetros, e o cálculo de concentração foi realizado utilizando-se a curva padrão de GSH (DA COSTA et al., 2019).

4.11 – Ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Os níveis de peroxidação lipídica foram determinados pelo ensaio espectrofotométrico de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), com base na reação entre malondialdeído (MDA) e ácido triobarbitúrico (TBA), conforme descrito por Leal *et al.* (2015). Resumidamente, uma porção do homogenato foi diluída com ácido tricloroacético e hidroxitolueno butilado. Após o vórtex, as amostras foram colocadas em banho seco e depois centrifugadas a 14000 rpm por 2 minutos a 4°C. A fase superior foi diluída com ácido triobarbitúrico e colocada em banho seco por 30 min, e posteriormente foi lida a 532 nm em triplicata usando um espectrofotômetro. As concentrações foram expressas em μmol de MDA/mg de proteína total.

4.12 – Histologia do fígado

Durante a eutanásia o fígado foi removido e fixado em PF4% -PBS pH 7,4 durante 24-48 h à temperatura ambiente. Após a fixação, os tecidos foram desidratados em uma série graduada de etanol, clarificados em xilol, embebidos em parafina a 60 ° C e posteriormente seccionados em fatias de 5 μm . As secções foram coradas com picrossírius red (fibras colágenas) e alcian blue (mastócitos) (PENZA et al., 2011).

Todas as análises histomorfométricas foram realizadas de maneira cega e examinadas sob um microscópio óptico convencional (Olympus BX51; Olympus Latin America-Inc. SP, Brasil), e cada uma dessas seções foi usada para obter 20 fotomicrografias com objetiva de 40 X (DA COSTA, Charles S. et al., 2019).

4.13 – Avaliação das trasaminases

Amostras de sangue da região cervical foram coletadas durante a eutanásia em tubos sem anticoagulante, em seguida foram centrifugadas a 3800 rotações por minuto (2324 g), a 4 °C durante 15 minutos, para se obter o soro, que foi acondicionado a -20°C para análise posterior

das transaminases. A transaminase oxalacética (TGO) e a transaminase pirúvica (TGP) foram determinadas utilizando kits colorimétricos de acordo com os protocolos do fabricante (Bioclin, K034 e K035).

4.14 – Análise estatística

Todos os dados foram expressos como média \pm e.p.m. Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino e Pearson. Para avaliação das memórias de reconhecimento e localização, foi utilizado o índice de reconhecimento e de localização, e foi utilizada análise de variância (ANOVA) de duas vias para medidas independentes, seguida de teste de Tukey, sendo considerado um nível de significância para $p < 0,05$. O mesmo foi realizado para as análises bioquímicas de AOPP, TBARS, GSH, TGO e TGP e análises histológicas. O Software utilizado para as análises e elaboração dos gráficos foi o GraphPad Prism (versão 7).

5 - RESULTADOS

4.1 – Teste de reconhecimento de objetos

Para a análise do TRO os resultados apresentaram um efeito significativo na memória de curto prazo com relação a variável tratamento com álcool (EtOH) [$F(2, 60) = 12,54, p < 0,0001$]. Especificamente, essa diferença foi observada nas doses de EtOH 3g/kg ($p = 0,021$) e EtOH 6g/kg ($p < 0,0001$), que tiveram um desempenho inferior aos animais do grupo H₂O. Foi observada também uma interação entre as variáveis tratamento com EtOH e NAC [$F(2, 60) = 16,18, p < 0,0001$], em que observamos um efeito inibitório da NAC com relação aos déficits na memória de curto prazo causados pelo EtOH em ambas as doses ($p < 0,0001$; Figura 11).

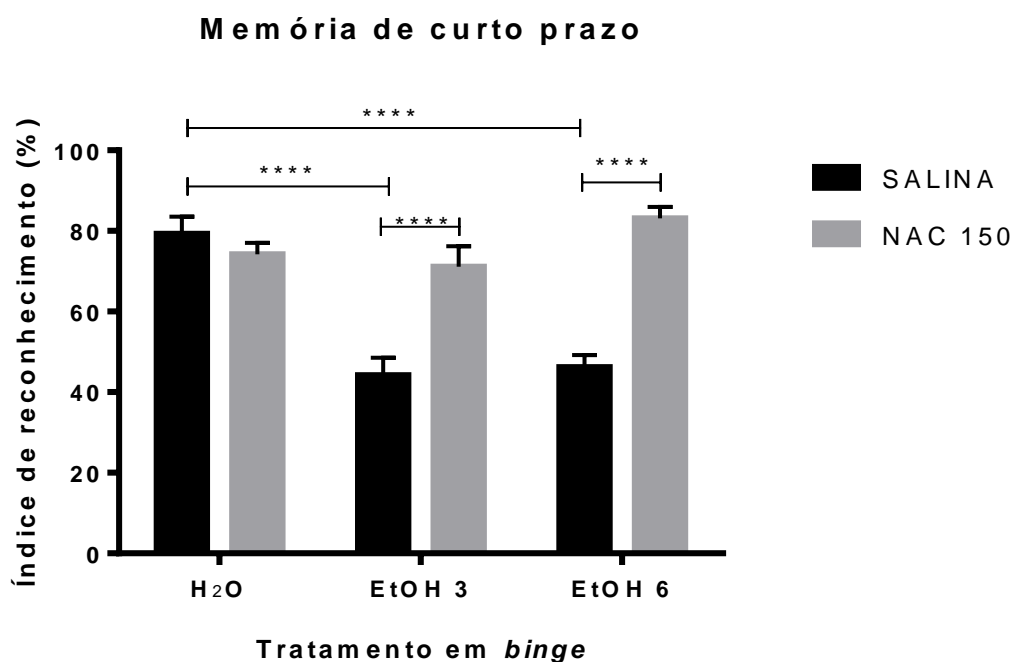


Figura 11 - Avaliação da memória de reconhecimento de curto prazo (% de reconhecimento) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (****) $p < 0,0001$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

Já na avaliação da memória de longo prazo, houve uma diferença significativa da variável tratamento com EtOH [$F(2,60) = 8,011, p < 0,001$], e essa diferença foi observada em ambas as doses de EtOH em comparação com o tratamento com H₂O ($p < 0,001$). Essa análise ainda demonstrou uma interação entre as drogas NAC e álcool [$F(2,60) = 7,028, p = 0,0018$] e esse efeito foi observado exclusivamente no EtOH 6 g/kg, em que o tratamento com NAC preveniu

o desenvolvimento dos prejuízos na memória de longo prazo causados pelo EtOH na dose de 6 g/kg ($p < 0,001$; Figura 12).

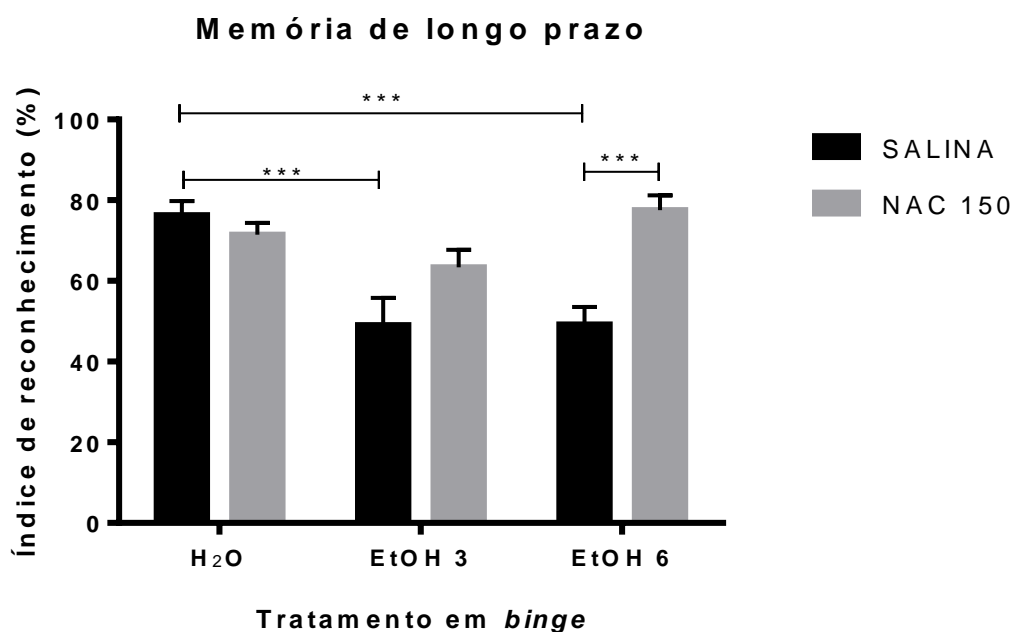


Figura 12 - Avaliação da memória de reconhecimento de longo prazo (% de reconhecimento) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC ($n = 11$ por grupo). (***) $p < 0,001$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

4.2 – Teste de localização de objetos

Para a análise do TLO os resultados apresentaram diferenças estatisticamente significantes na memória de curto prazo para o modelo de *binge* crônico de álcool [$F(1,55) = 28,41$, $p < 0,0001$], e essa diferença foi observada nas doses de álcool 3g/kg e álcool 6g/kg, em comparação com o tratamento com H₂O ($p < 0,05$). O estudo ainda demonstrou uma interação entre as drogas NAC e álcool [$F(1,55) = 28,41$, $p < 0,0001$], em que foi possível observar um efeito inibitório do tratamento com NAC, que preveniu o déficit na memória de curto prazo provocado pelo EtOH em ambas doses ($p < 0,001$; Figura 13).

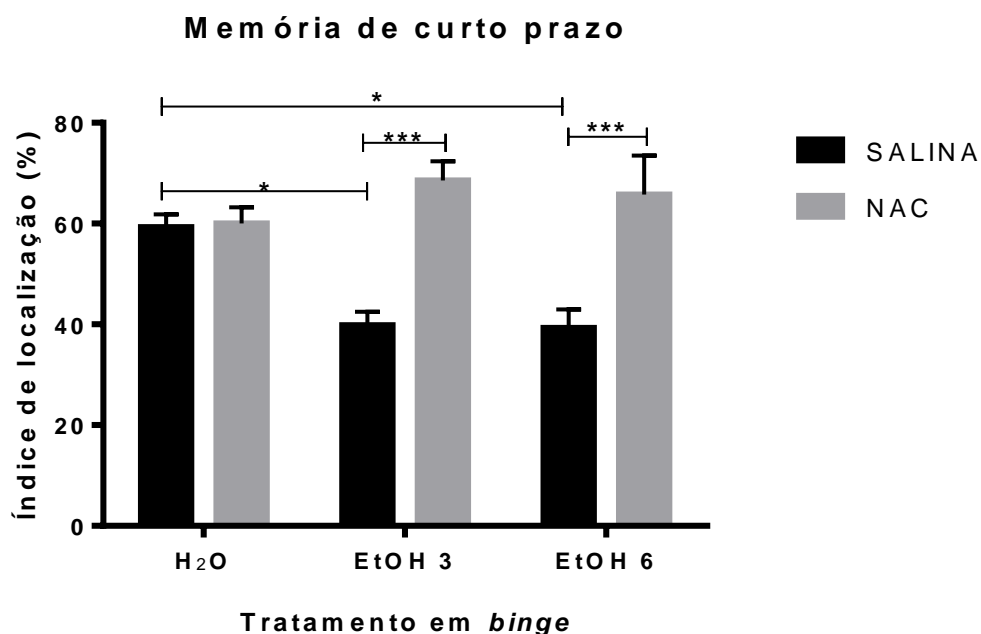


Figura 13 - Gráfico de avaliação da memória de localização de curto prazo (% de localização) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (***) p < 0,001, (*) p < 0,05. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

Na memória de longo prazo, houve diferença significativa na variável tratamento com EtOH [F (1,54) = 20.74, p < 0,0001], e essa diferença foi observada tanto na dose de álcool 6g/kg como na dose de álcool 3g/kg, que apresentaram um pior desempenho quando comparados ao grupo H₂O (p < 0.05). Essa análise ainda demonstrou interação entre as drogas NAC e álcool [F (2,54) = 5.03, p < 0.01], onde o tratamento com NAC preveniu o desenvolvimento dos déficits na memória de longo prazo causados pelo EtOH em ambas as doses (p < 0.05; Figura 14).

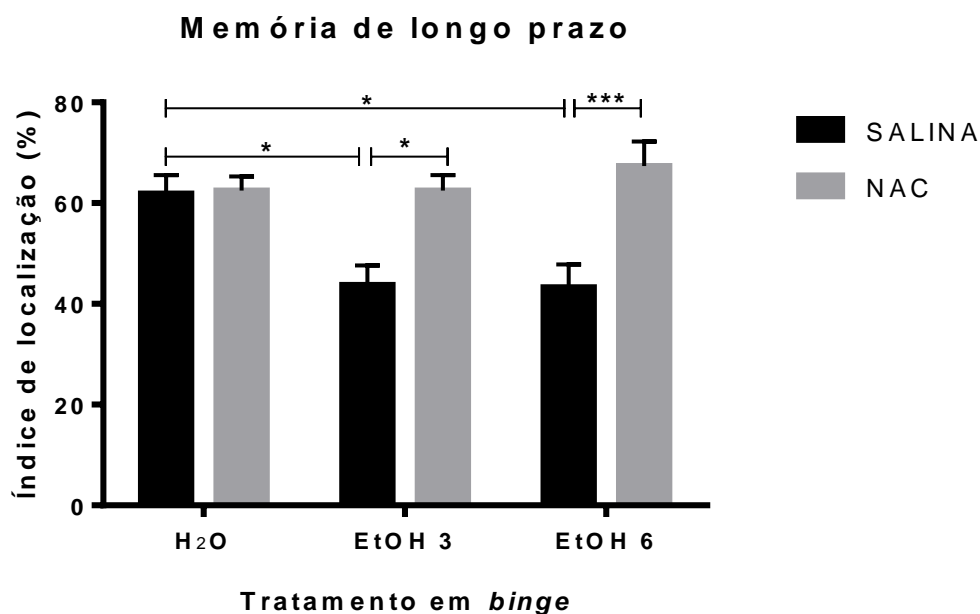


Figura 14 - Gráfico de avaliação da memória de localização de longo prazo (% de localização) de animais submetidos ao tratamento de EtOH em binge crônico e NAC (n = 11 por grupo). (***) p < 0,0001, (*) p < 0,05). ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

4.3 – Parâmetros de estresse oxidativo

4.3.1 – Determinação dos produtos avançados de oxidação proteica (AOPP)

Nas análises de oxidação proteica (AOPP) realizadas no CPF não houve diferença estatística com relação à variável tratamento com álcool [F (2, 42) = 1,490, p = 0,2370] nos níveis de AOPP, em comparação com o controle. Porém, foi identificado uma interação entre as drogas EtOH e NAC [F (2, 42) = 5,176, p = 0,0098]. Especificamente, o grupo tratado somente com EtOH 3 g/kg apresentou níveis significativamente elevados em comparação com o grupo NAC/EtOH 3 (p < 0,05), sugerindo que a NAC foi capaz de inibir o desenvolvimento da oxidação proteica no CPF causados pelo consumo de álcool na dose de 3g/kg, apenas.

No HPC, não identificamos um efeito significativo nos tratamentos com álcool [F (2, 42) = 0,08324, p = 0,9203]. Da mesma forma, não foi encontrada uma interação entre as drogas NAC e EtOH [AOPP; F (2, 42) = 0,2917, p = 0,7485].

Quanto ao EST, observamos um efeito significativo da variável tratamento com NAC [F (1, 30) = 5,632, p = 0,0242], onde foi identificada uma diminuição significativa nos níveis de AOPP

nos grupos tratados com NAC previamente ao álcool (em ambas as doses) em comparação com o controle (SAL/H₂O x NAC/EtOH 3, $p < 0,005$; SAL/H₂O x NAC/EtOH 6, $p < 0,0001$). A análise também indicou um efeito significativo da variável tratamento com EtOH [F (2, 30) = 18,35, $p < 0,0001$], observado apenas na dose de 6 g/kg, que apresentou uma diminuição significativa dos níveis de AOPP em comparação com o grupo SAL/H₂O ($p < 0,001$). Porém, não foi identificada uma interação entre as drogas NAC e EtOH [F (2, 30) = 0,2660, $p = 0,7683$].

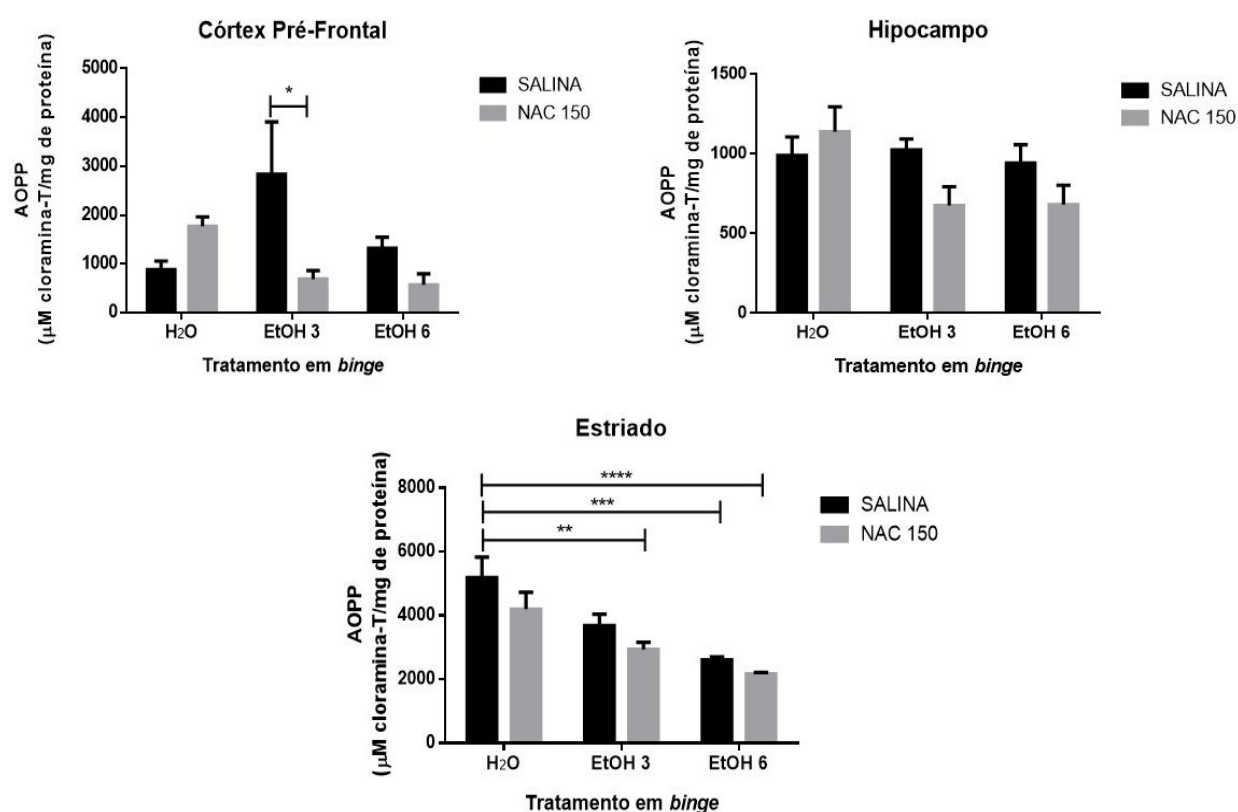


Figura 15 – Efeito dos tratamentos sobre os níveis de produtos avançados de oxidação proteica (AOPP) no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HPC) e estriado (EST) ($n = 8$ por grupo). Os dados foram expressos em µmol de Cloramina-T/mg de proteína total. (****) $p < 0,0001$, (***) $p < 0,001$, (**) $p < 0,01$ (*) $p < 0,05$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

4.3.2 – Ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Algo semelhante foi observado nas análises de peroxidação lipídica (TBARS) (Figura 16) no CPF, que não apresentou diferença estatística entre os grupos tratados ou não com NAC [F (1, 41) = 0,1544, $p = 0,6964$]. E do mesmo modo, não houve diferença entre as doses de álcool [F (2, 41) = 2,381, $p = 0,1051$]. Também não foi observada uma interação entre as drogas NAC e álcool [F (2, 41) = 1,177, $p = 0,3185$].

No HPC, não houve diferença para a variável tratamento com NAC [$F(1, 42) = 0,08642$, $p = 0,7702$]. Do mesmo modo não observamos efeito significativo da variável álcool [$F(2, 42) = 0,2679$, $p = 0,7663$] e não foi identificada uma interação entre as drogas NAC e EtOH [$F(2, 42) = 0,09102$, $p = 0,9132$].

Sobre o EST, no ensaio de TBARS observamos um efeito significativo da variável tratamento com NAC [$F(1, 30) = 4,804$, $p < 0,05$]. Os grupos tratados com NAC previamente ao álcool (em ambas as doses) apresentaram uma diminuição significativa nos níveis de TBARS em comparação com o controle (SAL/H₂O x NAC/EtOH 3, $p < 0,001$; SAL/H₂O x NAC/EtOH 6, $p < 0,005$). Um efeito significativo da variável tratamento com EtOH também foi identificado, e essa diferença é observada especialmente no grupo tratado com álcool 6 g/kg, que apresentou uma diminuição significativa em comparação com o grupo controle ($p < 0,005$). Mas não houve interação entre as drogas [$F(2, 30) = 0,5322$, $p = 0,5928$].

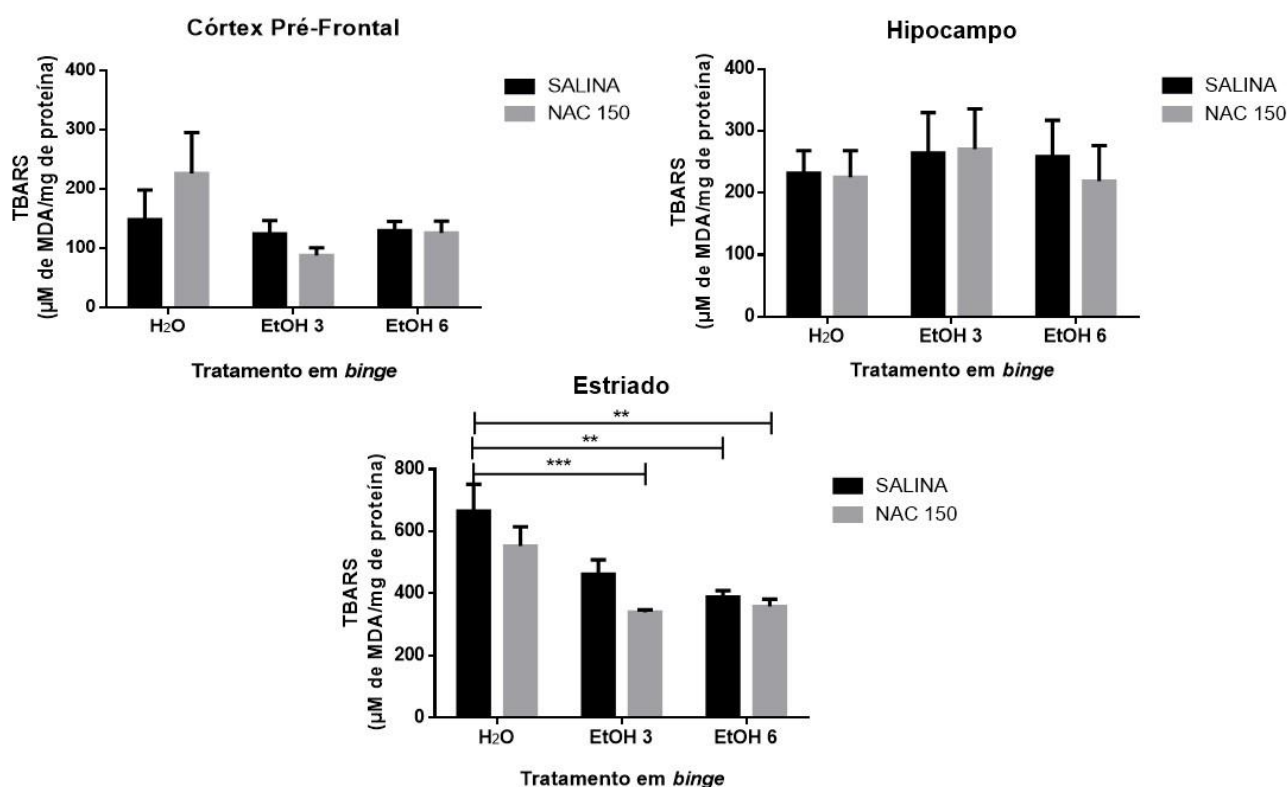


Figura 16 – Efeito dos tratamentos sobre os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HPC) e estriado (EST) ($n = 8$ por grupo). Os dados foram expressos em μmol de MDA/mg de proteína total. (***) $p < 0,001$, (**) $p < 0,01$ (*) $p < 0,05$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

4.3.3 – Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH)

Também foi avaliado os níveis de glutathiona reduzida (GSH) em cada região citada anteriormente (Figura 17). No CPF os grupos tratados somente com álcool em ambas as doses apresentaram uma diminuição de GSH [$F(2, 30) = 20,04$, $p < 0,0001$] quando comparados ao grupo controle ($p < 0,05$) e a NAC na dose de 150 mg/kg não conseguiu inibir este efeito. O grupo que recebeu somente a NAC apresentou um aumento significativo de GSH quando comparado aos grupos tratados com álcool, tendo esses recebido administração previa de NAC ou não ($p < 0,05$). Não foi observado interação entre as drogas [$F(2, 30) = 0,01932$, $p = 0,9809$].

A análise no hipocampo mostrou uma diminuição significativa no grupo tratado com álcool na dose de 6 g/kg [$F(2, 30) = 512$, $p < 0,05$], em comparação com os grupos controle ($p < 0,05$), e a NAC pode inibir este efeito ($p < 0,05$). Uma análise de correlação de Pearson foi feita com

esses dados tendo em vista que nos resultados do TRO a NAC inibiu o prejuízo da memória de longo prazo apenas nos animais que receberam EtOH6 posteriormente à NAC (Figura 18). Foi encontrado uma relação positiva moderada entre esses dados referente ao grupo NAC/EtOH 6 ($r = 0,76$, $p < 0,05$).

Já no EST os grupos controle e NAC/H₂O apresentaram níveis de GSH elevados em comparação com os grupos tratados com álcool em ambas as doses, tratados ou não com NAC previamente [$F(2, 30) = 512$, $p < 0,05$].

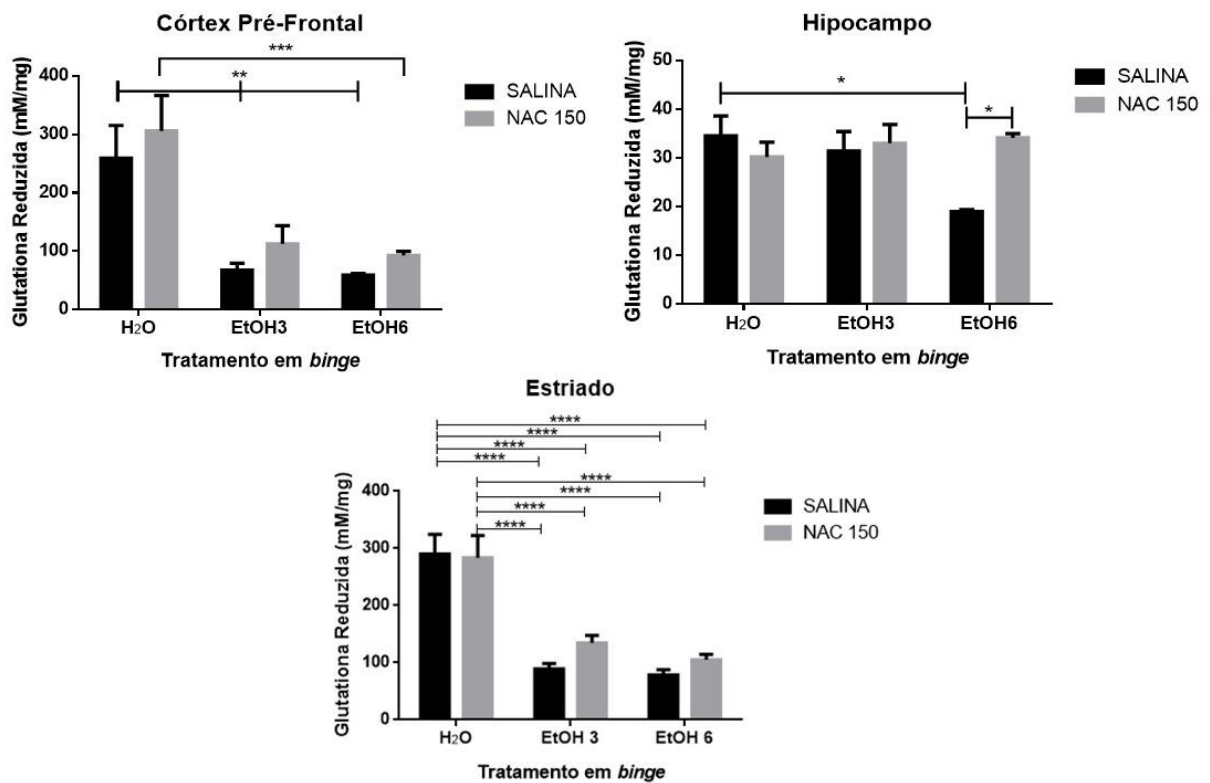


Figura 17 - Avaliação dos níveis de glutathiona reduzida ($n = 8$ por grupo). \square = SAL/H₂O e NAC/H₂O comparado com os grupos tratados com álcool (com ou sem administração prévia de NAC). (****) $p < 0,0001$, (***) $p < 0,001$, (**) $p < 0,01$ (*) $p < 0,05$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

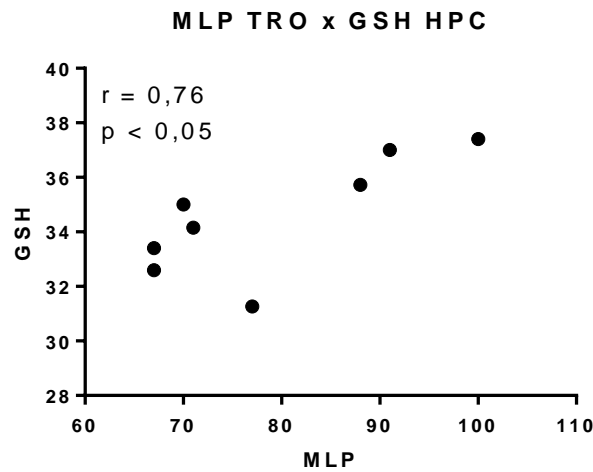


Figura 18 – Análise de correlação ($n = 8$ por grupo) entre a Memória de Longo Prazo (MLP) no Teste de Reconhecimento de Objeto (TRO) do grupo NAC/EtOH 6, e os níveis de Glutathione Reduzida (GSH) no hipocampo (HPC) do mesmo grupo. $r = 0,76$, $p < 0,05$. Análise de correlação de Pearson.

4.4 – Análise dos níveis das enzimas transaminases

Foi realizada a dosagem das enzimas transaminases oxalacética (TGO) e pirúvica (TGP) no soro, enzimas produzidas no fígado, sendo a TGP exclusiva deste órgão, por isso, podem ser sugestivas de dano hepático (YEH et al., 2017).

Na dosagem de TGO, não houve diferença com relação a variável tratamento com NAC [$F(1, 28) = 0,8827$, $p = 0,3555$]. Mas foi encontrada diferença entre as doses de álcool [$F(2, 28) = 3,926$, $p < 0,05$] em que o grupo que recebeu somente o álcool na dose de 3 g/kg apresentou um aumento significativo nos níveis de TGO, em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). Não foi observada essa diferença no grupo SAL/ETOH 6. Uma interação entre as drogas NAC e EtOH também foi identificado [$F(2, 28) = 3,987$, $p < 0,05$] (Figura 19).

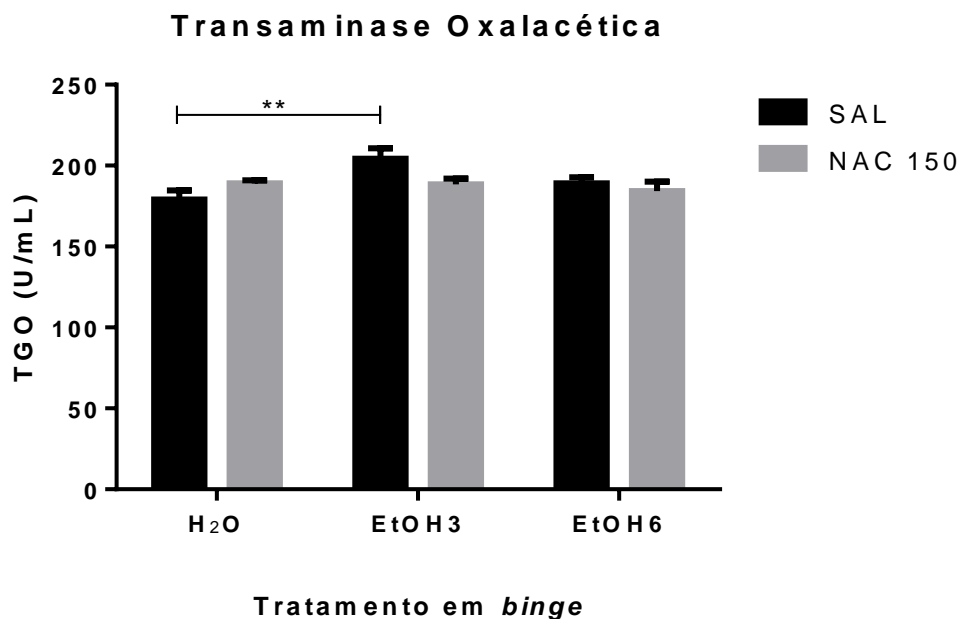


Figura 19 - Avaliação dos níveis de TGO (n = 6 por grupo). H₂O = água destilada. SAL/ETOH 3 apresentou um aumento significativo nos níveis de TGO em comparação com o grupo SAL/ H₂O (controle). (**) p < 0,01. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste *post hoc* de Tukey.

Com relação à dosagem de TGP, não houve diferença significativa para a variável tratamento com NAC [F (1, 30) = 0,9998, p = 0,3254], assim como não foi encontrada diferença entre as doses de álcool [F (2, 30) = 1,213, p = 0,3116]. Porém, uma interação entre as drogas NAC e EtOH foi identificada [F (2, 30) = 20,91, p < 0,0001]. O grupo que recebeu somente o álcool na dose de 3 g/kg apresentou um aumento significativo nos níveis de TGP em comparação com o grupo controle (p < 0,05), e o grupo que recebeu NAC previamente ao EtOH 3 g/kg apresentou uma diminuição significativa nesses níveis quando comparado ao grupo que recebeu somente o EtOH (p < 0,0001). No entanto, as mesmas diferenças não foram observadas no grupo que recebeu a dose maior de álcool (6 g/kg). Além disso, uma comparação feita entre os grupos NAC/ETOH 3 e NAC/ETOH 6 mostrou maior eficácia da NAC em diminuir os níveis de TGP quando administrada previamente à menor dose de EtOH (p < 0,01), como mostra o gráfico abaixo (Figura 20).

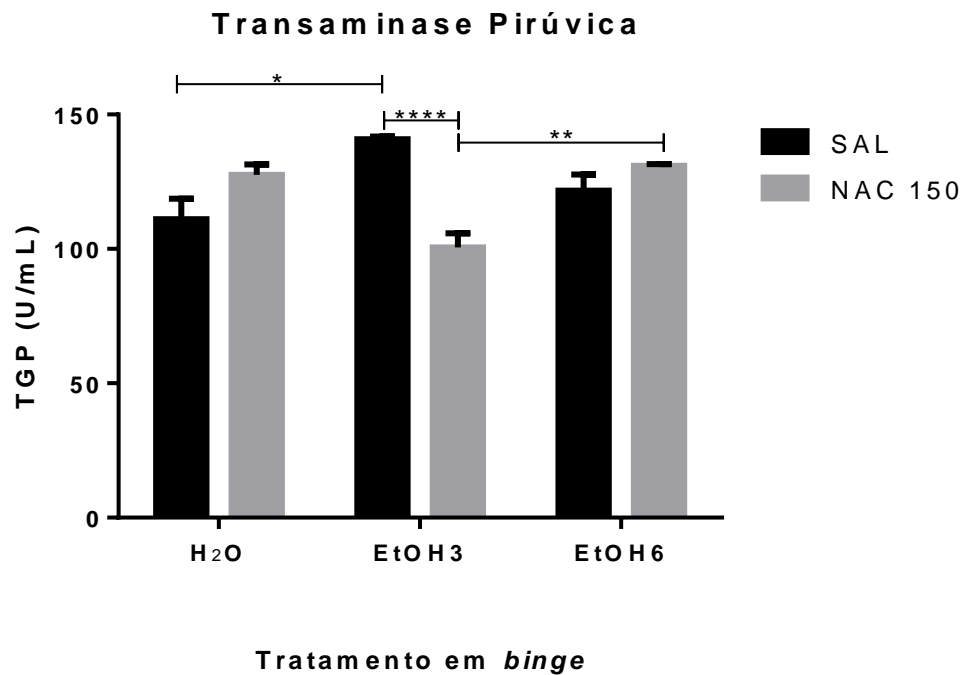


Figura 20 - Avaliação dos níveis de TGP (n = 6 por grupo). (****) $p < 0,0001$, (**) $p < 0,01$ (*) $p < 0,05$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey.

4.5 – Análise das fibras colágenas hepáticas

O tecido hepático foi corado com Picosirius Red, uma coloração que permite analisar as fibras colágenas do tecido conjuntivo. Nessa avaliação, foi possível identificar uma diferença entre os grupos tratados ou não com NAC [$F(1, 42) = 59,49$, $p < 0,0001$], assim como entre as doses de álcool 3 g/kg e 6g/kg [$F(2, 42) = 27,17$, $p < 0,0001$], em que ambos os grupos tratados somente com álcool apresentaram um aumento significativo na densidade de colágeno em comparação com o grupo controle ($p < 0,0001$). Além disso, a análise demonstrou uma interação entre as drogas NAC e EtOH [$F(2, 42) = 35,80$, $p < 0,0001$], no qual foi constatado uma redução estatisticamente relevante na densidade de colágeno nos grupos tratados com NAC previamente ao álcool ($p < 0,0001$), nas duas doses deste estudo, quando comparadas aos grupos que receberam somente o álcool em suas respectivas doses (Figura 21).

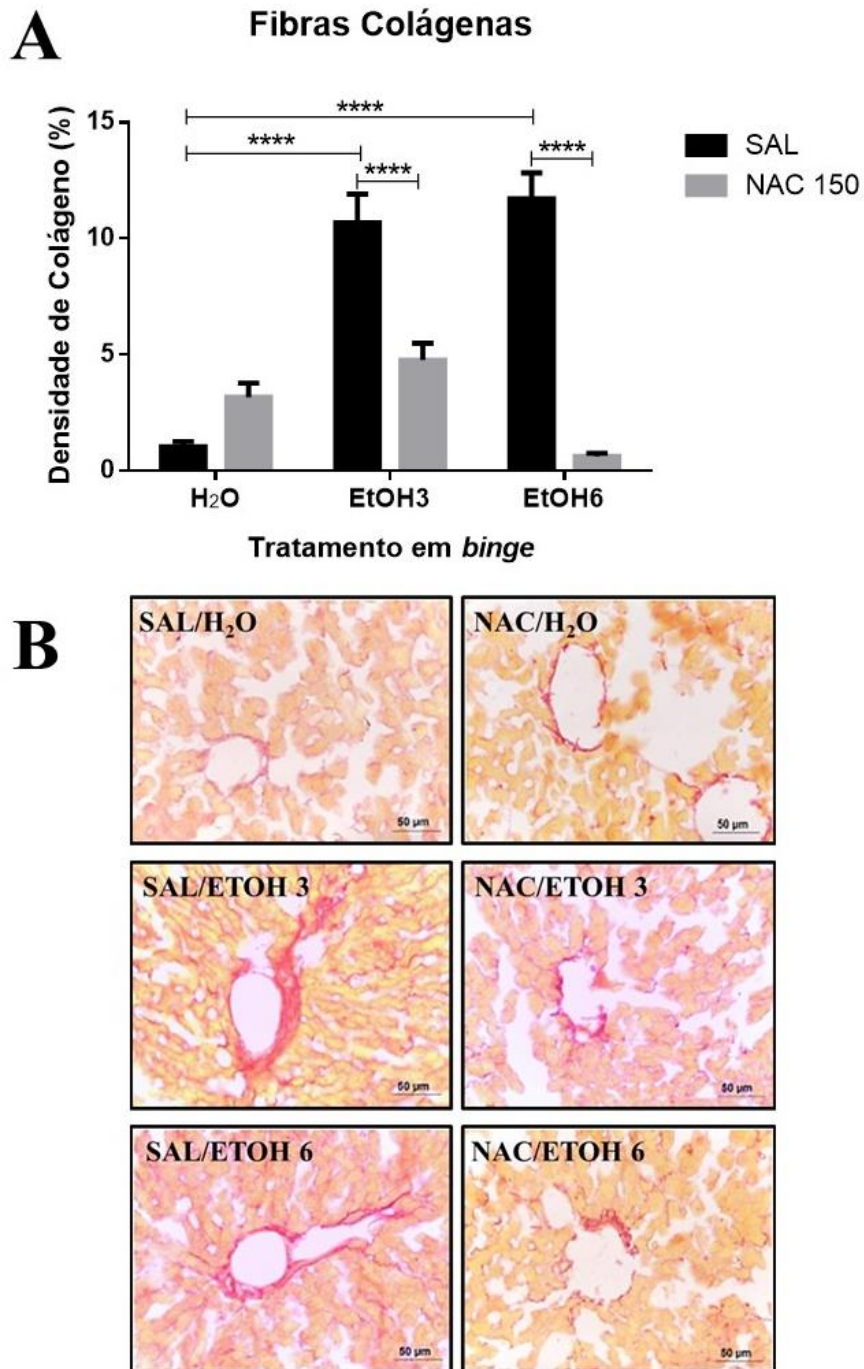


Figura 21 - Avaliação das fibras colágenas hepáticas (n = 8 por grupo). (A) Análise da densidade de colágeno no fígado. (****) $p < 0,0001$. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey. (B) Imagem histológica do fígado corado com Picrosirius Red (objetiva: 40x; barra: 50 μ m).

4.6 – Análise de mastócito no fígado

A quantificação de mastócitos também foi realizada para avaliação de um possível processo inflamatório no fígado. Nessa análise não houve diferença entre os grupos tratados ou não com NAC [F (1, 42) = 1,635, $p = 0,2080$]. Também não houve diferença entre as doses de álcool [F (2, 42) = 2,708 $p = 0,0783$] e não foi encontrada uma interação entre as drogas NAC e EtOH [F (2, 42) = 0,6152, $p = 0,5453$] (Figura 22).

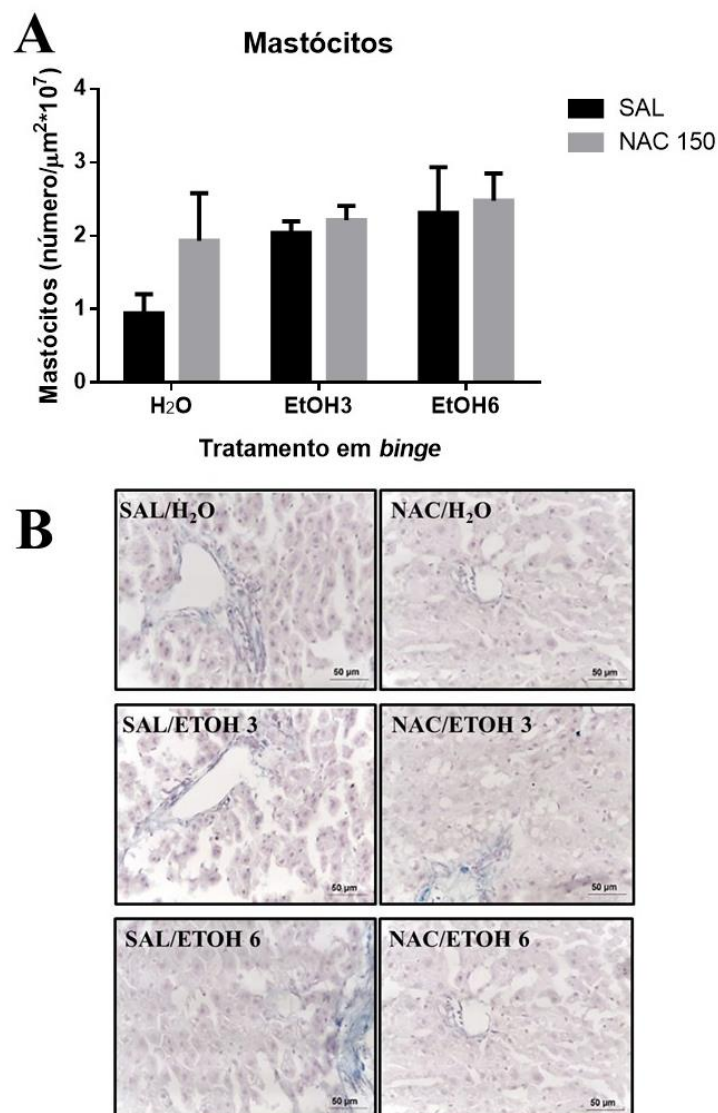


Figura 22 – Contagem de mastócitos no fígado (n = 8 por grupo). (A) Quantificação de mastócitos no fígado. ANOVA de duas vias para medidas independentes seguido do teste post hoc de Tukey. (B) Imagem histológica do fígado corado com Alcian Blue (objetiva: 40x; barra: 50 μm).

5 – DISCUSSÃO

As análises cognitivas demonstraram que o álcool prejudicou a memória de reconhecimento e localização de curto e longo prazo dos animais submetidos ao tratamento de álcool em *binge* na adolescência, e a NAC administrada previamente parece bloquear esse efeito prejudicial nas duas doses de álcool (3g/kg e 6g/kg) utilizadas, na memória de reconhecimento e de localização de curto prazo. Porém, na memória de reconhecimento de longo prazo a NAC preveniu este efeito apenas na dose de 6g/kg, diferente da memória de localização, onde a NAC inibiu o prejuízo em ambas as doses de álcool.

Nas análises de estresse oxidativo, a avaliação de oxidação proteica (AOPP) no CPF, apontou um aumento nesses níveis nos grupos tratados somente com álcool 3 g/kg, e a NAC administrada previamente conseguiu inibir este efeito o que corrobora com as avaliações cognitivas, onde esses grupos obtiveram o menor índice de reconhecimento e localização, indicando prejuízo na memória. Porém não observamos esse efeito da NAC em diminuir os níveis de peroxidação lipídica no CPF. No HPC não houve alterações significativas com o tratamento entre os grupos. Além disso, a NAC administrada previamente ao álcool (em ambas doses) diminuiu tanto os níveis de AOPP quanto de TBARS em comparação com o grupo controle no EST, e o tratamento com álcool 6 g/kg (grupo SAL/EtOH6) também apresentou esse efeito.

O GSH se apresentou em níveis baixos nos grupos tratados com álcool em todas as regiões analisadas, em comparação com o controle, e a NAC foi capaz de elevar esses níveis de forma significativa apenas no hipocampo, quando administrada previamente ao álcool na maior dose deste estudo (6 g/kg). Este dado parece se relacionar com os resultados comportamentais referentes à memória de reconhecimento de longo prazo onde foi observado uma melhora na função cognitiva apenas dos animais submetidos ao TRO que receberam NAC previamente ao EtOH 6g/kg, o que sugere que os níveis aumentados de glutatona podem ter alguma relação com este efeito, tendo em vista que o hipocampo é uma região extremamente relevante para consolidação da memória de reconhecimento de longo prazo e que o GSH é um dos antioxidantes mais importantes para o cérebro, com potencial neuroprotetor (KINOSHITA; AOYAMA, 2021; YONELINAS, 2013). Além disso, uma correlação moderadamente positiva foi encontrada entre estes dados.

Também avaliamos neste trabalho os níveis de TGO e TGP, enzimas relacionadas à função hepática. Na dosagem de TGO identificamos apenas que o grupo que recebeu álcool na dose de 3 g/kg apresentou níveis aumentados de TGO em comparação com o grupo controle, mas a NAC não inibiu esse efeito. Já nas análises de TGP, os animais que receberam somente o álcool na dose de 3 g/kg apresentaram níveis de TGP significativamente mais elevados em comparação com o grupo controle, e a NAC administrada previamente ao álcool nesta dose foi capaz de bloquear esse efeito. Esse resultado não foi observado nos animais que receberam a dose maior de álcool (6 g/kg), porém os animais que receberam NAC antes do álcool na menor dose, parecem ter obtido um efeito mais eficaz em comparação com o grupo NAC/EtOH6, já que a diminuição de TGP no grupo NAC/EtOH 3 foi significativamente maior em comparação com o grupo NAC/EtOH 6.

Além disso, análises histológicas do fígado foram feitas para investigar processos de danos hepáticos, para isso, a avaliação da deposição de colágeno na matriz extracelular e quantificação de mastócitos foram feitas. Nos tecidos corados com *picrosirius red* para visualização das fibras de colágeno foi possível observar que os animais que receberam somente o álcool, em ambas doses, apresentaram densidade aumentada das fibras, e a NAC administrada previamente ao álcool foi capaz de inibir esse efeito nas duas doses de álcool utilizadas nesse trabalho. Esses resultados sugerem que as duas doses de álcool utilizadas nesse trabalho podem ter sido capazes de provocar fibrose no tecido hepático, e a NAC foi capaz de bloquear esse resultado. Com relação à quantificação de mastócitos, nenhuma diferença foi encontrada.

Estudos mostram que o consumo pesado e episódico bem como o consumo crônico do álcool etílico causa danos na fisiologia cerebral, o que desencadeia consequências importantes sobre os processos cognitivos, como percepção, aprendizagem e memória. Esse consumo também é capaz de iniciar e agravar processos inflamatórios no fígado, que pode resultar na doença hepática alcoólica (OSCAR-BERMAN et al., 1997; WANG et al., 2012). Com o aumento do consumo de bebidas alcoólicas em nível mundial, além da popularização do consumo pesado e episódico (*binge*) (OMS, 2018), a busca pela compreensão sobre como o etanol age nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos do sistema nervoso central e seus efeitos na cognição, além dos processos hepáticos relacionados aos danos desse órgão, se torna cada vez mais evidente e necessária, bem como os possíveis tratamentos para tais prejuízos.

Além do aumento no consumo abusivo do álcool etílico na população geral, o significativo aumento entre os adolescentes torna esses dados ainda mais preocupantes, tendo em vista que em algumas regiões (Américas, Europa e Pacífico Oeste), segundo a OMS (2018) a proporção de consumo entre a população adulta e a adolescente é praticamente a mesma. Baseado nessas estatísticas e nesse iminente problema de saúde pública, nosso estudo utiliza um modelo animal com ratos adolescentes e jovens adultos, para avaliar os prejuízos cognitivos e parâmetros de estresse oxidativo, e também danos hepáticos já nesta faixa etária.

Como o CPF ainda não atingiu plena maturidade nesta idade, os danos causados a essa região cerebral durante este período causa prejuízos cognitivos que podem se perdurar ao longo de sua maturação (CREWS et al., 2000; GUERRI; PASCUAL, 2010). Swartzwelder et al. (2015) realizou em seu estudo a tarefa de reconhecimento de objeto espaço-temporal (stOR) em ratos adolescentes submetidos a exposição intermitente de álcool, onde relatou que os animais que foram expostos ao álcool, passaram mais tempo explorando o objeto antigo, em comparação com seu grupo controle. Este dado corrobora com os apresentados nessa pesquisa. Em outro estudo, camundongos submetidos ao consumo em *binge* de etanol na adolescência (expostos a uma dose de 4 g/kg de álcool em um regime intermitente de 2 dias de administração e um intervalo de 2 dias até a próxima exposição à droga), apresentaram prejuízos na memória de reconhecimento na fase adulta, assim como nos resultados apresentados no presente trabalho. Além disso, foi relatado reduções na expressão gênica relacionada ao CPF e a mielina, sugerindo que houve prejuízo no desenvolvimento do cérebro, o que pode ter afetado a função cognitiva destes animais na fase adulta (WOLSTENHOLME et al., 2017).

O comprometimento do CPF pode não afetar tanto quanto o HPC, as tarefas de reconhecimento de objeto relacionadas à memória (BROADBENT et al., 2010; CLARK; ZOLA; SQUIRE, 2000; DEDE et al., 2013), o que sugere que os nossos achados relacionados aos níveis aumentados de GSH no HPC (no grupo NAC/EtOH6), podem realmente estar relacionados com a prevenção contra os danos da memória de reconhecimento de longo prazo (que podem ser provocados pelo álcool). Estudos demonstram a interação entre CPF e HPC como sendo mais relevante para a memória de localização, juntamente com o EST (AGGLETON; NELSON, 2020; BARKER et al., 2007; FLORESCO; SEAMANS; PHILLIPS, 1997a; REINCKE; HANGANU-OPATZ, 2017).

O CPF possui uma importante interação com o HPC, inclusive para tarefas de reconhecimento, sendo responsável por promover processos de associação dos objetos e assim auxiliar na codificação da memória, e isso torna o CPF uma região relevante a formação e recuperação da MLP (DOLCOS; LABAR; CABEZA, 2004; TYNG et al., 2017). Além dessa interação, o EST também se encontra como uma região envolvida na memória e na aprendizagem, e a interação entre ele e o CPF é relevante na formação da memória espacial, juntamente com o HPC (BONELLI; CUMMINGS, 2007; DOLCOS; LABAR; CABEZA, 2004; FLORESCO; SEAMANS; PHILLIPS, 1997b; TYNG et al., 2017; VOYTEK; KNIGHT, 2010). Com isso, danos nessas regiões podem ocasionar prejuízos na memória, incluindo a de reconhecimento e de localização (AGGLETON; NELSON, 2020; BARKER et al., 2007; BURKE; BARNES, 2015).

Os efeitos prejudiciais do álcool sobre a função cognitiva, como aprendizagem e memória, são bastante conhecidos e relatados (GEVINS et al, 2002). Recentemente foi mostrado na literatura que o uso de álcool promove dano lipídico e proteico, alterando as funções neuronais, dentre elas as cognitivas (TURCATEL; FUNCHAL; GOMEZ, 2012). Esse dano tem sido atribuído à formação de espécies reativas (ER) em proporções que superam as defesas antioxidantes endógenas. Os autores consideram que embora existam diversos mecanismos envolvidos na toxicidade do álcool, o estresse oxidativo causado pelas ER e a apoptose tem despontado como os mais pesquisados atualmente (TURCATEL; FUNCHAL; GOMEZ, 2012). Cippitelli et al. (2010) mostrou que a exposição a altas doses de álcool provocou morte neuronal no HPC e esse resultado está associado aos prejuízos encontrados tanto na memória de reconhecimento como na de localização de objetos, assim como observado no presente trabalho.

Outros estudos demonstraram que o álcool estimula a produção de estresse oxidativo em regiões importantes para a memória como o HPC (GONZÁLEZ; PARIENTE; SALIDO, 2007; LUO, 2014; TEIXEIRA et al., 2014; TURCATEL; FUNCHAL; GOMEZ, 2012), o que é parcialmente contraditório ao nosso estudo, tendo em vista que encontramos níveis elevados apenas de AOPP no CPF, mas não no HPC e no EST, e também não observamos níveis significativamente aumentados de TBARS nos grupos que receberam álcool em ambas as doses utilizadas no nosso modelo de tratamento intermitente de álcool em *binge*.

Pouco se sabe ainda sobre os prejuízos no EST que podem ser provocados pelo abuso de álcool, porém, um estudo recente observou que o consumo diário de etanol (a 10% e dose de aproximadamente 6,3 g/kg) por 2 semanas provocou prejuízos no estriado relacionado a mecanismos inflamatórios e esse resultado parece estar associado ao prejuízo motor que também foi identificado (RIVERA et al., 2019), diferentemente do que observamos em nosso regime de tratamento intermitente de álcool, relacionado aos parâmetros de estresse oxidativo no EST.

Além disso, está estabelecido que o consumo de álcool por adolescentes pode levar não apenas ao estresse oxidativo, mas também à neuroinflamação, caracterizada pela liberação de mais mediadores inflamatórios como enzimas e citocinas pró-inflamatórias e por ser mais vulnerável, o SNC dos adolescentes é capaz de sofrer mais danos, o que parece estar relacionado com déficits comportamentais (KANE; DREW, 2016). Estudos apontam que a exposição intermitente ao álcool em roedores adolescentes provocou aumento da ativação e proliferação microglial (uma importante célula neuroimune, com papel na neuroinflamação) além de citocinas pró-inflamatórias em regiões como córtex e hipocampo (JI et al., 2018; KANE et al., 2014; LOWE et al., 2020; MCCLAIN et al., 2011; PENG et al., 2017), e outros apontam que essas alterações nestas regiões parecem afetar os processos da memória (CREWS et al., 2016; SCHWARZ; BILBO, 2011). Esses dados poderiam explicar parcialmente os prejuízos na memória de reconhecimento e de localização encontrados em nosso estudo nos animais submetidos ao regime crônico de álcool, dado que as regiões relatadas estão intimamente ligadas a formação destas memórias. Dessa forma, tais efeitos parecem influenciar sobre o comportamento, e podem comprometer a função de memória. Bellozi et al. (2019) apontou que o uso de álcool em *binge* agudo por animais jovens prejudicou a memória de reconhecimento, e esse efeito de prejuízo tanto na memória de curto quanto de longo prazo estava diretamente relacionado à indução de estresse oxidativo e processos inflamatórios em áreas envolvidas com a memória, como CPF, HPC, diferentemente dos dados encontrados no presente estudo, que se utilizou de um modelo de tratamento em *binge* crônico e que apesar de termos observado prejuízos na memória, apenas os níveis de AOPP foram aumentados no CPF, nos animais que receberam a menor dose de álcool (3 g/kg), mas não nas outras regiões estudadas. Esses dados junto com os apresentados na literatura, sugerem que a avaliação de mecanismos inflamatórios como ativação microglial e quantificação de citocinas nas regiões estudadas podem auxiliar no entendimento do mecanismo pelo qual os prejuízos na memória podem ocorrer.

Mas os danos que o álcool em *binge* provoca não se restringem apenas ao SNC, o fígado, o principal órgão que metaboliza o álcool também pode ser prejudicado, e estudos apontam que prejuízos no fígado parecem se correlacionar com neuroinflamação e déficits cognitivos provocados pelo álcool (BUTTERWORTH, 2013; HADJIHAMBI et al., 2017; KING et al., 2020). Os prejuízos no fígado podem ir desde uma lesão reversível, como esteatose, até algo mais grave como hepatite, cirrose e até mesmo carcinoma hepatocelular (características da DHA). O estresse oxidativo induzido pelo álcool no fígado, entre outros fatores como o desenvolvimento de processos inflamatórios, parecem ter um importante papel no desenvolvimento dessas doenças (YANG et al., 2014). Essas alterações bioquímicas podem induzir o progresso da fibrogênese e conseqüentemente gerar fibrose hepática (HOSSEINI; SHOR; SZABO, 2019).

Nosso estudo mostrou que a administração de álcool em *binge* em ratos adolescentes aumentou significativamente a deposição de colágeno na matriz extracelular, nas duas doses utilizadas neste trabalho, esse resultado é sugestivo de um quadro de fibrose, dado que a inflamação provocada pelo álcool ativa as células estreladas hepáticas, que se proliferam e produzem colágeno e isso contribui para a fibrose hepática (HOSSEINI; SHOR; SZABO, 2019; LOUVET; MATHURIN, 2015).

Também quantificamos mastócitos no tecido hepático para investigação de possíveis processos inflamatórios, porém nenhuma diferença foi encontrada. Estas células estão presentes em vários tecidos periféricos e participam de processos inflamatórios sintetizando e liberando mediadores inflamatórios como citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, e além disso, parecem se correlacionar com a fibrose hepática presente na doença hepática não alcoólica (LOMBARDO et al., 2019; SILVA; JAMUR; OLIVER, 2014). Entretanto, Nurmi et al. (2009) mostraram que o etanol em altas doses parece diminuir a viabilidade e a proliferação de mastócitos *in vitro*, além de induzir a apoptose dessas células, e esses resultados podem explicar os nossos resultados que não apontaram diferenças nos números de mastócitos no fígado nos grupos tratados com álcool em comparação com o controle. Esses resultados juntamente com os apresentados no presente estudo podem sugerir que os danos provocados pelo álcool no fígado e a possível fibrose que encontramos, podem não estar diretamente relacionados à ativação e proliferação de mastócitos, porém, mais estudos precisam ser feitos para uma melhor compreensão desse efeito.

Para a avaliação da função hepática, alguns marcadores biológicos são utilizados, entre eles estão o TGO e o TGP, enzimas produzidas pelas células hepáticas que podem se apresentar em níveis elevados em caso de lesões no fígado (COSTA et al., 2021). Em nosso estudo apenas os animais que receberam SAL/EtOH 3 g/kg apresentaram um aumento significativo de TGO, porém, essa não é uma enzima muito específica para o fígado tendo em vista que se apresenta em uma concentração mais elevada no músculo cardíaco (COSTA et al., 2021), e essa talvez seja a explicação para não termos encontrado níveis elevados dessa enzima também na dose maior de álcool apresentada em nosso estudo. Por isso, é necessário a determinação simultânea de TGP, que possui maior atividade no fígado, e no presente estudo essa se apresentou em níveis significativamente elevados em comparação com o controle apenas na menor dose de álcool utilizada (3 g/kg), o que sugere danos hepáticos e pode reforçar os resultados apresentados anteriormente a respeito do possível estado de fibrose hepática, que foi encontrada em ambos grupos tratados somente com álcool.

Nossos dados corroboram os achados de King et al. (2020), que também observou o aumento dos níveis séricos de TGP e além disso, reforça que esse resultado parece se correlacionar com os níveis de citocinas inflamatórias no HPC, mas não quanto ao déficit na memória de reconhecimento que assim como em nosso estudo, também foi relatado. A evidência da relação da lesão hepática com prejuízos em regiões importantes para a memória e déficits cognitivos provocados pelo abuso de álcool ainda não é bem esclarecida, porém, nossos resultados podem reforçar a possível relação do eixo fígado-cérebro como um mediador de prejuízos cognitivos induzidos pelo álcool, apontada por outros estudos (BUTTERWORTH, 2013; HADJIHAMBI et al., 2017; KING et al., 2020).

Tendo em vista as evidências apresentadas, deve-se considerar a importância do combate às EROs e outros mediadores inflamatórios em ambiente cerebral e hepático, particularmente pelo elevado consumo de oxigênio (um dos principais promotores de estresse e danos oxidativos) desses órgãos, e tais efeitos danosos podem ser exacerbados pelo uso de drogas psicoativas. Já está estabelecida na literatura a ação antioxidante da NAC em ambiente intracelular, por induzir a formação de GSH (GHRIB et al, 2011).

O álcool parece exercer um efeito inibitório sobre a GSH no cérebro, o que pode favorecer o desenvolvimento de estresse oxidativo (AGAR et al., 1999; DAS et al., 2007; KOŁOTA et al.,

2019), isso explica nossos resultados em que os níveis de GSH se apresentam significativamente reduzidos no CPF e no EST nos animais tratados somente com álcool em ambas as doses, esse resultado foi diferente apenas no HPC, onde observamos essa diferença apenas nos animais tratado com álcool 6 g/kg. E o mecanismo pelo qual essa diminuição de GSH ocorre parece estar relacionada ao transportador neuronal EAAC1 (principal fornecedor de cisteína) e ao sistema xCT, pois estudos mostram que o álcool é capaz de inibir esses importantes fornecedores de cisteína (precursora de GSH e essencial para manter a homeostase redox) o que acaba diminuindo as concentrações de cisteína intracelular, e conseqüentemente, afeta os níveis de GSH (DAS et al., 2007; PATEL et al., 2017; SU et al., 2019).

O aumento das concentrações de glutamato devido a diminuição da sua recaptação provocada após altas doses de álcool (BURNETT; CHANDLER; TRANTHAM-DAVIDSON, 2016; GRIFFIN et al., 2015) parece inibir o sistema xCT e colaborar tanto para a diminuição de GSH quanto para a indução de estresse oxidativo. Mas é importante ressaltar que esse mecanismo não está diretamente associado a inibição de EAAC1, que parece estar mais relacionada a diminuição no nível transcricional desse transportador, provocada pelo álcool (PATEL et al., 2017; SU et al., 2019).

Porém, parece que a utilização de NAC, um precursor de cisteína, pode normalizar os níveis de GSH (ABDEL-WAHAB; MOUSSA, 2019; FARR et al., 2003; HOLMAY et al., 2013; KATZ et al., 2015; SEN, 1997), e esses dados são semelhantes ao encontrado no presente estudo, em que a NAC administrada previamente ao álcool 6 g/kg aumentou os níveis de GSH no HPC, mas esse resultado não foi observado nas outras regiões estudadas (CPF e EST). Estudos apontam que esse efeito parece estar relacionado não somente à liberação de cisteína oferecida pela NAC, mas também à capacidade desse pró-fármaco de regular os transportadores EAAC1, auxiliando na normalização dos níveis de GSH em regiões relacionadas a memória como o HPC (AOYAMA et al., 2006; CHOI, Bo Young et al., 2014; PATEL et al., 2017).

Schneider et al. (2017), observaram em seu estudo que a NAC foi capaz de inibir o aumento dos níveis das citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6, e proporcionou um leve aumento nos níveis de citocinas anti-inflamatória como a IL-10 no córtex pré-frontal e no hipocampo, impedindo a resposta neuroinflamatória nessas regiões, nos ratos tratados com álcool. Estes resultados condizem com os apresentados nesse estudo, tendo em vista que as regiões avaliadas

estão envolvidas com a memória, e a proteção delas pode antagonizar os prejuízos na memória gerados pelo álcool.

Outros estudos reforçam o efeito protetor da NAC contra alterações comportamentais e bioquímicas no cérebro em outros tipos de transtornos, tanto psiquiátricos (como autismo, depressão e esquizofrenia) quanto a outros relacionados a drogas como a cocaína, por exemplo (CHOY et al., 2010; CORBIT; CHIENG; BALLEINE, 2014; IKONNE et al., 2019; MINARINI et al., 2017; SCHULTE et al., 2019). E além disso, está bem estabelecido que a NAC auxilia no controle da abstinência ao álcool e esse efeito parece ser benéfico também quanto à recuperação dos danos provocados pela droga (LEBOURGEOIS et al., 2019; MORAIS-SILVA; ALVES; MARIN, 2016; SQUEGLIA et al., 2016), mas pouco se sabe ainda sobre esses efeitos relacionados aos danos comportamentais induzidos pelo consumo de álcool em *binge* na fase da adolescência e nossos dados agregam nesse sentido, dado que observamos uma melhora significativa na memória de reconhecimento e de localização nos animais submetidos ao tratamento prévio de NAC 150 mg/kg em ambas as doses de álcool utilizadas em nosso estudo. Porém, o mecanismo subjacente a esse efeito ainda precisa ser mais investigado, a avaliação dos efeitos da NAC na ativação da micróglia e astrócitos, assim como nos níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em regiões importantes para a memória, em um tratamento de álcool em *binge*, auxiliaria na elucidação desse mecanismos.

A NAC também apresentou efeitos protetores no fígado. A administração prévia da NAC diminuiu significativamente a densidade das fibras de colágeno em ambas as doses de etanol utilizadas, e os níveis séricos de TGP apenas na dose de 3 g/kg, sugerindo que ela é capaz de inibir as possíveis lesões hepáticas e a fibrose que a ingestão excessiva de álcool pode causar. A NAC é principal terapia para o tratamento da toxicidade do paracetamol por aumentar os níveis de GSH no fígado, que auxilia na desintoxicação dos produtos formados durante o metabolismo do paracetamol e assim protege o fígado contra as lesões provocadas (JAMES et al., 2003).

Quanto aos danos hepáticos provocados pelo álcool, seu efeito parece estar mais relacionado à inibição de estresse oxidativo, importante desencadeador das lesões no fígado provocadas pelo etanol (OZARAS et al., 2003). Estudos apontam que a NAC diminui os níveis de citocinas inflamatórias e o estresse oxidativo no fígado, e esse efeito parece exercer a proteção das células

hepáticas pois, semelhante aos nossos resultados, os níveis de TGP também diminuíram em comparação com o grupo tratado com álcool na dose de 3 g/kg (FERREIRA SEIVA et al., 2009; RONIS et al., 2005; SETSHEDI et al., 2011). Achados clínicos semelhantes também corroboram com esses resultados (MORENO et al., 2010).

Os níveis séricos de TGP são importantes marcadores biológicos para lesão hepática já que são específicas do fígado, portanto, a determinação dessa enzima fornece uma visão da viabilidade celular do fígado, dado que o estresse oxidativo e a inflamação provocadas pelo álcool promovem danos celulares, o que acarreta na liberação das enzimas citoplasmáticas para o sangue aumentando os seus níveis séricos, por isso fornecem uma relevante evidência de dano celular hepático (COSTA et al., 2021; NOVELLI et al., 1997; SILVA, A. M.M. et al., 1999; SUNDBERG et al., 1994). Além disso, Ronis (2005) também apontou uma diminuição significativa de inflamação e necrose no tecido hepático com o tratamento realizado com NAC, respostas imunes importantes para o desenvolvimento de fibrose hepática. Ou seja, esses dados fornecem uma evidência do potencial efeito protetor da NAC contra os danos hepáticos provocados pelo fígado, e a inibição do aumento da densidade do colágeno no tecido hepática encontrada em no presente estudo reforça essa sugestão.

Analisando em conjunto os aspectos observados em nosso estudo e as informações encontradas na literatura, entende-se que o álcool provoca prejuízo na memória de curto e longo prazo (de reconhecimento e localização) e que a NAC administrada previamente pode bloquear esse efeito. E isto pode estar relacionado com seus efeitos de auxiliar a síntese de glutathione em regiões importantes para este processo cognitivo como o CPF, HPC e EST, porém no presente estudo esse efeito foi observado apenas no HPC no grupo NAC/EtOH 6. Esse efeito pode contribuir para uma inibição do desenvolvimento de estresse oxidativo nestes locais, apesar de no nosso estudo termos observado esse efeito apenas os níveis de AOPP do CPF nos animais tratados com a menor dose de etanol utilizada. Nosso regime de administração intermitente de álcool e a dose de NAC utilizadas podem ter sido limitadores em nosso estudo, dado que na maioria dos estudos revisados, a frequência da exposição ao álcool era mais intensa, assim como a exposição a NAC (SCHNEIDER et al., 2015, 2017; SWARTZWELDER et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2014; WOLSTENHOLME et al., 2017), e talvez por isso nossos dados divergiram parcialmente dos encontrados na literatura relacionado ao estresse oxidativo.

Além disso, o álcool provocou fibrose no tecido hepático e aumentou os níveis de TGP no grupo tratado somente com álcool 3 g/kg, e a NAC foi capaz de inibir esse efeito que parece estar associado ao estresse oxidativo e inflamação no fígado provocados pelo álcool. E além disso, os efeitos da NAC sobre o TGP parecem ter sido mais eficazes quando administrada previamente ao EtOH 3 g/kg, em comparação com o grupo NAC/ EtOH 6 g/kg. No entanto, estudos sobre os efeitos da NAC contra os prejuízos do álcool principalmente relacionados ao fígado ainda são escassos, sendo necessários mais estudos para maiores elucidações dos mecanismo pelo qual a NAC exerce seus efeitos protetores contra os prejuízos provocados pelo álcool em *binge*.

6 – CONCLUSÃO

- A administração de álcool em *binge* crônico em ratos adolescentes provocou prejuízo na memória de reconhecimento de curto e longo prazo, e a NAC administrada previamente bloqueou esse efeito em ambas as doses de álcool apenas na memória de curto prazo. Na memória de longo prazo a NAC inibiu o prejuízo provocado pelo álcool apenas na dose de 6 g/kg.
- A administração de álcool em *binge* crônico em ratos adolescentes provocou prejuízo na memória de localização de curto e longo prazo, e a NAC administrada previamente bloqueou esse efeito em ambas as doses de álcool.
- A ingestão de álcool em *binge* na dose de 3 g/kg provocou aumento dos níveis de AOPP apenas no CPF, e a NAC preveniu esse efeito. O mesmo efeito não foi observado nas outras áreas cerebrais estudadas, assim como no teste de peroxidação lipídica (TBARS).
- Porém, no EST, a administração de NAC previamente ao álcool (em ambas as doses) assim como a ingestão de EtOH 6 g/kg, parecem diminuir significativamente os níveis AOPP e TBARS em comparação com o controle.
- A administração de álcool em *binge* crônico em ratos adolescentes afetou negativamente os níveis de GSH no CPF, HPC e EST, e a administração prévia de NAC a 150 mg/kg não foi capaz de inibir esse efeito, exceto no HPC quando administrada previamente ao EtOH 6 g/kg, e esse efeito parece estar moderadamente correlacionado com os resultados referentes a memória de reconhecimento de longo prazo, em que a NAC inibiu apenas o prejuízo provocado pelo álcool na dose de 6 g/kg.
- A administração de álcool em *binge* crônico em ratos adolescentes provocou fibrose no tecido hepático e aumentou os níveis de TGP no grupo tratado somente com álcool 3 g/kg, e a NAC administrada previamente ao álcool nessa dose foi capaz de bloquear esse efeito. Além disso, a NAC também mostrou uma eficiência maior em reduzir os níveis desta enzima no grupo NAC/EtOH 3 quando comparado à administração prévia da NAC ao álcool na dose de 6 g/kg (NAC/EtOH 6).

7 – REFERÊNCIAS

ABDEL-WAHAB, Wessam M.; MOUSSA, Farouzia I. Neuroprotective effect of N-acetylcysteine against cisplatin-induced toxicity in rat brain by modulation of oxidative stress and inflammation. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 13, p. 1155, 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6469471/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

ACHESON, Shawn K.; STEIN, Roy M.; SWARTZWELDER, H. S. Impairment of semantic and figural memory by acute ethanol: Age- dependent effects. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 7, p. 1437–1442, 1998.

AGAR, E. et al. The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of rat. **Neuroreport**, v. 10, n. 8, p. 1799–1801, 3 jun. 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10501578/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

AGGLETON, John P.; NELSON, Andrew J.D. Distributed interactive brain circuits for object-in-place memory: A place for time? **Brain and Neuroscience Advances**, v. 4, p. 239821282093347, jan. 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC7479857/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

AKBAR, Mohammed et al. Medications for alcohol use disorders: An overview. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 185, p. 64–85, 2018.

AKHTAR, Feroz et al. Acute maternal oxidant exposure causes susceptibility of the fetal brain to inflammation and oxidative stress. **Journal of Neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 1–17, 2017.

AOYAMA, Koji et al. Neuronal glutathione deficiency and age-dependent neurodegeneration in the EAAC1 deficient mouse. **Nature neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 119–126, jan. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16311588/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

ARIAS-CARRIÁN, Oscar et al. Dopaminergic reward system: A short integrative review. **International Archives of Medicine**, v. 3, n. 1, p. 1–6, 6 out. 2010. Disponível em: <<https://intarchmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1755-7682-3-24>>. Acesso em: 12 dez. 2021.

ATKINSON, Richard C.; SHIFFRIN, Richard M. Human Memory: A proposed system and its control processes BT - The Psychology of Learning and Motivation. **The Psychology of Learning and Motivation**, v. 2, n. 5, p. 89–195, 1968.

BARKER, Gareth R.I. et al. Recognition memory for objects, place, and temporal order: a disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 27, n. 11, p. 2948–2957, 14 mar. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17360918/>>. Acesso em: 26 dez. 2021.

BARKER, Gareth R.I.; WARBURTON, Elizabeth C. When is the hippocampus involved in recognition memory? **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 29, p. 10721–10731, 2011.

BARRA, Kiriaque et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, jul. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rn/a/Fvg4wkYjZPgsFs95f4chVjx/?lang=pt>>. Acesso em: 2 jan. 2022.

BARTON, Emily A. et al. Binge alcohol alters exercise-driven neuroplasticity. **Neuroscience**, v. 343, n. December, p. 165–173, 2017.

BAVARSAH SHAHRIPOUR, Reza; HARRIGAN, Mark R.; ALEXANDROV, Andrei V. N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: Mechanisms of action and therapeutic opportunities. **Brain and Behavior**, v. 4, n. 2, p. 108–122, 2014.

BEDENDO, André et al. Binge drinking: padrão associado ao risco de problemas do uso de álcool entre universitários. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, 2017. Disponível em: <www.eerp.usp.br/rlae>. Acesso em: 15 mar. 2020.

BELLOZI, Paula M.Q. et al. URB597 ameliorates the deleterious effects induced by binge alcohol consumption in adolescent rats. **Neuroscience letters**, v. 711, 15 out. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31374324/>>. Acesso em: 5 jan. 2022.

BODE, C.; KUGLER, V.; BODE, J.C. Endotoxemia in patients with alcoholic and non-alcoholic cirrhosis and in subjects with no evidence of chronic liver disease following acute alcohol excess. **Journal of Hepatology**, v. 4, n. 1, p. 8–14, jan. 1987.

BODE, Christiane; BODE, J. Christian. Effect of alcohol consumption on the gut. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 575–592, 1 ago. 2003. Acesso em: 17 out. 2021.

BONANOMI, L; GAZZANIGA, A. Toxicological, Pharmacokinetic and Metabolic Studies on Acetylcysteine. **European Journal of Respiratory Diseases. Supplement**, v. 111, p. 45–51, 1980.

BONELLI, Raphael M.; CUMMINGS, Jeffrey L. Frontal-subcortical circuitry and behavior. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 9, n. 2, p. 141, 2007. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3181854/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/163181854/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

BRADFORD, Marion 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, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976.

BROADBENT, Nicola J. et al. Object recognition memory and the rodent hippocampus. **Learning & Memory**, v. 17, n. 1, p. 5, 2010. Disponível em: <[pmc/articles/PMC2807177/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19807177/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

BURKE, Sara N.; BARNES, Carol A. The Neural Representation of 3-Dimensional Objects in Rodent Memory Circuits. **Behavioural brain research**, v. 285, p. 60, 5 maio 2015. Disponível em: <[pmc/articles/PMC4362856/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2562856/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

BURNETT, Elizabeth J; CHANDLER, L Judson; TRANTHAM-DAVIDSON, Heather. Glutamatergic plasticity and alcohol dependence-induced alterations in reward, affect and

cognition. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 65, p. 309, 4 fev. 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC4679411/>. Acesso em: 26 set. 2021.

BUTTERWORTH, Roger F. The liver–brain axis in liver failure: neuroinflammation and encephalopathy. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology** 2013 10:9, v. 10, n. 9, p. 522–528, 2 jul. 2013. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2013.99>. Acesso em: 29 dez. 2021.

CAETANO, Raul et al. The distribution of alcohol consumption and the prevention paradox in Brazil. *dd_3567* 60..68. 2011.

ČAPEK, Jan; ROUŠAR, Tomáš. Detection of Oxidative Stress Induced by Nanomaterials in Cells—The Roles of Reactive Oxygen Species and Glutathione. **Molecules**, v. 26, n. 16, 2 ago. 2021. Disponível em: </pmc/articles/PMC8401563/>. Acesso em: 17 out. 2021.

CEDERBAUM, Arthur I. ALCOHOL METABOLISM. **Clinics in liver disease**, v. 16, n. 4, p. 667, nov. 2012a. Disponível em: </pmc/articles/PMC3484320/>. Acesso em: 5 out. 2021.

CEDERBAUM, Arthur I. **Alcohol Metabolism. Clinics in Liver Disease**. [S.l.]: NIH Public Access. . Acesso em: 31 mar. 2020b. , nov. 2012

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiological reviews**, v. 59, n. 3, p. 527–605, 1979. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37532/>. Acesso em: 11 nov. 2021.

CHOI, Bo Young et al. EAAC1 gene deletion increases neuronal death and blood brain barrier disruption after transient cerebral ischemia in female mice. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 11, p. 19444–19457, 27 out. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25350110/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

CHOI, Hongyoon et al. Maturation of metabolic connectivity of the adolescent rat brain. **eLife**, v. 4, n. NOVEMBER2015, 27 nov. 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4718811/>. Acesso em: 21 jan. 2022.

CHOY, Kwok Ho Christopher et al. Effects of N-acetyl-cysteine treatment on glutathione depletion and a short-term spatial memory deficit in 2-cyclohexene-1-one-treated rats. **European journal of pharmacology**, v. 649, n. 1–3, p. 224–228, 15 dez. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20868666/>>. Acesso em: 28 dez. 2021.

CIPPITELLI, Andrea et al. Reversibility of object recognition but not spatial memory impairment following binge-like alcohol exposure in rats. **Neurobiology of learning and memory**, v. 94, n. 4, p. 538, nov. 2010. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC2975859/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20868666/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

CLARK, R. E.; ZOLA, S. M.; SQUIRE, L. R. Impaired Recognition Memory in Rats after Damage to the Hippocampus. **The Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 23, p. 8853, 1 dez. 2000. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC6773055/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20868666/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

CLARKE, Rhona; ADERMARK, Louise. Dopaminergic Regulation of Striatal Interneurons in Reward and Addiction: Focus on Alcohol. **Neural Plasticity**, v. 2015, 2015. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4515529/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20868666/)>. Acesso em: 12 dez. 2021.

CORBIT, Laura H.; CHIENG, Billy C.; BALLEINE, Bernard W. Effects of repeated cocaine exposure on habit learning and reversal by N-acetylcysteine. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 8, p. 1893–1901, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24531561/>>. Acesso em: 5 jan. 2022.

COSTA, Ana Isabel Conejo et al. AVALIAÇÃO DO PERFIL HEPÁTICO, DO CONSUMO ALIMENTAR E DE ÁLCOOL EM ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS. **Revista Uningá**, v. 58, n. 1, p. eUJ3327, 20 dez. 2021. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/download/3327/2446>>.

COSTARDI, João Victor Vezali et al. A review on alcohol: From the central action mechanism to chemical dependency. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 61, n. 4, p. 381–387, 2015.

CREWS, Fulton T. et al. Adolescent Alcohol Exposure Persistently Impacts Adult Neurobiology and Behavior. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 4, p. 1074, 1 out. 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC5050442/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

_____. Binge Ethanol Consumption Causes Differential Brain Damage in Young Adolescent Rats Compared With Adult Rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 24, n. 11, p. 1712–1723, nov. 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/12224170_Binge_Ethanol_Consumption_Causes_Differential_Brain_Damage_in_Young_Adolescent_Rats_Compared_With_Adult_Rats>. Acesso em: 22 dez. 2021.

CRUZ, Hans G. et al. Bi-directional effects of GABAB receptor agonists on the mesolimbic dopamine system. **Nature Neuroscience** 2004 7:2, v. 7, n. 2, p. 153–159, 25 jan. 2004. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nn1181>>. Acesso em: 12 dez. 2021.

DA COSTA, Charles S. et al. The tributyltin leads to obesogenic mammary gland abnormalities in adult female rats. **Toxicology Letters**, v. 307, p. 59–71, 1 jun. 2019. Acesso em: 13 dez. 2021.

DA SILVA, Elaine Zayas Marcelino; JAMUR, Maria Célia; OLIVER, Constance. Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 62, n. 10, p. 698, 11 out. 2014. Disponível em: </pmc/articles/PMC4230976/>. Acesso em: 28 dez. 2021.

DAS, Subir Kumar et al. Oxidative stress is the primary event: Effects of ethanol consumption in brain. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 22, n. 1, p. 99, 2007. Disponível em: </pmc/articles/PMC3454264/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

DEAN, Olivia; GIORLANDO, Frank; BERK, Michael. **N-acetylcysteine in psychiatry: Current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. Journal of Psychiatry and Neuroscience**. [S.l.]: Canadian Medical Association. . Acesso em: 29 mar. 2020. , 2011

DEDE, Adam J.O. et al. Hippocampal damage impairs recognition memory broadly, affecting both parameters in two prominent models of memory. **Proceedings of the National Academy**

of Sciences of the United States of America, v. 110, n. 16, p. 6577–6582, 16 abr. 2013. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3631653/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24111111/). Acesso em: 26 dez. 2021.

DEEPMALA et al. Clinical trials of N-acetylcysteine in psychiatry and neurology: A systematic review. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 55, p. 294–321, 2015.

DI CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, n. 14, p. 5274–5278, 1 jul. 1988. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/85/14/5274>. Acesso em: 12 dez. 2021.

DI CHIARA, Gaetano; BASSAREO, Valentina. Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 69–76, 1 fev. 2007. Acesso em: 12 dez. 2021.

DING, Zheng-Ming et al. Alcohol drinking and deprivation alter basal extracellular glutamate concentrations and clearance in the mesolimbic system of alcohol preferring (P) rats. **Addiction biology**, v. 18, n. 2, p. 297, mar. 2013. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3584204/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24111111/). Acesso em: 26 set. 2021.

DO, Jeehaeh et al. Functional roles of neurotransmitters and neuromodulators in the dorsal striatum. **Learning & Memory**, v. 20, n. 1, p. 21–28, 1 jan. 2013. Disponível em: <http://learnmem.cshlp.org/content/20/1/21.full>. Acesso em: 11 nov. 2021.

DOLCOS, Florin; LABAR, Kevin S.; CABEZA, Roberto. Dissociable effects of arousal and valence on prefrontal activity indexing emotional evaluation and subsequent memory: an event-related fMRI study. **NeuroImage**, v. 23, n. 1, p. 64–74, 1 set. 2004. Acesso em: 26 dez. 2021.

DRESSMAN, Bruce A. et al. Novel bicyclo[3.1.0]hexane analogs as antagonists of metabotropic glutamate 2/3 receptors for the treatment of depression. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 23, p. 5663–5668, dez. 2016.

DUMITRESCU, Laura et al. Oxidative Stress and the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018. Disponível em: </pmc/articles/PMC6304899/>. Acesso em: 11 nov. 2021.

DUNN, Winston; SHAH, Vijay H. Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease. **Clinics in liver disease**, v. 20, n. 3, p. 445, 1 ago. 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC4933837/>. Acesso em: 19 out. 2021.

ENGEN, Phillip A. et al. The gastrointestinal microbiome: Alcohol effects on the composition of intestinal microbiota. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 37, n. 2, p. 223, 27 jun. 2015.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behavioural Brain Research**, v. 31, n. 1, p. 47–59, 1 nov. 1988.

ENNACEUR, A.; NEAVE, Nick; AGGLETON, John P. Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. **Experimental Brain Research**, v. 113, n. 3, p. 509–519, 17 mar. 1997.

EPSTEIN, Russell A. et al. **The cognitive map in humans: Spatial navigation and beyond**. **Nature Neuroscience**. [S.l.]: Nature Publishing Group. , 2017

ERIC, Nguyen-Khac et al. Glucocorticoids plus N-Acetylcysteine in Severe Alcoholic Hepatitis. **New England Journal of Medicine**, v. 365, n. 19, p. 1781–1789, 2011.

FARR, Susan A. et al. The antioxidants alpha-lipoic acid and N-acetylcysteine reverse memory impairment and brain oxidative stress in aged SAMP8 mice. **Journal of neurochemistry**, v. 84, n. 5, p. 1173–1183, mar. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12603840/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

FERREIRA SEIVA, Fábio Rodrigues et al. Effects of N-acetylcysteine on alcohol abstinence and alcohol-induced adverse effects in rats. **Alcohol**, v. 43, n. 2, p. 127–135, 1 mar. 2009. Acesso em: 29 dez. 2021.

FLORESCO, Stan B.; SEAMANS, Jeremy K.; PHILLIPS, Anthony G. Selective Roles for Hippocampal, Prefrontal Cortical, and Ventral Striatal Circuits in Radial-Arm Maze Tasks With or Without a Delay. **The Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 5, p. 1880, 1 mar. 1997a. Disponível em: </pmc/articles/PMC6573377/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

_____. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 17, n. 5, p. 1880–1890, 1 mar. 1997b. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9030646/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

GALDURÓZ, José Carlos F; CAETANO, Raul. Epidemiologia do uso de álcool no Brasil. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 26, n. SUPPL., p. 3–6, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rbp/a/hpPKpzj6VNZ9pNVdqX3J5pF/?lang=pt>. Acesso em: 14 out. 2021.

GALVAN, Adriana. Adolescent development of the reward system. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 4, p. 6, 2010. Acesso em: 12 dez. 2021.

GONZÁLEZ, Antonio; PARIENTE, José A.; SALIDO, Ginés M. Ethanol stimulates ROS generation by mitochondria through Ca²⁺ mobilization and increases GFAP content in rat hippocampal astrocytes. **Brain research**, v. 1178, n. 1, p. 28–37, 31 out. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17888892/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

GRIFFIN, William C. et al. Repeated cycles of chronic intermittent ethanol exposure increases basal glutamate in the nucleus accumbens of mice without affecting glutamate transport. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. FEB, 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4337330/>. Acesso em: 26 set. 2021.

GUERRI, Consuelo; PASCUAL, María. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. **Alcohol (Fayetteville, N.Y.)**, v. 44, n. 1, p. 15–26, jan. 2010a. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20113871/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

_____. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. **Alcohol**, v. 44, n. 1, p. 15–26, 1 jan. 2010b. Acesso em: 27 ago. 2021.

HADJIHAMBI, Anna et al. Hepatic encephalopathy: a critical current review. **Hepatology International** 2017 12:1, v. 12, n. 1, p. 135–147, 2 ago. 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12072-017-9812-3>>. Acesso em: 29 dez. 2021.

HEARD, Kennon J. Acetylcysteine for Acetaminophen Poisoning. **The New England journal of medicine**, v. 359, n. 3, p. 285, 17 jul. 2008. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC2637612/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17311112/)>. Acesso em: 11 nov. 2021.

HENDRIKS, Henk F.J. Alcohol and Human Health: What Is the Evidence? **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, n. 1, p. 1–21, 25 mar. 2020.

HENRIQUES, Joana F. et al. Microglia and alcohol meet at the crossroads: Microglia as critical modulators of alcohol neurotoxicity. **Toxicology Letters**, v. 283, p. 21–31, 1 fev. 2018. Acesso em: 22 nov. 2021.

HK, Seitz et al. Alcoholic liver disease. **Nature reviews. Disease primers**, v. 4, n. 1, 1 dez. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30115921/>>. Acesso em: 17 out. 2021.

HOLMAY, Mary J. et al. N-Acetylcysteine boosts brain and blood glutathione in Gaucher and Parkinson diseases. **Clinical neuropharmacology**, v. 36, n. 4, p. 103–106, jul. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23860343/>>. Acesso em: 27 dez. 2021.

HOSSEINI, Nooshin; SHOR, Julia; SZABO, Gyongyi. Alcoholic Hepatitis: A Review. **Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)**, v. 54, n. 4, p. 408, 1 jul. 2019. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC6671387/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31711117/)>. Acesso em: 28 dez. 2021.

HYMAN, Steven E.; MALENKA, Robert C. Addiction and the brain: The neurobiology of compulsion and its persistence. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 695–703, out. 2001.

IKONNE, Uzoma S. et al. Supplementation with N-Acetyl Cysteine Affects Motor and Cognitive Function in Young but Not Old Mice. **The Journal of nutrition**, v. 149, n. 3, p. 463–470, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30770531/>>. Acesso em: 28 dez. 2021.

ISRAEL, Yedy et al. Aspirin and N-acetylcysteine co-administration markedly inhibit chronic ethanol intake and block relapse binge drinking: Role of neuroinflammation-oxidative stress self-perpetuation. **Addiction Biology**, p. e12853, 15 nov. 2019.

J, Ching et al. The peroxisome proliferator activated receptor gamma agonist pioglitazone increases functional expression of the glutamate transporter excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2) in human glioblastoma cells. **Oncotarget**, v. 6, n. 25, p. 21301–21314, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26046374/>>. Acesso em: 26 set. 2021.

JAMES, Laura P. et al. Effect of N-Acetylcysteine on Acetaminophen Toxicity in Mice: Relationship to Reactive Nitrogen and Cytokine Formation. **Toxicological Sciences**, v. 75, n. 2, p. 458–467, 1 out. 2003. Disponível em: <<https://academic.oup.com/toxsci/article/75/2/458/1655910>>. Acesso em: 29 dez. 2021.

Ji, Zhe et al. Binge Alcohol Exposure Causes Neurobehavioral Deficits and GSK3 β Activation in the Hippocampus of Adolescent Rats. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018. Disponível em: <[pmc/articles/PMC5814471/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30770531/)>. Acesso em: 27 dez. 2021.

JIANG, Yanchao et al. Alcohol Metabolizing Enzymes, Microsomal Ethanol Oxidizing System, Cytochrome P450 2E1, Catalase, and Aldehyde Dehydrogenase in Alcohol-Associated Liver Disease. **Biomedicines**, v. 8, n. 3, p. 50, 4 mar. 2020.

JOFFE, Max E.; GRUETER, Carrie A.; GRUETER, Brad A. Biological substrates of addiction. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science**, v. 5, n. 2, p. 151–171, mar. 2014.

JOHNSON, Sarah A. et al. Discrimination performance in aging is vulnerable to interference and dissociable from spatial memory. **Learning and Memory**, v. 23, n. 7, p. 339–348, 1 jul. 2016.

KANE, Cynthia J. M.; DREW, Paul D. Inflammatory responses to alcohol in the CNS: nuclear receptors as potential therapeutics for alcohol-induced neuropathologies. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 100, n. 5, p. 951–959, 2016.

KANE, Cynthia J.M. et al. Effects of Ethanol on Immune Response in the Brain: Region Specific Changes in Adolescent versus Adult Mice. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 38, n. 2, p. 384, fev. 2014. Disponível em: </pmc/articles/PMC3872252/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

KARINA ROCHA HORA MENDONÇA, Ana et al. Consumo de álcool e fatores associados ao binge drinking entre universitárias da área de saúde Alcohol consumption and factors associated with binge drinking among female university students of health area Consumo de alcohol y factores asociados al binge drinking entre las universitarias de la salud PESQUISA | RESEARCH. **Escola Anna Nery**, v. 22, n. 1, p. 20170096, 2018.

KATZ, Maya et al. Cerebrospinal fluid concentrations of N-acetylcysteine after oral administration in Parkinson's disease. **Parkinsonism & related disorders**, v. 21, n. 5, p. 500–503, 1 maio 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25765302/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

KING, Jean A. et al. Chronic alcohol-induced liver injury correlates with memory deficits: Role for neuroinflammation. **Alcohol**, v. 83, p. 75–81, 1 mar. 2020. Acesso em: 19 out. 2021.

KINOSHITA, Chisato; AOYAMA, Koji. The Role of Non-Coding RNAs in the Neuroprotective Effects of Glutathione. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, 2 abr. 2021. Disponível em: </pmc/articles/PMC8073493/>. Acesso em: 22 dez. 2021.

KOŁOTA, Aleksandra et al. Influence of Alcohol Consumption on Body Mass Gain and Liver Antioxidant Defense in Adolescent Growing Male Rats. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 13, 1 jul. 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6651161/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

_____. Oxidative Stress Parameters in the Liver of Growing Male Rats Receiving Various Alcoholic Beverages. **Nutrients**, v. 12, n. 1, p. 158, 6 jan. 2020.

KOOB, G. F. et al. Alcohol, the reward system and dependence. **Toward a Molecular Basis of Alcohol Use and Abuse**, v. 71, p. 103–114, 1994. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-0348-7330-7_11>. Acesso em: 3 jan. 2022.

KOOB, George F. A role for GABA mechanisms in the motivational effects of alcohol. **Biochemical Pharmacology**, v. 68, n. 8, p. 1515–1525, 15 out. 2004. Acesso em: 12 dez. 2021.

KRANZ, G. S.; KASPER, S.; LANZENBERGER, R. Reward and the serotonergic system. **Neuroscience**, v. 166, n. 4, p. 1023–1035, 14 abr. 2010. Acesso em: 12 dez. 2021.

KRAYCHETE, Durval Campos; CALASANS, Maria Thais De Andrade; VALENTE, Camila Motta Leal. **Pro-inflammatory cytokines and pain. Revista Brasileira de Reumatologia**. [S.l.]: Elsevier Editora Ltda. , 2006

KUMAR, Sandeep et al. The role of GABAA receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress. **Psychopharmacology** 2009 205:4, v. 205, n. 4, p. 529–564, 20 maio 2009. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-009-1562-z>>. Acesso em: 12 dez. 2021.

LEAL, Marcos et al. Mechanisms of Enhanced Vasoconstriction in the Mouse Model of Atherosclerosis: the Beneficial Effects of Sildenafil. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 16, n. 6, p. 517–530, 7 abr. 2015.

LEBOURGEOIS, Sophie et al. Evaluation of N-acetylcysteine on ethanol self-administration in ethanol-dependent rats. **Neuropharmacology**, v. 150, n. June 2018, p. 112–120, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.010>>.

_____. Evaluation of N-acetylcysteine on ethanol self-administration in ethanol-dependent rats. **Neuropharmacology**, v. 150, p. 112–120, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.010>>.

LEES, Briana et al. Effect of alcohol use on the adolescent brain and behavior. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 192, p. 172906, 1 maio 2020. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC7183385/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/383385/)>. Acesso em: 26 set. 2021.

LIEBER, C S. Gastric ethanol metabolism and gastritis: interactions with other drugs, *Helicobacter pylori*, and antibiotic therapy (1957-1997)--a review. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 21, n. 8, p. 1360–6, nov. 1997.

LITTEN, Raye Z. et al. Potential medications for the treatment of alcohol use disorder: An evaluation of clinical efficacy and safety. **Substance Abuse**, v. 37, n. 2, p. 286–298, 2 abr. 2016.

Livreto Informativo sobre Drogas Psicotrópicas - CEBRID. Disponível em: <<https://www.cebrid.com.br/livreto-informativo-sobre-drogas/>>. Acesso em: 14 out. 2021.

LOMBARDO, Jamie et al. Hepatic mast cell concentration directly correlates to stage of fibrosis in NASH. **Human Pathology**, v. 86, p. 129–135, 1 abr. 2019. Acesso em: 28 dez. 2021.

LOUVET, Alexandre; MATHURIN, Philippe. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 12, n. 4, p. 231–242, 17 abr. 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrgastro.2015.35>>. Acesso em: 30 mar. 2020.

LOWE, Patrick P. et al. Chronic alcohol-induced neuroinflammation involves CCR2/5-dependent peripheral macrophage infiltration and microglia alterations. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, 9 out. 2020. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC7547498/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32814448/)>. Acesso em: 27 dez. 2021.

_____. Reduced gut microbiome protects from alcohol-induced neuroinflammation and alters intestinal and brain inflammasome expression. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, 27 out. 2018.

LUO, Jia. Autophagy and ethanol neurotoxicity. **Autophagy**, v. 10, n. 12, p. 2099, 1 dez. 2014. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4502825/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25144448/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

MARSHALL, Simon Alex; GEIL, Chelsea Rhea; NIXON, Kimberly. Prior binge ethanol exposure potentiates the microglial response in a model of alcohol-induced neurodegeneration. **Brain Sciences**, v. 6, n. 2, 2016.

MATSUMOTO, Hiroshi; FUKUI, Yuko. Pharmacokinetics of ethanol: A review of the methodology. **Addiction Biology**, v. 7, n. 1, p. 5–14, 2002.

MCCLAIN, Justin A. et al. Adolescent binge alcohol exposure induces long-lasting partial activation of microglia. **Brain, behavior, and immunity**, v. 25, n. Suppl 1, p. S120, 1 jun. 2011. Disponível em: </pmc/articles/PMC3098298/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

MCCLINTICK, Jeanette N. et al. Gene expression changes in the ventral hippocampus and medial prefrontal cortex of adolescent alcohol-preferring (P) rats following binge-like alcohol drinking. **Alcohol**, v. 68, p. 37–47, 1 maio 2018.

MENGLER, Luam et al. Brain maturation of the adolescent rat cortex and striatum: Changes in volume and myelination. **NeuroImage**, v. 84, p. 35–44, 1 jan. 2014. Acesso em: 21 jan. 2022.

MILLEA, Paul J. N-Acetylcysteine: Multiple Clinical Applications. **American Family Physician**, v. 80, n. 3, p. 265–269, 1 ago. 2009. Disponível em: <www.aafp.org/afp.>. Acesso em: 11 nov. 2021.

MINARINI, Alessandro et al. N-acetylcysteine in the treatment of psychiatric disorders: current status and future prospects. **Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology**, v. 13, n. 3, p. 279–292, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/17425255.2017.1251580>.

MÖLLER, Marisa et al. Social isolation rearing induces mitochondrial, immunological, neurochemical and behavioural deficits in rats, and is reversed by clozapine or N-acetyl cysteine. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 30, p. 156–167, maio 2013.

MONTEIRO, Milena de Oliveira Bravo et al. EFFECT OF A SHORT PERIOD WHOLE BODY VIBRATION WITH 10 HZ ON BLOOD BIOMARKERS IN WISTAR RATS. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 14, n. 4 Suppl, p. 11, 7 ago. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5514436/>. Acesso em: 19 out. 2021.

MORAIS-SILVA, Gessynger; ALVES, Gabrielle Cunha; MARIN, Marcelo T. N-acetylcysteine treatment blocks the development of ethanol-induced behavioural sensitization

and related Δ FosB alterations. **Neuropharmacology**, v. 110, p. 135–142, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.07.009>>.

MORENO, Christophe et al. Enteral nutrition with or without N-acetylcysteine in the treatment of severe acute alcoholic hepatitis: A randomized multicenter controlled trial. **Journal of Hepatology**, v. 53, n. 6, p. 1117–1122, 1 dez. 2010. Acesso em: 29 dez. 2021.

NESTLER, Eric J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Nature Reviews Neuroscience** 2001 2:2, v. 2, n. 2, p. 119–128, 1 fev. 2001. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35053570>>. Acesso em: 12 dez. 2021.

NOVELLI, Ethel L B et al. Toxic Effects of Alcohol Intake on Prostate of Rats. **Prostate**, v. 31, p. 37–41, 1997. Acesso em: 29 dez. 2021.

NURMI, K. et al. Ethanol induces apoptosis in human mast cells. **Life Sciences**, v. 85, n. 19–20, p. 678–684, 4 nov. 2009. Acesso em: 28 dez. 2021.

OLIVE, M. F. et al. Stimulation of Endorphin Neurotransmission in the Nucleus Accumbens by Ethanol, Cocaine, and Amphetamine. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 23, p. RC184–RC184, 1 dez. 2001. Disponível em: <<https://www.jneurosci.org/content/21/23/RC184>>. Acesso em: 12 dez. 2021.

OMS. Global status report on alcohol and health 2018. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2018. p. 478, 2018. Acesso em: 22 dez. 2021.

OSCAR-BERMAN, Marlene et al. Impairments of Brain and Behavior: The Neurological Effects of Alcohol. **Alcohol Health and Research World**, v. 21, n. 1, p. 65, 1997. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6826797/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6826797/)>. Acesso em: 22 dez. 2021.

OZARAS, Resat et al. N-acetylcysteine attenuates alcohol-induced oxidative stress in the rat. **World Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 1, p. 125, 15 jan. 2003. Disponível em: <[pmc/articles/PMC4728225/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4728225/)>. Acesso em: 29 dez. 2021.

PASCUAL, Maria et al. Intermittent ethanol exposure induces inflammatory brain damage and causes long-term behavioural alterations in adolescent rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 2, p. 541–550, 2007.

PATEL, Dhyanesh et al. Ethanol (E) Impairs Fetal Brain GSH Homeostasis by Inhibiting Excitatory Amino-Acid Carrier 1 (EAAC1)-Mediated Cysteine Transport. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, 5 dez. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5751199/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

PELIÇÃO, Renan et al. URB597 inhibits oxidative stress induced by alcohol binging in the prefrontal cortex of adolescent rats. **Neuroscience Letters**, v. 624, p. 17–22, 15 jun. 2016. Acesso em: 17 mar. 2020.

PENG, Hui et al. Increased expression of M1 and M2 phenotypic markers in isolated microglia after four-day binge alcohol exposure in male rats. **Alcohol (Fayetteville, N.Y.)**, v. 62, p. 29, 1 ago. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5695703/>. Acesso em: 27 dez. 2021.

PENZA, M. et al. The environmental chemical tributyltin chloride (TBT) shows both estrogenic and adipogenic activities in mice which might depend on the exposure dose. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 255, n. 1, p. 65–75, 15 ago. 2011.

PUIGHERMANAL, Emma et al. Functional and molecular heterogeneity of D2R neurons along dorsal ventral axis in the striatum. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC7181842/>. Acesso em: 11 nov. 2021.

REINCKE, Samuel A.J.; HANGANU-OPATZ, Ileana L. Early-life stress impairs recognition memory and perturbs the functional maturation of prefrontal-hippocampal-perirhinal networks. **Scientific Reports**, v. 7, 7 fev. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5294456/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

Relatório Global sobre Álcool e Saúde - 2018. Disponível em: <<https://cisa.org.br/index.php/pesquisa/dados-oficiais/artigo/item/71-relatorio-global-sobre-alcool-e-saude-2018>>. Acesso em: 16 mar. 2020.

RIVERA, Patricia et al. Oleoylethanolamide restores alcohol-induced inhibition of neuronal proliferation and microglial activity in striatum. **Neuropharmacology**, v. 146, p. 184–197, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30496754/>>. Acesso em: 5 jan. 2022.

ROCCO, Alba et al. Alcoholic disease: Liver and beyond. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 40, p. 14652, 28 out. 2014. Disponível em: <</pmc/articles/PMC4209531/>>. Acesso em: 17 out. 2021.

RONIS, Martin J.J. et al. Effects of N-acetylcysteine on ethanol-induced hepatotoxicity in rats fed via total enteral nutrition. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, n. 5, p. 619–630, 1 set. 2005. Acesso em: 29 dez. 2021.

ROZIN, Leandro; PALMIRA, Ivete; ZAGONEL, Sanson. **Fatores de risco para dependência de álcool em adolescentes***. . [S.l: s.n.], 2012.

SALASPURO, V et al. Ethanol oxidation and acetaldehyde production in vitro by human intestinal strains of Escherichia coli under aerobic, microaerobic, and anaerobic conditions. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 34, n. 10, p. 967–73, out. 1999.

SALIM, Samina. Oxidative Stress and the Central Nervous System. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 360, n. 1, p. 201, 1 jan. 2017. Disponível em: <</pmc/articles/PMC5193071/>>. Acesso em: 11 nov. 2021.

SAMARGHANDIAN, Saeed et al. Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 87, p. 223–229, 1 mar. 2017. Acesso em: 11 nov. 2021.

SCHNEIDER, Ricardo et al. N-acetylcysteine Prevents Alcohol Related Neuroinflammation in Rats. **Neurochemical Research**, v. 42, n. 8, p. 2135–2141, 2017.

_____. N-acetylcysteine prevents behavioral and biochemical changes induced by alcohol cessation in rats. **Alcohol**, v. 49, n. 3, p. 259–263, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.alcohol.2015.01.009>>.

SCHULTE, Mieke H.J. et al. The effect of N-acetylcysteine and working memory training on neural mechanisms of working memory and cue reactivity in regular cocaine users. **Psychiatry research. Neuroimaging**, v. 287, p. 56–59, 30 maio 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30991248/>>. Acesso em: 5 jan. 2022.

SCHWARZ, Jaclyn M.; BILBO, Staci D. The Immune System and the Developing Brain. <http://dx.doi.org/10.4199/C00045ED1V01Y201110DBR004>, v. 2, n. 3, p. 1–128, 18 out. 2011. Acesso em: 27 dez. 2021.

SCIVOLETTO, Sandra; Malbergier, André; Pileggi, Adriana. **Fundamentos de Toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

SEN, Chandan K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 8, n. 12, p. 660–672, dez. 1997. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286397001137>>. Acesso em: 13 mar. 2020.

SETSHEDI, Mashiko et al. Limited Therapeutic Effect of N-Acetylcysteine on Hepatic Insulin Resistance in an Experimental Model of Alcohol-Induced Steatohepatitis. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 35, n. 12, p. 2139–2151, 1 dez. 2011. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1530-0277.2011.01569.x>>. Acesso em: 29 dez. 2021.

SIES, Helmut; BERNDT, Carsten; JONES, Dean P. Oxidative Stress. **Annual Review of Biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 715–748, 20 jun. 2017.

SILVA, A. M.M. et al. Impact of an environmentally realistic intake of water contaminants and superoxide formation on tissues of rats. **Environmental Pollution**, v. 105, n. 2, p. 243–249, 1 maio 1999. Acesso em: 29 dez. 2021.

SKINNER, Marilyn D. et al. Disulfiram Efficacy in the Treatment of Alcohol Dependence: A Meta-Analysis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e87366, 10 fev. 2014.

SOLARI, Nicola; HANGYA, Balázs. **Cholinergic modulation of spatial learning, memory and navigation. European Journal of Neuroscience.** [S.l.]: Blackwell Publishing Ltd. , 1 set. 2018

SOWELL, Elizabeth R. et al. In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 859–861, out. 1999.

SQUEGLIA, Lindsay M. et al. Alcohol use during a trial of N-acetylcysteine for adolescent marijuana cessation. **Addictive Behaviors**, v. 63, p. 172–177, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.addbeh.2016.08.001>>.

SQUIRE, Larry R. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. nov. 2004, [S.l.: s.n.], nov. 2004. p. 171–177.

SU, Lian Jiu et al. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6815535/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36815535/)>. Acesso em: 27 dez. 2021.

SUNDBERG, A. et al. Glutathione transferases in the urine: Sensitive methods for detection of kidney damage induced by nephrotoxic agents in humans. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n. SUPPL. 3, p. 293–296, 1994. Acesso em: 29 dez. 2021.

SWARTZWELDER, H. Scott et al. Adolescent Intermittent Alcohol Exposure: Deficits in Object Recognition Memory and Forebrain Cholinergic Markers. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, p. e0140042, 3 nov. 2015. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0140042>>. Acesso em: 5 jan. 2022.

T, Fujii. Toxicological correlation between changes in blood biochemical parameters and liver histopathological findings. **The Journal of toxicological sciences**, v. 22, n. 3, p. 161–183, 1997. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9279820/>>. Acesso em: 19 out. 2021.

TEIXEIRA, Francisco Bruno et al. Chronic Ethanol Exposure during Adolescence in Rats Induces Motor Impairments and Cerebral Cortex Damage Associated with Oxidative Stress.

PLoS ONE, v. 9, n. 6, p. 101074, 26 jun. 2014. Disponível em: </pmc/articles/PMC4072717/>. Acesso em: 26 dez. 2021.

TERASAKI, Laurne S.; SCHWARZ, Jaclyn M. Impact of prenatal and subsequent adult alcohol exposure on pro-inflammatory cytokine expression in brain regions necessary for simple recognition memory. **Brain Sciences**, v. 7, n. 10, 2017.

TESCHKE, Rolf. Alcoholic Liver Disease: Alcohol Metabolism, Cascade of Molecular Mechanisms, Cellular Targets, and Clinical Aspects. **Biomedicines**, v. 6, n. 4, p. 106, 12 nov. 2018.

_____. Alcoholic Liver Disease: Current Mechanistic Aspects with Focus on Their Clinical Relevance. **Biomedicines**, v. 7, n. 3, p. 1–12, 1 set. 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6783919/>. Acesso em: 17 out. 2021.

TOMKINS D. M; SELLERS E. M. Addiction and the brain: the role of neurotransmitters in the cause and treatment of drug dependence. **Canadian Medical Association or its licensors**, 2001. Acesso em: 3 jan. 2022.

TORRUELLAS, Cara; FRENCH, Samuel W; MEDICI, Valentina. Diagnosis of alcoholic liver disease. **World Journal of Gastroenterology : WJG**, v. 20, n. 33, p. 11684, 7 set. 2014. Disponível em: </pmc/articles/PMC4155359/>. Acesso em: 19 out. 2021.

TRANHAM-DAVIDSON, Heather et al. Ceftriaxone Normalizes Nucleus Accumbens Synaptic Transmission, Glutamate Transport, and Export following Cocaine Self-Administration and Extinction Training. **The Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 36, p. 12406, 5 set. 2012. Disponível em: </pmc/articles/PMC3465971/>. Acesso em: 26 set. 2021.

TRINDADE, I; CORREIA, R. Adolescentes e álcool. **SciELO.Oces.Mctes.Pt**, 1995.

TURCATEL, Elias; FUNCHAL, Cláudia da Silva; GOMEZ, Rosane. Alterações Comportamentais e de Estresse Oxidativo no Sistema Nervoso Central pelo Uso de Álcool e Tabaco. **Revista Neurociências**, v. 20, n. 3, p. 444–454, 30 set. 2012. Disponível em:

<<https://periodicos.unifesp.br/index.php/neurociencias/article/view/8256>>. Acesso em: 26 dez. 2021.

TYNG, Chai M. et al. The influences of emotion on learning and memory. **Frontiers in Psychology**, v. 8, n. AUG, p. 1454, 24 ago. 2017. Acesso em: 26 dez. 2021.

VOYTEK, Bradley; KNIGHT, Robert T. Prefrontal cortex and basal ganglia contributions to visual working memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 42, p. 18167–18172, 19 out. 2010. Disponível em: <[pmc/articles/PMC2964236/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2964236/)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

WANG, H. Joe et al. Inflammation in Alcoholic Liver Disease. **Annual review of nutrition**, v. 32, p. 343, ago. 2012a. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3670145/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3670145/)>. Acesso em: 19 out. 2021.

_____. Inflammation in Alcoholic Liver Disease. **Annual review of nutrition**, v. 32, p. 343, ago. 2012b. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3670145/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3670145/)>. Acesso em: 22 dez. 2021.

WARBURTON, E. C.; BROWN, M. W. Neural circuitry for rat recognition memory. **Behavioural Brain Research**, v. 285, p. 131–139, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.050>>.

WHITE, Aaron M. **What happened? Alcohol, memory blackouts, and the brain. Alcohol Research and Health**. [S.l.]: National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. , 2003

WILLIAMS, Jessica A.; DING, Wen-Xing. Role of Autophagy in Alcohol and Drug-induced Liver Injury. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 136, p. 111075, 1 fev. 2020. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6947668/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6947668/)>. Acesso em: 17 out. 2021.

WITKO-SARSAT, V et al. Advanced oxidation protein products: oxidative stress markers and mediators of inflammation in uremia. **Advances in nephrology from the Necker Hospital**, v. 28, p. 321–41, 1998.

WOLSTENHOLME, Jennifer T. et al. Intermittent ethanol during adolescence leads to lasting behavioral changes in adulthood and alters gene expression and histone methylation in the PFC. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, p. 307, 26 set. 2017. Acesso em: 5 jan. 2022.

WU, Defeng; CEDERBAUM, Arthur I. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. **Alcohol Research & Health**, v. 27, n. 4, p. 277, 2003. Disponível em: </pmc/articles/PMC6668865/>. Acesso em: 17 out. 2021.

YANG, Lili et al. Cannabidiol protects liver from binge alcohol-induced steatosis by mechanisms including inhibition of oxidative stress and increase in autophagy. **Free radical biology & medicine**, v. 68, p. 260, mar. 2014. Disponível em: </pmc/articles/PMC4112960/>. Acesso em: 28 dez. 2021.

YEH, Ming Yang et al. Chitosan promotes immune responses, ameliorating total mature white blood cell numbers, but increases glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase, and ameliorates lactate dehydrogenase levels in leukemia mice in vivo. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 3, p. 2483, 1 set. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5547931/>. Acesso em: 14 dez. 2021.

YONELINAS, Andrew P. The Hippocampus Supports High-Resolution Binding in the Service of Perception, Working Memory and Long-Term Memory. **Behavioural brain research**, v. 254, p. 34, 1 out. 2013. Disponível em: </pmc/articles/PMC3773061/>. Acesso em: 22 dez. 2021.

ZHAO, Ya Nan et al. Activated microglia are implicated in cognitive deficits, neuronal death, and successful recovery following intermittent ethanol exposure. **Behavioural Brain Research**, v. 236, n. 1, p. 270–282, 2013.