



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SARAH VIANA FARIAS

**EFEITOS DA CAFEÍNA NA MEMÓRIA E NO COMPORTAMENTO DO TIPO  
DEPRESSIVO EM RATAS ADOLESCENTES APÓS EXPOSIÇÃO AO ETANOL**

BELÉM - PA

2024

SARAH VIANA FARIAS

**EFEITOS DA CAFEÍNA NA MEMÓRIA E NO COMPORTAMENTO DO TIPO  
DEPRESSIVO EM RATAS ADOLESCENTES APÓS EXPOSIÇÃO AO ETANOL**

Discente: Sarah Viana Farias  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane do  
Socorro Ferraz Maia  
Co-orientador: Prof. Dr. Bruno  
Gonçalves Pinheiro

Documento de qualificação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BELÉM - PA  
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a)

---

F224e FARIAS, SARAH.  
EFEITOS DA CAFEÍNA NA MEMÓRIA E NO  
COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO EM RATAS  
ADOLESCENTES APÓS EXPOSIÇÃO AO ETANOL /  
SARAH FARIAS, VIANA Sem. — 2024.  
71 f. : il. color.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Cristiane do Socorro Ferraz

Maia

Coorientador(a): Prof. Dr. Bruno Gonçalves Pinheiro  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,  
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2024.

1. Etanol. 2. Cafeína. 3. Memória. 4. Depressão. I.  
Título.

---

CDD 615.1

**SARAH VIANA FARIAS**

**EFEITOS DA CAFEÍNA NA MEMÓRIA E NO COMPORTAMENTO DO TIPO  
DEPRESSIVO EM RATAS ADOLESCENTES APÓS EXPOSIÇÃO AO ETANOL**

Documento de defesa de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristiane do Socorro Ferraz Maia  
Orientadora

---

Prof. Dr. Bruno Gonçalves Pinheiro  
Co-orientador

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luanna de Melo Pereira Fernandes  
Universidade Federal do Pará

---

Prof. Dr. Jofre Jacob da Silva Freitas  
Universidade do E do Pará

## DEDICATÓRIA

"À divindade que guia nossos passos e ilumina nossas mentes, dedico humildemente esta dissertação de mestrado. Agradeço a Deus pela sabedoria concedida, pela força nos momentos de desafio e pela inspiração constante que permeia este trabalho. Que Sua graça continue a nos orientar e abençoar, enquanto buscamos compreender e contribuir para o conhecimento humano. Amém."

## AGRADECIMENTOS

A qualificação do mestrado marca a finalização de uma etapa intensa e desafiadora, e é com profunda gratidão que expresso meu apreço a todos que contribuíram e contribuem para essa jornada.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela força, sabedoria e guia constantes ao longo deste percurso acadêmico. Sua presença foi a luz que iluminou os caminhos mais difíceis e fortaleceu minha determinação.

À minha mãe e pai, cujo amor e apoio são o alicerce da minha existência, não há palavras suficientes para expressar minha gratidão. O apoio, encorajamento e dedicação de vocês é o que me motiva todos os dias.

Às minhas irmãs, Simone e Silvia, que sempre estiveram ao meu lado, mesmo agora estando longe, compartilhando alegrias e superando desafios juntas, meu sincero agradecimento. O apoio constante de vocês é essencial em tudo o que faço.

À minha orientadora, Cristiane Maia, cuja sabedoria e orientação guiam meus passos na pesquisa desde o início da minha graduação, meu eterno agradecimento. Sua dedicação com seus alunos, sua confiança em mim, as oportunidades que me deu até aqui, me moldam e me encorajam a buscar sempre o melhor.

Ao meu co-orientador, Bruno Gonçalves, agradeço por sua contribuição, ajuda e paciência comigo nessa jornada. Seus ensinamentos foram essenciais nesse percurso.

Ao Professor Enéas, figura inspiradora do laboratório, expresso minha profunda gratidão por todos os ensinamentos repassados.

Ao Professor Rodrigo Cunha e a Doutora Samira por abrirem as portas de Coimbra para mim e este projeto.

Aos amigos de laboratório, desde doutorandos a ICs, minha segunda família, expresso minha profunda gratidão. Cada desafio enfrentado, cada experimento

realizado e cada descoberta compartilhada foram tijolos na construção do meu crescimento acadêmico e pessoal.

Agradeço especialmente as minhas amigas Marta e Eloise, pois vocês me ajudam enfrentar essa jornada de forma mais leve e divertida, sou eternamente grata por tudo o que fazem por mim. Agradeço ao Lucas, por sempre estar disposto a ajudar, tirar dúvidas ou servir um café. Agradeço a Brenda, que sempre esteve ali quando precisei. Agradeço a Taiana por me ouvir muitas vezes, por sempre me ajudar quando apareço desesperada com algo e também por todas as caronas. Agradeço a todas as alunas de iniciação científica por todo auxílio que me deram e por sempre estarem dispostas a ajudar, especialmente a Suelen e Luiza.

Aos amigos de infância, Poliana e Tiago, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões e tanto ouviram sobre minhas conquistas e também reclamações neste percurso e nunca largaram a minha mão.

À Monique por toda a sua compreensão, dedicação e companheirismo durante esta jornada, agradeço por ser uma presença constante e encorajadora. Seu apoio é fundamental.

Ao programa de pós graduação em ciências farmacêuticas pela oportunidade de fazer esse mestrado.

À Capes pelo financeiro.

A todos que, de alguma forma, contribuíram durante esta jornada, meu agradecimento sincero.

## EPÍGRAFE

"O conhecimento é o único recurso que se multiplica quando compartilhado, e a pesquisa é a bússola que nos guia pelas fronteiras do desconhecido." – Autor desconhecido

## RESUMO

FARIAS, S. V. F. **Efeitos da cafeína e do bloqueio de receptores A<sub>2A</sub> na memória e no comportamento tipo depressivo em ratas adolescentes após exposição ao etanol.** 2024, 71 f, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Pará, 2024.

O álcool é uma das drogas psicoativas mais consumidas no mundo. O consumo dessa substância está relacionado a diversas complicações de saúde física e mental. Além disso o álcool pode afetar de forma negativa o desenvolvimento cognitivo, social e emocional, especialmente em populações vulneráveis, como os adolescentes. Estudos mostram que a exposição ao álcool durante a adolescência pode gerar prejuízos de memória, aprendizagem e atenção, além de aumentar o risco de desenvolver sintomas depressivos. A cafeína, um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina, pode atenuar alguns dos efeitos negativos do álcool no cérebro, como a neuroinflamação, neurodegeneração, neurotoxicidade, os déficits cognitivos e os transtornos do humor. Assim, o presente estudo investigou os efeitos da cafeína na memória e no comportamento tipo depressivo em ratas adolescentes após exposição ao etanol. Para mimetizar um consumo recreacional de final de semana, ratos Wistar fêmeas adolescentes (n=40, n=10 animais/grupo) receberam, por gavagem, etanol ou água destilada (3g/kg/dia) no padrão *binge* (3 days on e 4 days off) e cafeína (10mg/kg/dia) diariamente após o primeiro ciclo de *binge*. Vinte e quatro horas após a última administração, os animais foram submetidos aos testes comportamentais de reconhecimento social, *splash test* e nado forçado. O consumo do etanol mostrou prejuízos na memória de reconhecimento e também em comportamentos com fenótipos depressivos, além de diminuir as concentrações de monoaminas no estriado. O uso da cafeína atenuou os danos causados pelo etanol na memória e em comportamentos do tipo depressivo e aumentou os níveis de 5-HT.

**Palavras-chave:** Etanol, Cafeína, Memória, Depressão.

## ABSTRACT

FARIAS, S. V. F. **Effects of caffeine and A<sub>2A</sub> receptor blockade on memory and depressive-like behavior in adolescent rats after exposure to ethanol.** 2024, 71 f, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Pará, 2024.

Alcohol is one of the most widely consumed psychoactive drugs in the world. The consumption of this substance is associated with several physical and mental health complications. Furthermore, alcohol can negatively affect cognitive, social and emotional development, especially in vulnerable populations, such as adolescents. Studies show that exposure to alcohol during adolescence can lead to memory, learning and attention deficits, in addition to increasing the risk of developing depressive symptoms. Caffeine, a non-selective adenosine receptor antagonist, can mitigate some of the negative effects of alcohol on the brain, such as neuroinflammation, neurodegeneration, neurotoxicity, cognitive deficits and mood disorders. Thus, the present study investigated the effects of caffeine on memory and depressive-like behavior in adolescent rats after exposure to ethanol. To mimic weekend recreational drinking, adolescent female Wistar rats (n=40, n=10 animals/group) received, by gavage, ethanol or distilled water (3g/kg/day) in a binge pattern (3 days on and 4 days off) and caffeine (10mg/kg/day) daily after the first binge cycle. Twenty-four hours after the last administration, the animals were subjected to behavioral tests of social recognition, splash test and forced swim. Ethanol consumption showed impairments in recognition memory and also in behaviors with depressive phenotypes, in addition to decreasing monoamine concentrations in the striatum. Caffeine use attenuated the damage caused by ethanol in memory and in depressive-like behaviors and increased 5-HT levels.

**Keywords:** Ethanol, Caffeine, Memory, Depression.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Forma estrutural do etanol.....	16
<b>Figura 2</b> – Consumo de álcool no Brasil.....	18
<b>Figura 3</b> – Vias de metabolismo do etanol.....	21
<b>Figura 4</b> – Principais mecanismos do álcool no SNC.....	22
<b>Figura 5</b> – Principais estruturas do SNC relacionados a memória.....	24
<b>Figura 6</b> – Principais teorias da depressão.....	28
<b>Figura 7</b> – Representação esquemática da molécula de cafeína.....	32
<b>Figura 8</b> – Relação do sistema adenosinérgico e álcool.....	35
<b>Figura 9</b> – Esquema de tratamento experimental com etanol e cafeína.....	38
<b>Figura 10</b> – Representação do teste de reconhecimento social.....	39
<b>Figura 11</b> – Representação do <i>splash test</i> .....	40
<b>Figura 12</b> – Representação do nado forçado.....	41
<b>Figura 13</b> – Efeitos da cafeína após <i>binge drinking</i> etanol sobre a memória social avaliada pelo teste de reconhecimento facial.....	48
<b>Figura 14</b> - Efeitos da cafeína após <i>binge drinking</i> etanol sobre o comportamento do tipo anedônico avaliado pelo <i>splash test</i> .....	48
<b>Figura 15</b> - Efeitos da cafeína após <i>binge drinking</i> etanol sobre o comportamento do tipo depressivo avaliado pelo teste do nado forçado.....	49
<b>Figura 16</b> - Efeitos da cafeína após <i>binge drinking</i> etanol sobre as concentrações de monoaminas no estriado.....	50

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Descrição dos grupos experimentais.....	39
---	----

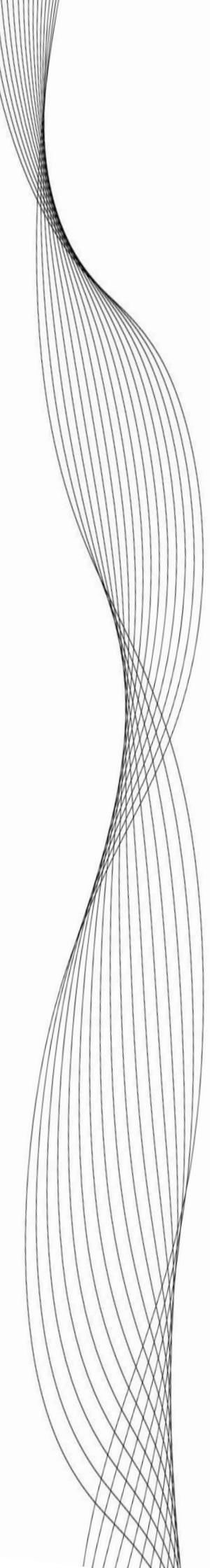
## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACETIL-COA	Acetilcoenzima A
ADH	Álcool desidrogenase
ALDH	Aldeído desidrogenase
BD	Binge drinking
BNDF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CAF	Cafeína
DA	Dopamina
CYP2E1	Citocromo P450 2E1
DPN	Ratas fêmeas adolescentes pós-natais
ENT1	Transportador de nucleosídico equilibrativo tipo 1
ETOH	Etanol
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GLU	Glutamato
H	Hidrogênio
HPA	Hipotálamo-pituitária-adrenal
LTD	Depressão de longa duração
LTP	Potenciação de longa duração
MAO	Monoamina Oxidase
MGLU	Receptores metabotrópicos de glutamato
NIAAA	Instituto Nacional de Abuso de Álcool e Alcoolismo
NMDA	N-metilo-D-aspartato
NE	Noraepinefrina
O	Oxigênio
OH	Hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
SNC	Sistema Nervoso Central
VD	Volume de distribuição
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
5-HT	Serotonina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
1.1 Etanol: considerações gerais.....	15
1.2 Farmacocinética do etanol.....	19
1.3 Prejuízos do etanol no SNC .....	21
1.3.1 MEMÓRIA .....	23
1.3.2 DEPRESSÃO .....	27
<b>1.4 Alternativas terapêuticas</b> .....	<b>31</b>
1.4.1 CAFEÍNA.....	31
1.4.2 SISTEMA ADENOSINÉRGICO.....	33
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>37</b>
2.1 Objetivo geral .....	37
2.2 Objetivo específico .....	37
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>39</b>
3.1 Animais e grupos experimentais.....	39
3.2 Protocolo experimental .....	39
3.3 Ensaio comportamentais .....	40
3.3.1 TESTE DO RECONHECIMENTO SOCIAL.....	40
3.3.2 <i>SPLASH TEST</i> .....	41
3.3.3 NADO FORÇADO .....	42
3.4 Avaliação dos da concentração de monoaminas.....	43
3.5 Análise estatística.....	43
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>46</b>
4.1 Testes comportamentais .....	46
4.1.1 A CAFEÍNA DE LONGO-PRAZO MELHORA A MEMÓRIA SOCIAL APÓS <i>BINGE DRINKING</i> ETANOL.....	46
4.1.2 A CAFEÍNA DE LONGO-PRAZO DIMINUI ANEDONIA APÓS <i>BINGE DRINKING</i> ETANOL.....	47

4.1.3 A CAFEÍNA DE LONGO-PRAZO REDUZ O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO APÓS <i>BINGE DRINKING</i> ETANOL .....	48
4.2 A CONCENTRAÇÃO DE DA, NE E 5-HT NO ESTRIADO SÃO PREJUDICADAS NOS ANIMAIS INTOXICADOS COM ETANOL. PORÉM, A CAFEÍNA CONSEGUE MELHORAR APENAS OS NÍVEIS DE 5-HT.....	51
<b>5 DISCUSSÃO PRELIMINAR .....</b>	<b>52</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEUA.....</b>	<b>69</b>



---

## INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

O álcool é uma das drogas psicoativas mais consumidas no mundo, sendo responsável por cerca de 5,3% de todas as mortes e 5,1% de toda a carga global de doenças e lesões em 2016 (OMS, 2018). O consumo de álcool está relacionado a diversas complicações de saúde física e mental, como doenças cardiovasculares, hepáticas, neurológicas, transtornos do humor, ansiedade, dependência e demência (REHM et al., 2017). Além do mais, essa droga pode afetar de forma negativa o desenvolvimento cognitivo, social e emocional, especialmente em populações vulneráveis, como os adolescentes (SPEAR, 2018).

A adolescência é um período crítico para o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), caracterizado por intensas mudanças na estrutura e funções cerebrais (BLAKEMORE e CHOUDHURY, 2006). Nesse contexto, o consumo de álcool pode afetar os processos de neuroplasticidade e neurogênese, modificando a formação e a consolidação das memórias, assim como a regulação das emoções e dos impulsos (CREWS et al., 2016). Estudos mostraram que a exposição ao álcool durante essa fase pode gerar prejuízos de memória, aprendizagem e atenção, além de aumentar o risco de desenvolver sintomas depressivos e transtornos do humor na vida adulta (BROWN; TAPERT, 2004; VETRENO; CREWS, 2012).

Para tratar os prejuízos do álcool no SNC, uma das alternativas possíveis é o uso de fármacos que alteram os sistemas neurotransmissores que reagem ao álcool. Um desses sistemas é o adenosinérgico, que envolve a liberação de adenosina, um nucleosídeo que modula os neurônios, e a ativação de seus receptores, chamados A1, A2A, A2B e A3 (FREDHOLM et al., 2011). A adenosina é importante para regular o sono, a temperatura do corpo, a pressão sanguínea, o ritmo cardíaco, a respiração, a proteção dos neurônios, a cognição e o humor (BOISON, 2016).

O sistema adenosinérgico é afetado pelo álcool de várias maneiras, como pelo aumento da liberação de adenosina, pela mudança na expressão e na reatividade dos receptores, e pela regulação da atividade de enzimas que degradam a adenosina (NAM et al., 2013). Essas mudanças podem estar relacionadas aos efeitos agudos e crônicos do álcool no cérebro, como a sonolência, a tolerância, a dependência, a abstinência, a inflamação dos neurônios, a degeneração dos neurônios, a toxicidade dos neurônios, os problemas cognitivos e os distúrbios do humor (CUNHA, 2016).

A cafeína é um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina, sendo capaz de bloquear a ação da adenosina em seus subtipos de receptores (FREDHOLM *et al.*, 2011). Essa substância apresenta ação farmacológica nos receptores adenosinérgicos A1 e A2A restritos ao SNC (FREDHOLM *et al.*, 1999). A cafeína é a substância psicoestimulante mais consumida no mundo, sendo encontrada em bebidas como café, chás, refrigerantes e energéticos, além de medicamentos e suplementos (NEHLIG, 2016). A cafeína tem efeitos benéficos sobre a atenção, a vigilância, a memória, o humor, a motivação, a performance física e mental, e a prevenção de doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (NEHLIG, 2016). Além disso, a cafeína também pode atenuar alguns dos efeitos negativos do álcool no cérebro, como neuroinflamação, neurodegeneração, neurotoxicidade, déficits cognitivos e transtornos do humor (CUNHA, 2016).

Diante do exposto, o presente trabalho pretende investigar os efeitos da cafeína na memória e no comportamento do tipo depressivo em ratas adolescentes após exposição ao etanol no padrão *binge-like*. Espera-se que os resultados deste estudo possam contribuir para o avanço do conhecimento sobre os mecanismos envolvidos nos efeitos do álcool e da cafeína no cérebro, bem como para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para os problemas relacionados ao consumo de álcool.

### **1.1 Etanol: considerações gerais**

O consumo ocasional ou crônico de álcool, também conhecido como etanol, é uma prática que remonta a milhares de anos. Registros indicam que os primeiros vestígios do consumo de etanol pelo ser humano datam de aproximadamente 10.000 anos a.C. (HANSON, 1995). Nessa época, o etanol era obtido por meio da fermentação natural de produtos vegetais ricos em açúcar, como frutas, néctar e seiva (BORLINA *et al.*, 2022)

O etanol, ou álcool etílico, substância amplamente consumida em todo o mundo, é um composto orgânico pertencente à família dos álcoois. A característica distintiva do etanol é a presença da hidroxila (OH), que consiste em um átomo de oxigênio (O) ligado a um átomo de hidrogênio (H). Essa hidroxila confere ao etanol sua natureza polar, permitindo que a substância se dissolva facilmente em água e manifeste outras propriedades químicas específicas (BORLINA *et al.*, 2022; MARTIN *et al.*, 2014).

Sendo assim, sua fórmula molecular é representada por  $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{OH}$  ou  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$  e sua estruturação pode ser representada na Figura 1.

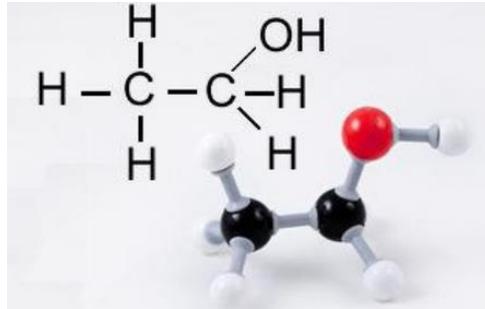


Figura 1 – Forma estrutural do etanol

Fonte: Borlina et al., (2022)

Seu consumo na forma de bebidas alcoólicas tem raízes profundas na história, muitas vezes associado a contextos sociais, culturais e rituais. Desde as festas populares até as celebrações familiares, as bebidas alcoólicas desempenham um papel significativo. A cerveja, por exemplo, é frequentemente associada aos momentos de descontração e alegria, sendo a bebida alcoólica mais consumida no país. No entanto, atualmente, as comunidades em todo o mundo registram os riscos associados ao consumo excessivo de álcool, sendo a dependência e/ou o uso abusivo desta substância considerada um dos problemas de saúde pública mais sérios na atualidade (FERREIRA et al., 2022).

Segundo informações do Instituto Nacional de Abuso de Álcool e Alcoolismo (NIAAA) (2004), esse consumo excessivo de álcool é definido quando a concentração de álcool no sangue atinge aproximadamente 0,08%, equivalente à ingestão de quatro doses para mulheres e cinco para homens em um período de duas horas.

Conforme dados do Relatório Global sobre Álcool e Saúde 2018 da Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente metade da população global com 15 anos ou mais (44,5%) nunca consumiu álcool, enquanto cerca de 43% são bebedores atuais, que consumiram álcool nos últimos 12 meses. A média de consumo per capita mundial foi registrada em 6,4 litros de álcool puro (OMS, 2018).

Dados do Ministério da Saúde de uma pesquisa feita em 2019, fornecem uma visão sobre o consumo de bebidas alcoólicas em diferentes grupos demográficos e ocasiões no Brasil. Cerca de 59,6% dos homens afirmam ter experimentado álcool em algum momento de suas vidas, destacando uma tendência relevante. Além disso,

chama a atenção o fato de que, na faixa etária de 13 a 15 anos, a proporção de homens que já experimentaram álcool atinge expressivos 75,5%, ressaltando a precocidade desse início (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

No grupo feminino, 66,9% indicam ter consumido álcool em alguma ocasião, mostrando uma prevalência considerável entre as mulheres. Esse cenário torna-se ainda mais pronunciado entre as mulheres de 16 a 17 anos, com 78,1% relatando terem experimentado álcool. Esses números apontam para uma diferença notável entre as faixas etárias e sexos, sugerindo que o consumo de álcool começa cedo em ambos os grupos, mas as taxas podem variar significativamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Os dados da mesma pesquisa também revelam que a ocasião principal para o consumo da substância ocorre em festas, com 29,2% dos participantes indicando que esse ambiente é propício ao consumo de álcool. Esse dado ressalta a associação do álcool com celebrações e eventos sociais, onde a oferta e a aceitação da bebida são mais comuns (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Em segundo lugar, encontros sociais com amigos também desempenham um papel significativo, com 17,7% dos respondentes relatando que consomem álcool nesse contexto. Essa dinâmica reflete a influência do grupo social na decisão de consumir bebidas alcoólicas, muitas vezes como parte integrante das interações sociais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Segundo o relatório de 2023 do Levantamento de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira, foi registrado um incremento na taxa de 18,4% para 20,8% entre os anos de 2021 e 2023. No segmento masculino, esse aumento foi de 25% para 27,3%, enquanto entre as mulheres foi de 12,7% para 15,2%. A Figura 2 ilustra os dados de 2021 e 2023, incluindo informações de 2010. Ao comparar os anos de 2010 e 2023, é evidente um aumento substancial no consumo abusivo entre as mulheres, enquanto entre os homens observa-se estabilidade. O crescimento do consumo entre as mulheres contribui para o aumento geral ao longo do período, demandando atenção especial.

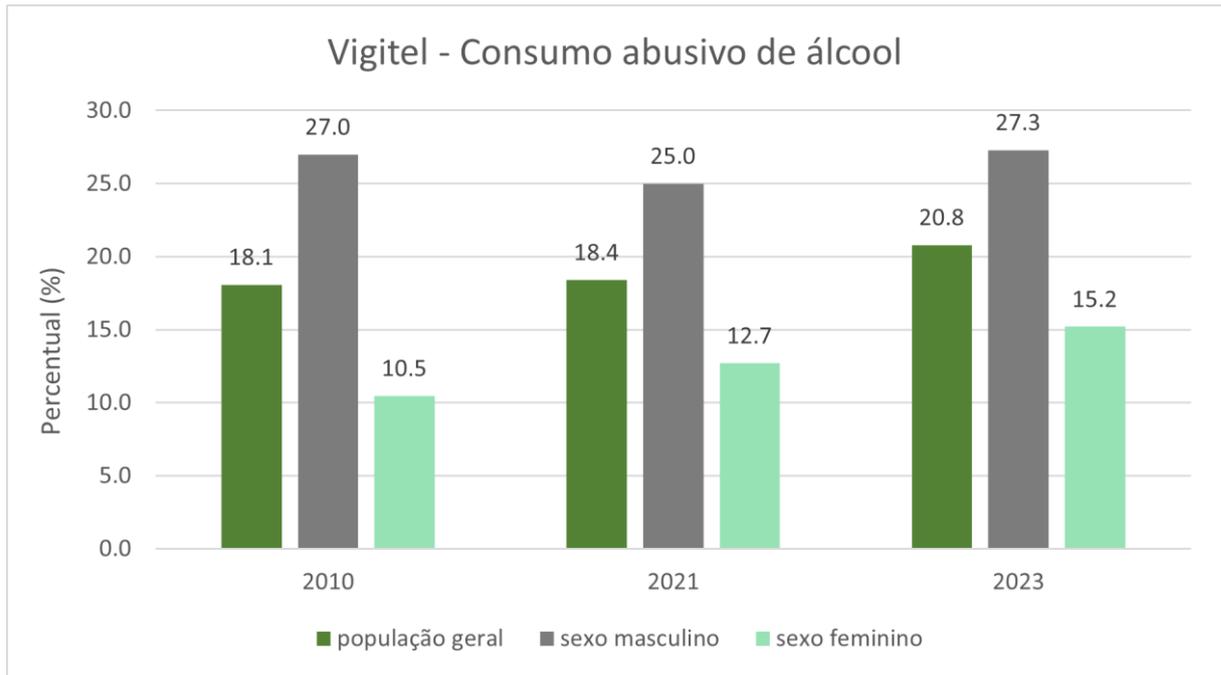


Figura 2 – Consumo de álcool no Brasil.

Fonte: CISA adaptado de VIGITEL 2023.

Além disso, é relevante mencionar uma pesquisa conduzida pela Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas, a qual abordou jovens do ensino médio e fundamental. Os resultados indicam que 65,2% dos entrevistados afirmaram ter consumido álcool pelo menos uma vez na vida, com uma média de idade de 12,5 anos para o primeiro consumo (BRASIL, 2007).

É importante ressaltar que a gravidade das consequências do consumo de álcool está diretamente relacionada à frequência e à quantidade ingerida. Um padrão de consumo de risco que tem ganhado destaque internacional e, somente recentemente, começou a ser explorado no Brasil, é conhecido como *binge drinking* (SANCHEZ, 2017). Essa prática envolve o consumo de várias doses de bebida alcoólica em uma única ocasião, resultando em uma elevação rápida e significativa da concentração de álcool no sangue (MEDEIROS et al., 2023),

Sobre sua definição, este padrão é tipicamente definido pelo consumo de pelo menos quatro doses de álcool em uma única ocasião, no caso de mulheres, e cinco doses para homens. Isso resulta em uma concentração de etanol no sangue de 0,08% ou mais (SANCHEZ, 2017).

Os adolescentes são frequentemente mais propensos a se envolverem no *binge drinking*, especialmente durante eventos sociais e festas. De acordo com

estudos, constata-se que no Brasil, 32% dos estudantes entre 14 e 18 anos afirmaram ter praticado *binge drinking* em 2019. Nos Estados Unidos, o *binge drinking* já foi identificado como responsável por aproximadamente 90% do consumo de álcool entre menores de idade. Considerando que os adolescentes estão em uma fase crucial de desenvolvimento cerebral, o consumo de álcool nessa faixa etária pode resultar em sérias consequências (CONEGUNDES et al., 2020; WESTBROOK et al., 2018).

Ainda sobre seus efeitos, os estudos mostram como efeitos imediatos, a perda de coordenação motora, diminuição da função cognitiva, aumento do risco de acidentes e ferimentos, bem como o potencial para comportamentos impulsivos e destrutivos. Além disso, o *binge drinking* está vinculado a um maior risco de desenvolvimento de dependência alcoólica e pode contribuir para o surgimento de problemas de saúde mental, como a depressão e a ansiedade (MEDEIROS et al., 2023).

## 1.2 Farmacocinética do etanol

O álcool apresenta uma completa miscibilidade com a água, apesar de possuir um peso molecular inferior ao desta última (46,0634 daltons), e é caracterizado por sua volatilidade, com um ponto de ebulição a 78,5°C (GOULLÉ E GUERBET, 2015). Essa substância é predominantemente administrada por via oral (MARTIN, 2014).

A absorção do álcool ocorre em todo o trato gastrointestinal, especialmente eficaz na primeira parte do intestino delgado, o duodeno. A substância é absorvida através da difusão passiva, dependendo do gradiente de concentração, resultando em níveis máximos de álcool no sangue após uma única ingestão de alta concentração alcoólica (DUBOWSKI, 1985). A taxa de absorção supera sua taxa de eliminação, tornando a quantidade e a velocidade de absorção fundamentais para a concentração da substância no sangue (MITCHELL et al., 2014).

Nesse contexto, diversos fatores como a presença ou ausência de alimentos, o tempo de esvaziamento gástrico e a quantidade de álcool ingerida desempenham papéis cruciais na velocidade de absorção do etanol (CEDERBAUM, 2012). A cinética de absorção é mais lenta durante a ingestão de refeições sólidas (RAMCHANDANI, KWO e LI, 2001). Além disso, alguns medicamentos podem alterar a motilidade gastrointestinal, influenciando a farmacocinética do álcool (GOULLÉ e GUERBET, 2015).

O processo de distribuição do álcool depende de fatores como o conteúdo de água nos tecidos, a massa e a taxa de fluxo sanguíneo. O álcool possui alta capacidade de atravessar membranas biológicas e não se liga às proteínas plasmáticas, resultando em um baixo volume de distribuição (Vd) que não inclui tecidos adiposos ou ossos. Essa característica explica as variações nas concentrações da substância com base na idade, sexo e peso corporal (GOULLE e LACROIX, 2000).

Notavelmente, as mulheres apresentam um Vd menor que os homens devido à maior quantidade de tecido adiposo e diferenças no peso corporal, o que significa que, ao receberem a mesma dose de álcool por kg de peso corporal, as mulheres possuem uma tendência maior a alcançar níveis mais elevados da substância (MARSHALL et al., 2007).

O metabolismo do álcool (figura 3) ocorre principalmente no fígado, envolvendo três mecanismos de metabolização: álcool desidrogenase (ADH), catalase e a via citocromo P450 2E1 (CYP2E1). Todos esses mecanismos convergem na produção de acetaldeído, um metabólito tóxico do etanol (FERNANDES et al., 2017). O metabolismo de primeira passagem do etanol é realizado pelas isoformas do ADH, como,  $\alpha$ ADH, ADH classe I e classe III, sendo essas enzimas capazes de modular a biodisponibilidade do álcool (GOULLE E LACROIX, 2000).

A biotransformação de primeira passagem é diminuída em indivíduos alcoolistas, uma vez que ocorre a diminuição da atividade do ADH (GOULLE E LACROIX, 2000). Os genes ADH humanos tem sua expressão de maneira diferente em cada tecido, o que corrobora para o metabolismo fisiológico do álcool, o polimorfismo de subunidades do ADH variam em diferentes grupos raciais, sendo capaz de variar sua a intensidade de metabolização (RAMCHANDANI, KWO e LI, 2001).

A enzima aldeído desidrogenase (ALDH) converte o acetaldeído em acetato, que é posteriormente oxidado nos tecidos periféricos, formando acetilcoenzima A (acetil-CoA) (CEDERBAUM, 2012; GOULLE E LACROIX, 2000).

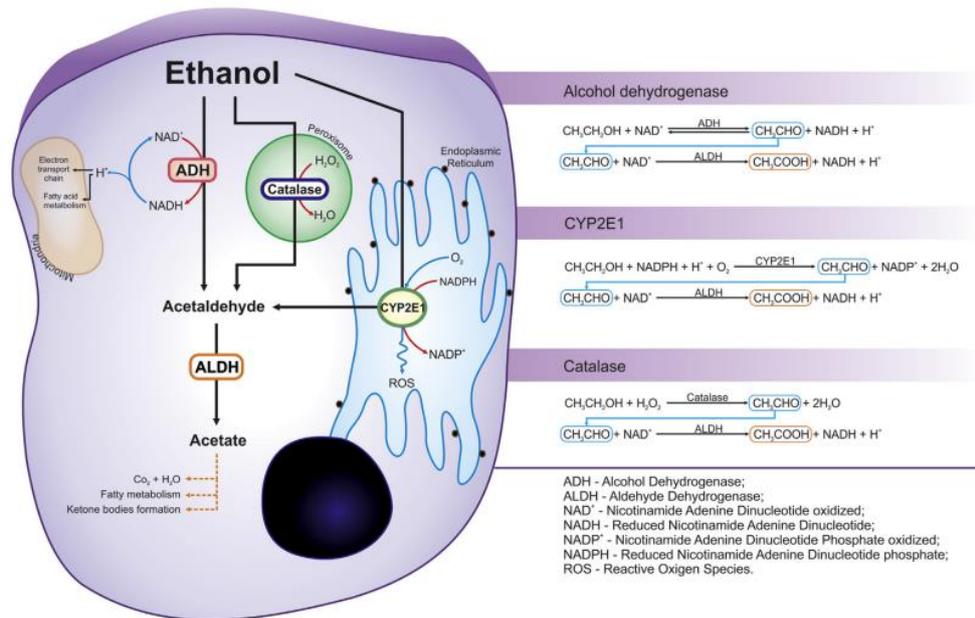


Figura 3: Vias de metabolismo do etanol.

Fonte: Fernandes et al., 2017

A biotransformação do álcool através de enzimas microsossomais, como o CYP2E1, ocorre de forma inespecífica e pode ser influenciada por polimorfismos genéticos e a interação com substâncias e medicamentos. Essa via é particularmente induzida em alcoolistas crônicos e em casos de alcoolismo agudo, resultando na produção de radicais livres, peroxidação lipídica, desnaturação enzimática e mutação do DNA nuclear (LIEBER, 1999; OSTROWSKA et al., 2004).

A catalase, uma hemoproteína localizada nos peroxissomos, desempenha um papel coadjuvante na oxidação do etanol, exceto em casos de alcoolismo crônico. Sua ativação depende da quantidade de peróxido de hidrogênio produzido por reações intermediárias (GOULLE e LACROIX, 2000).

### 1.3 Prejuízos do etanol na memória e na depressão

O consumo de etanol, presente em bebidas alcoólicas tem sido associado a uma série de impactos negativos no SNC, afetando diversas funções cognitivas e neurocomportamentais (HAES et al., 2010). O etanol, como substância psicotrópica depressora do SNC, exerce influência simultânea em diversas vias neuronais, resultando em um impacto neurológico significativo e manifestando-se por diversas alterações biológicas e comportamentais (MARIANO; CHASIN, 2019).

A atuação do álcool no SNC ocorre através de diversos mecanismos complexos. O etanol também atua inibindo os canais de  $\text{Ca}^{2+}$  e abrindo os canais de  $\text{K}^+$ , o que corrobora para a atuação de diversos neurotransmissores no SNC (VENGELIENE et al., 2009). Além disso, tem a capacidade de movimentar-se livremente através da bicamada lipídica e, quando presente em quantidades elevadas, torna-se capaz de alterar a composição desta membrana (WITT, 2010).

O álcool possui diversos efeitos neurotóxicos, porém os danos relacionados à memória e a emocionalidade são os mais destacados, com hipótese associada à neuroinflamação e estresse oxidativo (MCCLAIN et al., 2013). Como principais vias afetadas pela ingestão de etanol, tem-se a via gabaérgica e glutamatérgica, além de também gerar disfunção nos sistemas dopaminérgicos e serotoninérgicos, como mostra a Figura 4 (KOBAYASHI et al., 2022).

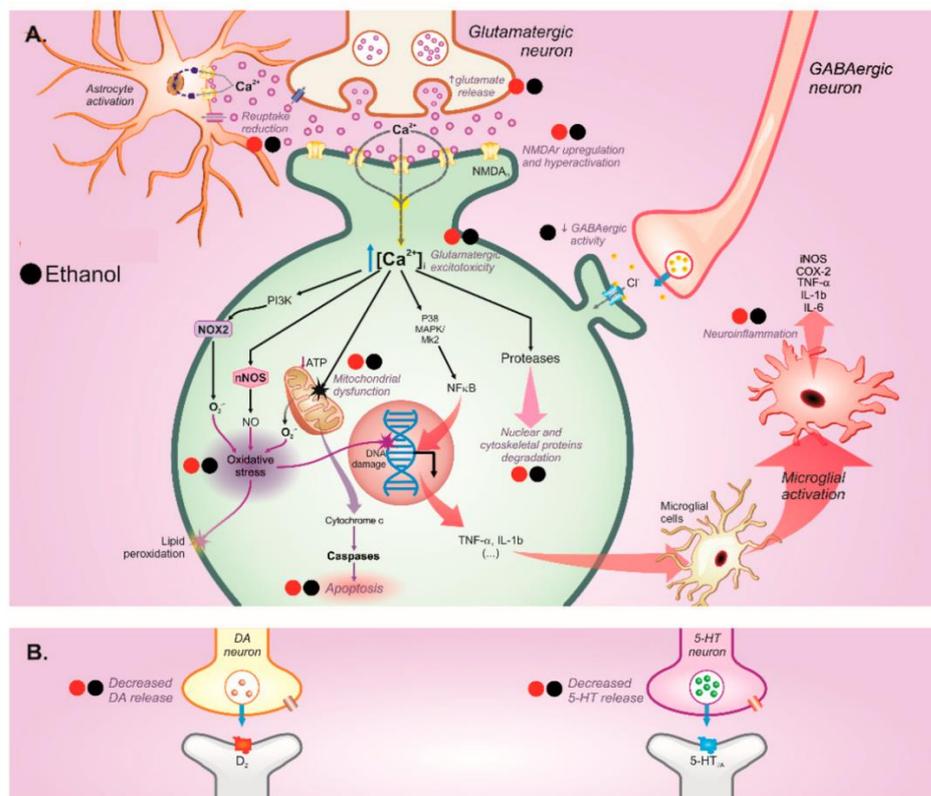


Figura 4. Principais mecanismos do álcool no SNC

Fonte: Kobayashi et al., (2022)

Nesse sentido, o etanol produz modulação alostérica positiva sobre os receptores GABAérgicos. Assim, em casos de consumo agudo de álcool ocorre o aumento da liberação de Ácido gama-aminobutírico (GABA) na fenda sináptica, na

qual tem-se a potenciação do efeito do receptor GABAA, que, por possuir caráter inibitório, contribui para efeitos neurocomportamentais como sedação, disfunção cognitiva, ataxia e problemas na coordenação motora (FERNANDES et al., 2017; VENGELIENE et al., 2009). Ademais, na ingestão crônica observa-se a diminuição de GABA na fenda sináptica, ocasionando um *downregulation* dos receptores GABAa do neurônio pós-sináptico (FERNANDES et al., 2017).

Além disso, o álcool também modula a ação do neurotransmissor excitatório glutamato (Glu) através do antagonismo alostérico (FERNANDES et al., 2017). O mecanismo de modulação do Glu, em situações de consumo agudo se dá através da redução do neurotransmissor no neurônio pré-sináptico, que acarreta na inibição de receptores glutamatérgicos, especialmente os receptores N-metilo-D-aspartato (NMDA), os quais são essenciais para funções cognitivas e comportamentais relacionadas à ansiedade, aprendizagem e memória (MÖYKKYENEN; KORPI, 2012). Em contrapartida, o uso crônico de etanol provoca o aumento da liberação de Glu, ocasionando a *upregulation* dos receptores NMDA, indução dos receptores de  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico (AMPA) e potenciação dos receptores metabotrópicos de glutamato (mGlu), aumentando a vulnerabilidade neuronal (CASILLAS-ESPINOSA; POWELL; O'BRIEN, 2012).

Outrossim, o álcool também possui outros mecanismos de modulação, atuando no circuito recompensatório, aumentando a liberação de dopamina, o que acarreta na sensação de prazer ao ingerir bebidas alcoólicas, corroborando para o aumento do consumo. Todavia, em casos de abstinência da droga, as taxas de dopamina são reduzidas contribuindo para episódios de recaída (FERNANDES et al., 2017; VENGELIENE et al., 2009). Nesse contexto, a via serotoninérgica também é afetada pelo consumo de bebidas alcoólicas (VENGELIENE et al., 2009).

### 1.3.1 MEMÓRIA

A memória pode ser descrita como a habilidade de adquirir, armazenar, conservar e recuperar informações. Este processo envolve a coleta de dados ao longo da vida, através de experiências variadas, e a interação entre lembranças e esquecimentos, criando o que chamamos de memórias. Esse acúmulo de memórias contribui para a formação da identidade do indivíduo, sua personalidade e influencia seu comportamento. A fase de aquisição é sinônimo de aprendizado, porém, a fixação das memórias não ocorre imediatamente após sua aquisição. É necessário o

envolvimento de redes neuronais complexas e atividades metabólicas para a formação da memória, um processo conhecido como consolidação. A recuperação ou evocação de memórias consolidadas pode ocorrer em diferentes momentos, sendo que algumas memórias são mantidas por curtos períodos, enquanto outras permanecem por tempos mais extensos, dependendo da eficácia do processo de consolidação (IZQUIERDO, 2018; PEREIRA et al., 2019).

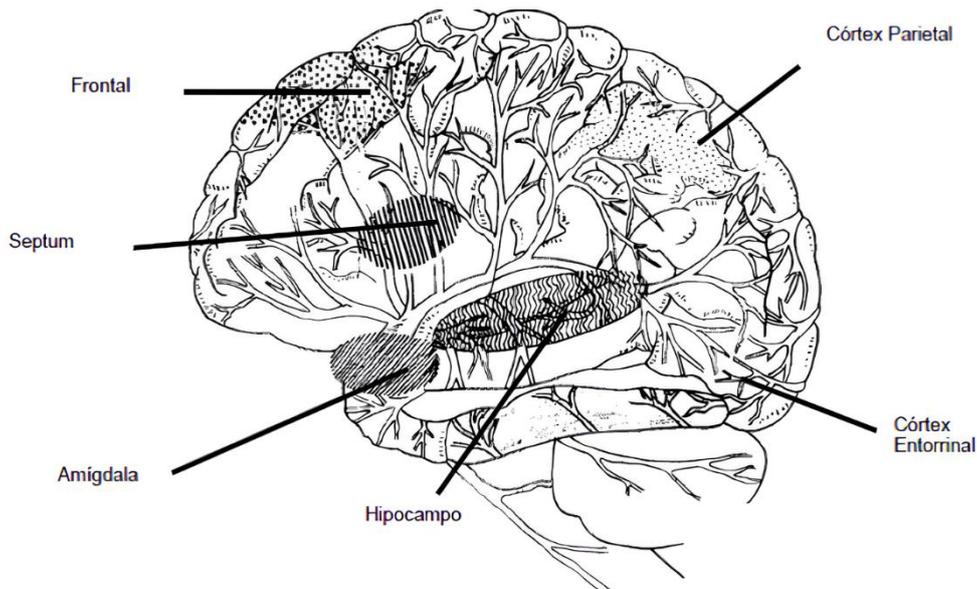


Figura 5. Principais estruturas do SNC relacionados a memória.

Fonte: Izquierdo (2022).

Existem diversas categorias de memória, que podem ser formadas em instantes, ao longo de dias ou anos, e se manifestam de maneiras variadas, como por meio de estímulos visuais ou olfativos, despertando sentimentos de prazer ou medo (WIRT; HYMAN, 2019). Tais memórias são processadas por mecanismos neurais distintos. A classificação das memórias é realizada considerando suas funções, o tipo de conteúdo que armazenam e o período de duração (IZQUIERDO, 2018).

A memória de trabalho, definida por sua natureza fugaz, desempenha um papel crucial no gerenciamento da realidade e a sequência das informações recebidas. Tal capacidade é fundamental para reconhecer o próprio posicionamento, as ações em andamento ou aquelas já realizadas, facilitando assim a continuação de tarefas e atos (MILLER; COHEN, 2001). Esta memória ocorre principalmente no córtex pré-frontal, bem como nas regiões antero-lateral e orbital-frontal, estabelecendo conexões com o hipocampo e a amígdala por meio do córtex entorrinal (figura 5). Sua funcionalidade

depende da atividade elétrica neuronal, distinguindo-se por não acarretar mudanças bioquímicas, o que explica sua efemeridade (JONES; WILSON, 2005; IZQUIERDO, 2018). A acetilcolina e a dopamina são os neurotransmissores primordiais na modulação da memória de trabalho, interagindo respectivamente com os receptores muscarínicos e os do tipo D1 (IZQUIERDO, 2018).

A memória declarativa recebe esse nome pois os humanos podem declará-la verbalmente. Essa memória é subdividida em episódicas ou autobiográfica, que são eventos e fatos que o indivíduo assiste, ouve, participa ou lê; e memórias semânticas que são memórias de conhecimentos gerais como por exemplo português, química entre outras. (IZQUIERDO, 2018). As principais regiões responsáveis pela memória declarativa são hipocampo e córtex entorrinal associados entre si e com o córtex cingulado, córtex parietal e com os núcleos basal e lateral da amígdala (figura 5) (EICHENBAUM, 2001). A amígdala também armazena memórias, principalmente as de cunho emocional, e modula a formação de memórias declarativas juntamente com as regiões reguladoras do estado de ânimo, de alerta, da ansiedade e das emoções localizadas na substância negra, núcleos da rafe e núcleo basal de Meynert. Os neurônios destas estruturas liberam para as áreas responsáveis pela memória declarativa neurotransmissores como dopamina, serotonina noradrenalina e acetilcolina respectivamente (IZQUIERDO, 2018).

A memória não declarativa é também conhecida como memória procedimental, essa forma de memória inclui ações rotineiras como tocar um instrumento, nadar ou dirigir, conhecidas popularmente como hábitos. A aquisição dessas memórias procedimentais acontece de maneira implícita e sem a consciência do indivíduo. Em casos de patologias de memória associadas a danos no hipocampo e nas estruturas do lobo temporal medial, observa-se um declínio significativo da memória explícita, enquanto a capacidade de reter memórias implícitas permanece inalterada. Isso evidencia que as memórias implícitas possuem uma base neurobiológica distinta das memórias declarativas. As principais regiões cerebrais envolvidas no processo das memórias procedimentais incluem o núcleo caudado, que é influenciado por neurônios provenientes da substância negra, e o cerebelo. Estas áreas são relativamente insensíveis às variações emocionais ou mudanças no humor do indivíduo. A influência predominante sobre essas memórias é exercida pela substância negra, que desempenha um papel crucial nas funções motoras (IZQUIERDO, 2018).

A memória de curta duração é capaz de manter informações em atividade no cérebro durante um período limitado, variando de uma a seis horas. Esse período é comparável ao necessário para a consolidação da memória de longo prazo, que tem a capacidade de durar de meses a anos. As memórias que perduram por décadas são referidas como memórias remotas. Apesar de ambas as memórias utilizarem estruturas cerebrais parecidas, seus processos de consolidação ocorrem de forma paralela e independente. Os mecanismos eletrofisiológicos que dão suporte à formação da memória de longo prazo incluem a potencialização de longa duração (LTP) e a depressão de longa duração (LTD) (COOKE; BLISS, 2006; IZQUIERDO, 2018).

A potenciação de longo prazo (LTP) é caracterizada por um reforço da resposta pós-sináptica, impulsionada pelo glutamato (Glu), nos receptores alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA) e N-metil-D-aspartato (NMDA). Esse processo conduz à produção de proteínas ribossomais específicas, incluindo a quinase regulada por sinal extracelular (ERK) e a quinase dependente do AMP cíclico (PKA), as quais atuam fosforilando fatores de transcrição, tais como a proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP (CREB). CREB, por sua vez, influencia a transcrição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), essencial para a síntese de proteínas extrarribossomais nos dendritos. Por outro lado, a depressão de longo prazo (LTD) envolve ativações semelhantes de proteínas quinases, como a quinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) e a proteína quinase C (PKC), porém com intensidade e duração reduzidas. Na LTD, os receptores de Glu fosforilados são internalizados, sendo assim impedidos de ativar a membrana sináptica. Esses processos são fundamentais para a consolidação de memórias de longa duração (IZQUIERDO, 2018).

Já a memória social está relacionada à memória de reconhecimento, que permite aos indivíduos distinguir entre estímulos mais antigos e estímulos novos. Em roedores, essa capacidade é frequentemente avaliada por meio do paradigma intruso-residente, no qual um rato (residente) é exposto a encontros com um intruso jovem. Observa-se que, no segundo encontro com o mesmo rato mais jovem, há uma redução significativa nos comportamentos sociais do residente, indicando reconhecimento social. Áreas cerebrais como o hipocampo, a amígdala basolateral e o córtex pré-frontal medial estão envolvidas nesse tipo de memória. O estriado, por sua vez, participa da modulação dos comportamentos sociais associados à memória

de reconhecimento, influenciando a motivação e a execução de ações sociais apropriadas (MOURA E GILBERTO FERNANDO XAVIER, 2010).

Os processos de formação de memória podem ser afetados por uma variedade de fatores como o consumo de álcool (REHM et al., 2019). O álcool, afeta o SNC alterando a atividade de neurotransmissores específicos, como o GABA e o glutamato, que desempenham papéis fundamentais nos processos de aprendizagem e memória. Estas alterações químicas afetam diretamente o hipocampo, uma área do cérebro essencial para a formação de novas memórias. Estudos indicam que o consumo excessivo de álcool pode levar a danos neurais e a deficiências cognitivas, incluindo a dificuldade na formação de novas memórias e na recuperação de memórias de longo prazo (WHITE, 2003; ZEIGLER et al., 2005).

### 1.3.2 DEPRESSÃO

A depressão, é caracterizada como um transtorno depressivo maior, evidenciado por um conjunto de sintomas que afetam profundamente o indivíduo no dia-a-dia. Esses sintomas incluem, mas não se limitam, a uma sensação persistente de tristeza ou um estado de humor deprimido, perda de interesse ou prazer em atividades anteriormente consideradas agradáveis, alterações significativas no peso ou apetite, insônia ou hipersonia, fadiga ou perda de energia, sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva, dificuldade de concentração, e pensamentos recorrentes de morte ou suicídio. A etiologia do transtorno é multifatorial, envolvendo uma combinação complexa de fatores genéticos, bioquímicos, ambientais e psicológicos, o que torna seu tratamento um desafio (LEONARD; MAES, 2012; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Dentro do contexto neurobiológico, diversas áreas do cérebro estão implicadas na depressão, destacando-se o córtex pré-frontal, responsável pela regulação das emoções e tomada de decisões; o hipocampo, associado à memória e ao aprendizado, e que pode sofrer redução de volume em casos de depressão crônica; a amígdala, essencial no processamento de emoções; e o corpo estriado, envolvido na recompensa e motivação. A interação entre estas áreas, e como elas processam informações emocionais e cognitivas, é fundamental para a manifestação dos sintomas depressivos (PRICE; DREVETS, 2012).

Os neurotransmissores desempenham papel crucial na comunicação entre os neurônios nestas áreas, sendo as monoaminas as mais estudadas em relação à

depressão. A teoria das monoaminas é uma das mais antigas e sugere que a diminuição na função ou na quantidade desses neurotransmissores está na base dos sintomas depressivos (DELGADO, 2000). Com isso, alterações de disponibilidade de triptofano, níveis diminuídos de serotonina (5-HT), menor expressão de receptores de 5-HT, redução de norepinefrina (NE) e dopamina (DA) na fenda sináptica e a degradação de dessas monoaminas pelo Monoamina Oxidase (MAO) são relatados como causadores de sintomas depressivos, onde a regulação dessas modificações são mecanismos de ação de diversos fármacos antidepressivos (FERRARI; VILLA, 2017; DOS SANTOS et al, 2022).

Outras teorias são relatadas na tentativa de explicar a depressão sob diferentes óticas como demonstrado na figura 6. Dentre estas teorias são destacadas a teoria neurotrófica, a teoria de desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e teoria da neuroinflamação.

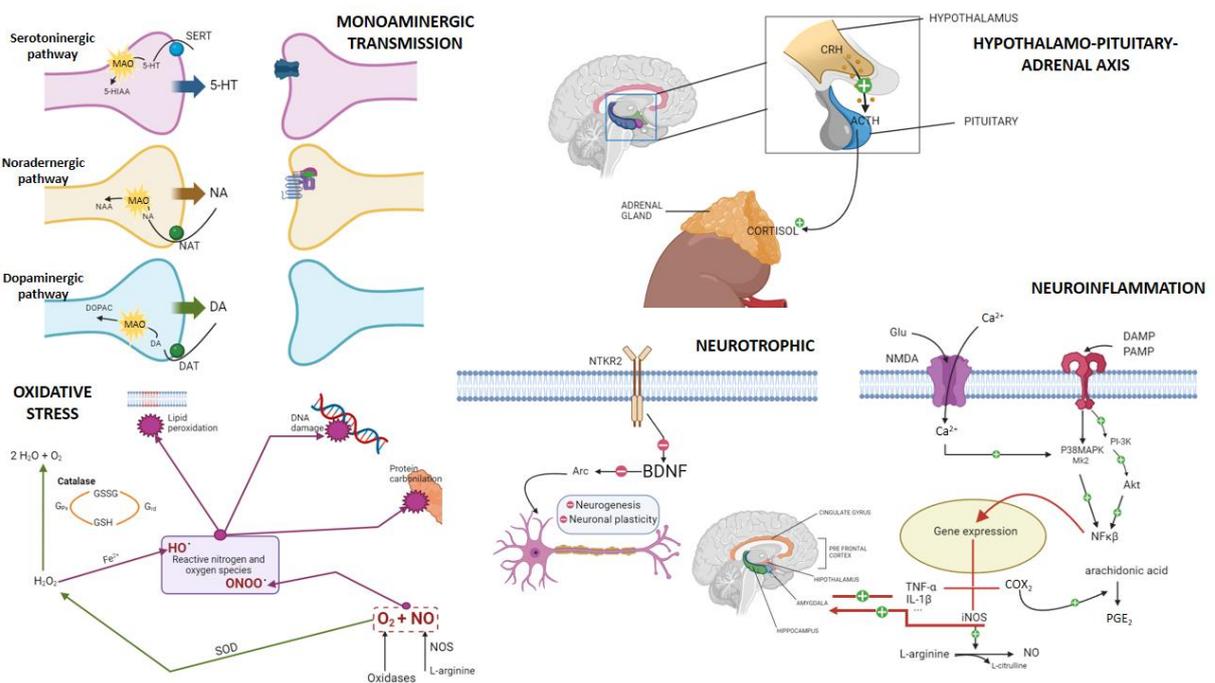


Figura 6. Principais teorias da depressão.

Fonte: Feito em Biorender.com Adaptado de dos Santos et al., (2022).

A teoria neurotrófica postula que a depressão resulta de uma perturbação no crescimento e na sobrevivência neuronal, particularmente através da diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (CASTREN e RANTAMAKI, 2010). O BDNF atua positivamente na neuroplasticidade e sobrevivência neuronal, sendo sua expressão regulada por estímulos como estresse e drogas psicotrópicas (FERRARI e VILLA, 2017; DOS SANTOS et al., 2022). A regulação negativa da expressão de

BDNF ocasiona atrofia dos neurônios, redução da neurogênese, perda glial e alterações na neurotransmissão em regiões relacionadas ao humor, consequentemente reproduzindo sintomas depressivos (DUMAN; LI, 2012; FERRARI; VILLA, 2017; DOS SANTOS et al., 2022).

Por sua vez, a disfunção no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), que regula a resposta ao estresse, também tem sido associada à depressão, sugerindo que a exposição crônica ao estresse pode desregular esse eixo e contribuir para o desenvolvimento do transtorno (PARIANTE; LIGHTMAN, 2008). Dessa forma, insuficiências do feedback negativo do eixo HPA, alterações dos níveis de liberador de corticotrofina (CRF), aumento de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), hipersecreção de cortisol e resistência de receptores glicocorticoides são observados em indivíduos depressivos, onde estas alterações são responsáveis por diversos sintomas como por exemplo culpa pessoal excessiva, diminuição do apetite e alterações sono (JESULOLA et al., 2018).

A teoria da neuroinflamação é mais uma hipótese complexa, a qual propõe que processos inflamatórios em regiões encefálicas podem influenciar negativamente o humor e a função cognitiva, contribuindo para os sintomas depressivos. (MILLER; RAISON, 2015). Há relatos na literatura que pacientes depressivos possuem aumento de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, interferon-gama e TNF $\alpha$  em regiões de regulação emocional como córtex pré-frontal, amígdala, hipocampo e ínsula (GRYGIEL-GÓRNIK et al., 2019; GUO et al., 2023). Ademais, a administração de citocinas e indutores de citocinas em ensaios clínicos e pré-clínicos reproduziu sintomas semelhantes aos da TDM, enfatizando a associação depressão e neuroinflamação (FERRARI; VILLA, 2017; JESULOLA et al., 2018).

Podendo ser relacionado a neuroinflamação, o estresse oxidativo é outro processo que parece estar envolvido na depressão, onde há altos níveis de espécies reativas e reduzidas concentrações de antioxidante no cérebro (DOS SANTOS et al., 2022). As espécies reativas em excesso desregulam vias relacionadas ao humor, através da oxidação de triptofano, diminuição de BDNF e neurogênese, hiperativação do eixo HPA e indução da neuroinflamação (CORREIA, CARDOSO; VALE, 2023). Além de que marcadores de estresse oxidativo como malonaldeído, óxido nítrico e 8-hidroxi-2'-desoxiguanosin são encontrados aumentados em níveis séricos de pessoas deprimidas (BHATT et al., 2020)

As alterações citadas e os transtornos depressivos podem ser desencadeados por diversas causas, incluindo o abuso de substâncias como etanol, opioides, sedativos, estimulantes e alucinógenos, sendo que os sintomas depressivos podem surgir durante ou imediatamente após a intoxicação ou a interrupção do uso dessas substâncias (PINHEIRO et al., 2022). Por ser o mais consumido mundialmente, o etanol é destacado, principalmente por sua relação complexa com sintomas depressivos, nesse sentido diversos estudos buscam evidenciar tanto os aspectos agudos quanto os efeitos a longo prazo do etanol sobre a depressão.

Estudos epidemiológicos destacam uma associação entre o consumo excessivo de álcool e o aumento da prevalência de transtornos depressivos (BODEN, FERGUSON; HORWOOD, 2014). Além disso, a literatura aponta a importância do efeito bidirecional entre o etanol e o sistema de resposta ao estresse. Nesse cenário, o consumo de álcool pode atuar como uma forma de automedicação para lidar com o estresse, um fator de risco significativo para a depressão. No entanto, o álcool também pode desencadear respostas fisiológicas que contribuem para a vulnerabilidade ao estresse, perpetuando um ciclo complexo entre álcool e depressão (PIAZZA; LE MOAL, 1998; BODEN, FERGUSON; HORWOOD, 2014).

Estudos longitudinais, como os revisados por Schuckit e Smith (2004), apontam para uma relação temporal entre o consumo crônico de álcool e o desenvolvimento de sintomas depressivos. A influência do etanol na regulação dos neurotransmissores e nos sistemas de recompensa do cérebro é destacada como um mecanismo potencial que liga o álcool à depressão ao longo do tempo (SCHUCKIT; SMITH, 2004).

Sendo um depressor do SNC, o etanol atua sobre diversas vias moleculares, podendo gerar sintomas depressivos (PINHEIRO et al., 2022). A atuação desta substância envolve alterações na liberação de neurotransmissores como dopamina, glutamato e GABA. Vale ressaltar que reduções significativas na dopamina no sistema de recompensa, ou no recrutamento adequado de neurotransmissores, desempenham um papel fundamental na progressão do reforço negativo, resultando em neuroadaptações associadas à neuroinflamação e comprometimento emocional (ALASMARI et al., 2018; PINHEIRO et al., 2022)

O etanol afeta outros neurotransmissores associados ao humor, como a serotonina. Neste contexto, o álcool pode modular a liberação de 5-HT, influenciando os circuitos cerebrais envolvidos na regulação do humor e da emoção, contribuindo para o surgimento ou agravamento de sintomas depressivos (MANN et al., 2001).

Somando a isso, em estudos pré-clínicos posteriores foi observado que a exposição pré-natal ao álcool causou hiperatividade do eixo HPA, redução de neurotransmissores e de BDNF resultando em sintomas depressivos em ratas (HELLEMANS et al, 2010).

De fato, a exposição ao etanol também está associada à redução dos níveis de BDNF no hipocampo. Essas mudanças são particularmente prejudiciais durante a adolescência, fase em que o processo de maturação cerebral é crucial. Durante esse período, um desequilíbrio nos mediadores neuromoduladores impacta os circuitos límbicos, comprometendo o desenvolvimento dos neurocircuitos no córtex pré-frontal. Esse desequilíbrio culmina em um aumento da reatividade límbica, resultando em alterações significativas no controle afetivo (SIMI, 2011).

Em outras pesquisas envolvendo o consumo de álcool em ratas adolescentes, identificou-se o desenvolvimento de comportamentos semelhantes ao depressivos imediatamente após exposição e repercussões negativas na memória e comportamento do tipo ansioso na vida adulta desses animais. Estas alterações comportamentais foram ainda acompanhadas de alterações bioquímicas como aumento da peroxidação lipídica, ou seja, estabelecimento de um quadro de dano oxidativo que repercutiu na vida adulta (QUEIROZ et al., 2022).

Além dos processos citados, o etanol parece estar relacionado com o sistema adenosinérgico no comportamento depressivo. O consumo de etanol aumenta os níveis de adenosina, que produz efeitos inibitórios no SNC, através da regulação da excitabilidade, de neurotransmissores e da função dos canais iônicos, que conseqüentemente causam alterações de humor e comportamento (PINHEIRO et al., 2022). Em descobertas sobre o uso de álcool na adolescência elucidaram que o consumo de etanol aumenta a expressão da CREB, que induz a superexpressão do receptor A2A em áreas mesolímbicas e corticais, estando associado a alterações comportamentais semelhantes a depressão (NAM et al., 2013; COELHO et al., 2014). Além disso, foi identificado que o uso de cafeína, o antagonismo ou inativação genética de receptores A2A geram comportamentos semelhantes ao de antidepressivos em roedores (COELHO et al., 2014; KASTER et al., 2015).

## **1.4 Alternativas terapêuticas**

### **1.4.1 CAFEÍNA**

A cafeína é um composto químico com a fórmula  $C_8H_{10}N_4O_2$ , classificada como um alcaloide do grupo de xantinas, e é designada quimicamente como 1,3,7-trimetilxantina. Apresenta-se como um pó branco e cristalino, caracterizado por um sabor extremamente amargo e ausência de odor (SILVA, 2014) (Figura 7).

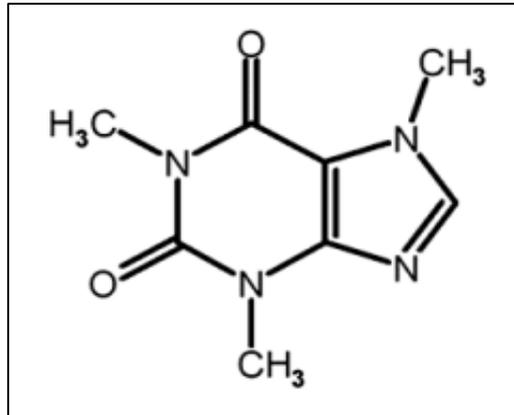


Figura 7 – Representação esquemática da molécula de cafeína.

Fonte: Silva (2014).

Este composto está associado a modificações da função cognitiva, incluindo aumento da sensação de vigília, aprimoramento do estado emocional, ampliação da memória e intensificação das funções psicomotoras (SMITH, 2002; RIEDEL et al., 1995). A cafeína é encontrada em vários itens de consumo, como café, chá, chocolate, bebidas gaseificadas e bebidas energéticas, tornando-se o agente psicoativo mais extensivamente utilizado ao redor do globo (FREDHOLM et al., 1999; BURDAN, 2015).

A cafeína, devido às suas propriedades hidrofóbicas e baixa afinidade com as proteínas plasmáticas, pode atravessar as membranas biológicas e atingir a corrente sanguínea. As concentrações plasmáticas máximas são geralmente atingidas entre 15 a 120 minutos após a ingestão oral, e o tempo de meia-vida plasmática varia de 2,5 a 4,5 horas. No entanto, em roedores, a meia-vida das metilxantinas é mais curta, situando-se em torno de 0,7 a 1,2 horas (FREDHOLM et al., 1999). Fredholm et al. (1999) sugere que, em geral, assume-se que 10mg/kg de cafeína em ratos equivalem a aproximadamente 250mg de cafeína (o equivalente a 2 a 3 xícaras de café) em humanos de 70kg (3,5mg/kg).

A cafeína pode contrabalançar algumas das alterações neuroquímicas induzidas pelo etanol. Por exemplo, a cafeína tem a capacidade de antagonizar os

efeitos do etanol na liberação de neurotransmissores, como a dopamina, glutamato e GABA. Essa capacidade de interagir com diferentes sistemas neuroquímicos sugere um potencial efeito modulador da cafeína sobre os efeitos depressivos do etanol (BURDAN, 2015).

Além disso, a cafeína pode influenciar positivamente o humor e a cognição. Estudos têm demonstrado que a cafeína pode aumentar a ativação cerebral, melhorar a vigilância e o estado de alerta, e até mesmo modular neurotransmissores relacionados ao bem-estar, como a serotonina (GONÇALVES et al., 2013). Essas propriedades podem contrabalançar os efeitos depressivos do etanol, que geralmente estão associados à diminuição da atividade cerebral e a alterações na função de neurotransmissores.

A ação da cafeína pode ser mediada por diversos mecanismos, sendo o antagonismo dos receptores de adenosina A1 e A2A, a inibição das fosfodiesterases, a liberação do cálcio intracelular e o bloqueio dos receptores GABA-A alguns dos principais (FREDHOLM et al., 1999). No entanto, o antagonismo adenosinérgico, principalmente nos receptores A1 e A2A, são os mecanismos predominantes. Este antagonismo adenosinérgico é o responsável pelos efeitos estimulantes da cafeína no SNC.

Importante também pontuar que a cafeína pode estar associada à neuroproteção contra a degeneração de neurônios. Adicionalmente, em doses baixas a moderadas, esta substância demonstra efeitos positivos relacionados ao aumento do ânimo, porém, doses elevadas podem reverter esses efeitos positivos (KOLAHDOUZAN e HAMADEH, 2017; PREDIGER, 2010),

A literatura conta com diversos estudos acerca das alterações de locomoção, ansiedade e depressão provocadas pela cafeína, no qual o receptor A2a desempenha um papel fundamental no controle dos transtornos de humor, corroborando com as afirmações sobre a relação inversa entre a incidência de depressão e o consumo de cafeína (MADEIRA et al., 2017; GONÇALVES et al., 2013).

#### 1.4.2 SISTEMA ADENOSINÉRGICO

O sistema adenosinérgico desempenha um papel central na regulação de várias funções fisiológicas, incluindo sono, vigília, função cardiovascular e neuroproteção. Este sistema é mediado principalmente através da ação da adenosina, um neuromodulador endógeno, em seus receptores específicos, conhecidos como A1,

A2A, A2B, e A3. A adenosina é formada tanto intracelular quanto extracelularmente, através da degradação do adenosina trifosfato (ATP) e é conhecida por suas propriedades vasodilatadoras, imunossupressoras e anti-inflamatórias (FREDHOLM et al., 2011).

Os receptores adenosinérgicos são distribuídos amplamente pelo corpo, incluindo o SNC, onde exercem efeitos significativos sobre a neurotransmissão e a modulação da atividade neuronal. Os receptores de adenosina A1 e A3 são acoplados à proteína G, levando à inibição da atividade da adenilato ciclase e conseqüente redução da formação de adenosina monofosfato cíclico (cAMP), enquanto os receptores de adenosina A2A e A2B estão positivamente acoplados a Proteínas Gs, ativando assim a adenilato ciclase e aumentando a produção de AMPc (WARDAS et al., 2002).

Esses receptores também têm densidades e afinidades significativamente diferentes para a adenosina. A1R e A2AR têm ampla distribuição por todo o cérebro e alta afinidade pela adenosina quando comparados aos receptores de adenosina A2B e A3 (RIBEIRO et al., 2002). A1R é altamente expressa no córtex, cerebelo, hipocampo e corno dorsal da medula espinhal, enquanto A2AR é altamente expressa no corpo estriado e no bulbo olfatório, com menor expressão na amígdala, hipocampo e córtex pré-frontal (GOMES et al., 2021; SEBASTIÃO; RIBEIRO, 1996).

O sistema adenosinérgico, por sua interação complexa e multifacetada com diversos processos fisiológicos, é também afetado pelo consumo de álcool. O álcool tem efeito na função cerebral por meio de interações com vários sistemas neurotransmissores, incluindo o sistema adenosinérgico. A relação entre o sistema adenosinérgico e o álcool é particularmente importante devido ao papel que o primeiro desempenha na modulação da atividade neuronal e na regulação de funções fisiológicas cruciais que o álcool pode perturbar (BUTLER; PRENDERGAST, 2012).

A ingestão de álcool influencia a função do sistema adenosinérgico de várias maneiras. Um dos efeitos mais notáveis é o aumento dos níveis de adenosina no cérebro, o que é consequência da inibição do metabolismo do ATP e do aumento da liberação de adenosina. Esse aumento de adenosina provocada pela exposição ao álcool pode provocar hiperexcitabilidade e danos cerebrais, principalmente durante a retirada do etanol (BUTLER; PRENDERGAST, 2012). Esses mecanismos excitatórios são processados pelos receptores adenosinérgicos A1 e A2A no qual existem

substâncias, como a cafeína, que podem bloquear ambos os receptores (figura 8) (DUNWIDDIE; MASINO, 2001).

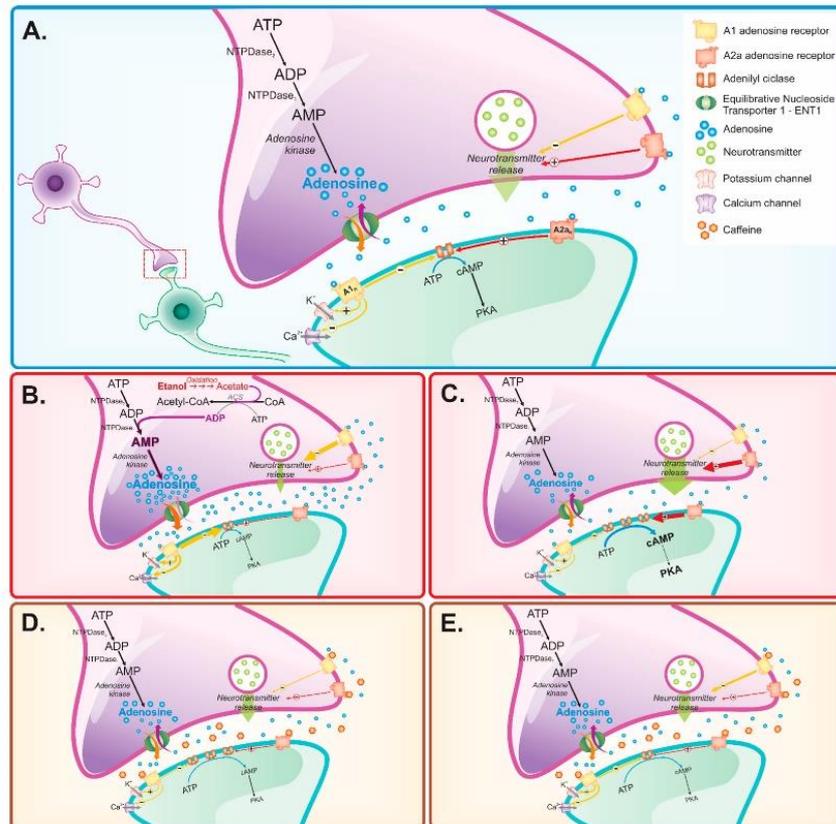
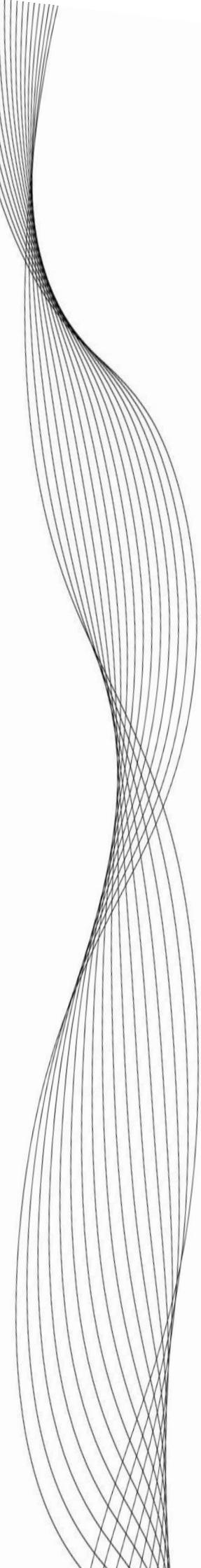


Figura 8 – Relação do sistema adenosinérgico e álcool.

Fonte: Pinheiro *et al.*, (2022).

Diante das propriedades do sistema adenosinérgico, observou-se que alterações nesse sistema podem resultar diversas respostas fisiológicas e comportamentais no SNC. Isso inclui os impactos biológicos associados ao consumo de álcool. Portanto, torna-se essencial compreender como o álcool afeta este sistema, influenciando mudanças cognitivas e emocionais.



---

## OBJETIVOS

---

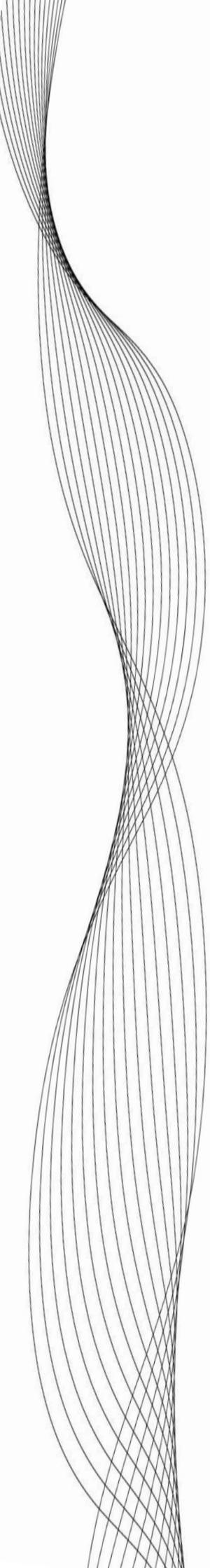
## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar os efeitos da cafeína nos prejuízos relacionados a memória, no comportamento do tipo depressivo e na concentração de monoaminas em ratas adolescentes após a retirada de etanol.

### **2.2 Objetivo específico**

- Analisar a memória de reconhecimento teste de reconhecimento social;
- Investigar o comportamento do tipo anedônico no *splash test*;
- Analisar o comportamento do tipo depressivo no teste do nado forçado;
- Analisar efeitos da cafeína nos efeitos neuroquímicos relacionados às monoaminas.



---

## **METODOLOGIA**

---

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Animais e grupos experimentais

Este projeto foi aprovado no nº 7646300323 pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) e atendeu às normas e padrões do Guia para Cuidado e Uso de Animais de Laboratório. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Inflamação e Farmacologia Comportamental (LAFICO) da Universidade Federal do Pará (UFPA).

Neste projeto foram utilizadas ratas fêmeas adolescentes (n=40), Wistar 35 pós-natais (DPN), que foram obtidas no biotério do Instituto Evandro Chagas. Para a realização do protocolo, essas ratas foram divididas em 4 grupos (conforme quadro 1) e mantidos em gaiolas (3-4 ratos por gaiola) em uma sala controlada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Todos os animais foram submetidos a ciclo claro/escuro de 12h (06h00/18h00) com ração e água *ad libitum* e ambiente enriquecido.

GRUPO	DESCRIÇÃO	NÚMERO
<b>Controle</b>	Animais receberam água destilada (3g/kg/dia v.o), por gavagem, durante 3 dias consecutivos.	10
<b>EtOH</b>	Animais intoxicados com etanol (3g/kg/dia v.o), por gavagem, em regime de <i>3 days on/4 days off</i> por 4 ciclos repetidos	10
<b>EtOH + Caf</b>	Os animais foram intoxicados com etanol (3g/kg/dia v.o) em regime de <i>3 days on/4 days off</i> por 4 ciclos repetidos e receberam Caf (10mg/kg/dia, v.o) após o 1º ciclo até um dia após ao 4º ciclo de <i>binge</i> .	10
<b>Caf</b>	Os animais receberam Caf (10mg/kg/dia, v.o) após o 1º ciclo até um dia após o 4º ciclo de <i>binge</i> .	10
<b>TOTAL</b>		<b>40</b>

Quadro 1. Descrição dos grupos experimentais  
Legenda: v.o = Via oral; EtOH: Etanol; Caf: Cafeína.

#### 3.2 Protocolo experimental

O desenho experimental aconteceu com 4 grupos: controle (água destilada), Etanol, Etanol + Cafeína e Cafeína. A dosagem de cafeína é equivalente

estequiometricamente à 250 mg/kg em humanos (2-3 xícaras de bebida), que apresenta ação farmacológica nos receptores adenosinérgicos A1 e A2A restritos ao SNC (FREDHOLM *et al.*, 1999). Os animais intoxicados com etanol ou controle foram submetidos a 4 ciclos de *binge* do 35º ao 58º DPN (3g/kg/dia; 3 days on/4 days off; 20% p/v) ou água destilada (grupo controle) (BERTOLA *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2018). Vinte e quatro horas após o primeiro ciclo de binge drinking, os grupos submetidos a cafeína passaram a ser tratados com 10mg/kg todos os dias, 2h após a intoxicação com etanol, até seu último dia de *binge drinking* (58 DPN). Posteriormente, 24h após o fim do último ciclo de binge drinking, os animais foram submetidos a testes comportamentais. Em seguida, foram anestesiados com uma mistura de cetamina 10% (10mg/mL) e xilazina 2% (2 mg/mL) para eutanásia e coleta tecidual.

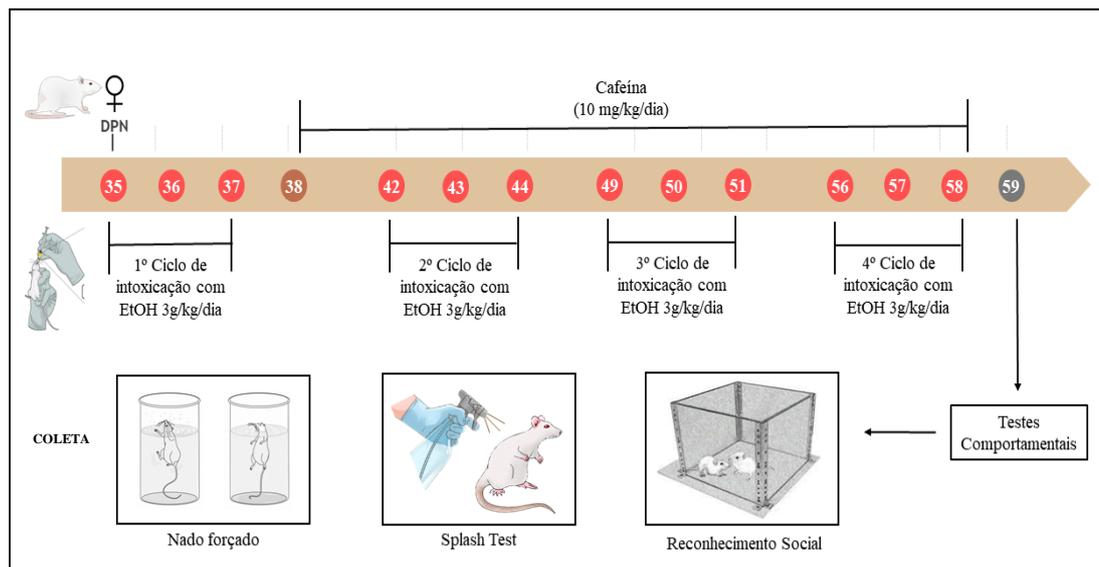


Figura 9 – Esquema de tratamento experimental com Etanol e Cafeína.  
Fonte: Autor.

### 3.3 Ensaios comportamentais

#### 3.3.1 TESTE DO RECONHECIMENTO SOCIAL

A memória social de curto prazo foi avaliada com o teste de reconhecimento social. O protocolo adotado foi adaptado por Plekanchuk e colaboradores (2022). Neste teste, foram utilizados ratos jovens (22 DPN) como estímulo social. A tarefa foi realizada em uma gaiola contendo maravalha. Este teste foi dividido em três etapas: a etapa de habituação onde o animal pode explorar o ambiente sem o animal juvenil

por 3 minutos, a etapa do treino onde o estímulo social é inserido durante 5 minutos e a etapa de teste, precedida de um intervalo de 30 minutos, onde o animal jovem será reinserido durante 5 minutos. Durante a primeira e a segunda etapa, o tempo gasto na investigação da rata juvenil (farejando, apalpando ou interagindo) foi registrado. Neste paradigma, a redução no tempo de investigação durante o segundo encontro reflete a capacidade de reconhecimento pelo outro rato (PREDIGER et al., 2005).

O tempo gasto na investigação social pelo rato adulto foi medido e depois expresso para cada animal como a razão entre a segunda exposição e a primeira exposição, chamado de índice de reconhecimento. Uma redução no índice de reconhecimento reflete uma diminuição no comportamento de investigação durante o segundo encontro, demonstrando a capacidade de reconhecimento do rato adulto. Essa transformação foi escolhida para minimizar as variações diárias na linha de base do desempenho e para equalizar as variações entre os diferentes grupos (PREDIGER et al., 2005)

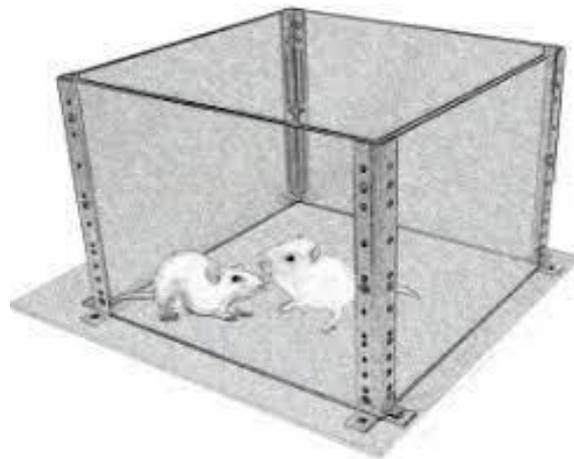


Figura 10 – Representação do teste de reconhecimento social.

### 3.3.2 *SPLASH TEST*

O teste foi realizado de acordo com o protocolo de Isingrini et al. (2010), com modificações (FREITAS et al., 2013) e avalia o comportamento motivacional do animal, associando a autolimpeza como um indício de autocuidado, bem como a redução indica sintomas paralelos à depressão, como a anedonia (WILLNER, 2005). Para a realização desta tarefa, foi borrifada uma solução de sacarose a 10% no dorso

do animal, em seguida foram individualmente colocados em caixas de acrílico (9x7x11cm) e imediatamente iniciou a contagem do tempo de autolimpeza por um período de 5 minutos (FREITAS et al., 2013). Posteriormente a exposição de cada animal, o aparato foi higienizado com papel toalha e Etanol 10%.

Este teste foi utilizado como um marcador comportamental, uma vez que animais submetidos a modelos comportamentais de depressão apresentam um menor tempo de autolimpeza quando comparados aos animais controle (KALUEFF et al., 2002; MORETTI et al., 2012).



Figura 11 – Representação do *splash test*.  
Fonte: Autor.

### 3.3.3 NADO FORÇADO

O teste de Nado Forçado foi desenvolvido por Porsolt et al. (1978), na *American National Standard*, com ratos e, posteriormente, com camundongos. Este teste se baseia na observação do comportamento de roedores quando expostos à água. Após um comportamento inicial de fuga excessiva, com natação e escalada, eles param de lutar e mostram comportamento imóvel passivo. Tratamentos antidepressivos demonstram consistentemente a redução do tempo de imobilidade no nado forçado, aumentando comportamentos ativos (SLATTERY; CRYAN, 2012). É considerado um teste preditivo para comportamento tipo depressão (ALCARO et al. 2002; PETIT et al., 2013).

O dispositivo de natação forçada consiste em um cilindro de acrílico (60 × 30 cm, altura e diâmetro, respectivamente) preenchido com água (40 cm) a uma temperatura de  $23 \pm 1$  °C. Os animais foram colocados individualmente no centro do

aparato e a exploração livre foi permitida por 300 segundos. Os primeiros 120 segundos foram admitidos como fase de habituação. O tempo de imobilidade (flutuação com movimentos mínimos) foi registrado por um experimentador nos últimos 3 minutos do teste (CASTRO et al., 2012). O aumento do tempo de imobilidade indica fenótipo do tipo depressivo.

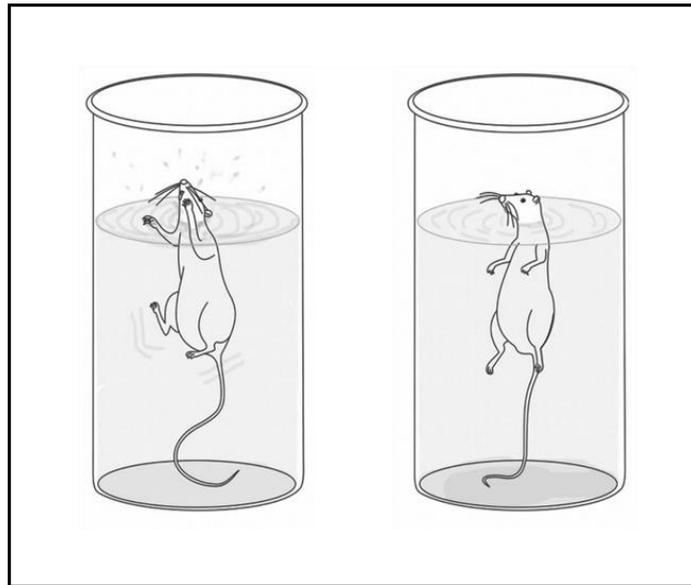


Figura 12 – Representação do nado forçado.

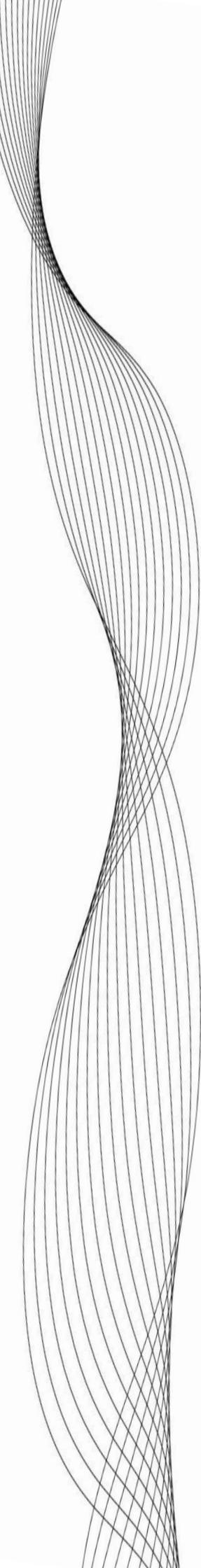
### 3.4 Avaliação da concentração de monoaminas

Para a detecção da concentração de monoaminas (serotonina, noradrenalina e dopamina) foi utilizado o equipamento de cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE) por detecção eletroquímica. O tecido do estriado foi sonificado em ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) por 30 segundos e o homogenato, posteriormente foi filtrado e transferido para microtubos de polipropileno tipo eppendorf para centrifugação (15 minutos) em centrífuga refrigerada a 15000 rpm. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante foi injetada no equipamento de cromatografia. Foi utilizada coluna CLC-ODS(M) (Shimadzu/ Japão), cuja fase móvel foi composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0 contendo ácido octanosulfônico sódico 0,69 M (SOS) como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4% v/v e tetrahydrofurano 1,7% v/v.

### 3.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo software Graphpad Prism 9.0. Todos os resultados foram expressos como média ± e.p.m (10 animais por grupo). O

teste de normalidade foi realizado pelo teste de Shapiro-Wilk. Na comparação estatística foi aplicada a ANOVA de uma via, seguida do teste de Bonferroni para múltiplas comparações post hoc, adotando-se um nível de significância de 95%.



---

## **RESULTADOS**

---

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Testes comportamentais

#### 4.1.1 A CAFEÍNA DE LONGO-PRAZO MELHORA A MEMÓRIA SOCIAL APÓS O PROTOCOLO *DE BINGE DRINKING*

Após a intoxicação por 4 ciclos de etanol em padrão *binge* (3g/kg/dia) foi observado que durante a primeira fase de investigação o grupo EtOH interagiu por menos tempo quando comparada ao grupo controle (\*\* $p < 0,01$ ), já o grupo Caf *per se* e o grupo EtOH+Caf não obtiveram diferença estatística em relação ao grupo controle (figura 13A). Na segunda fase da exposição o grupo EtOH teve um aumento no tempo de investigação quando comparado ao grupo controle (\*\* $p < 0,001$ ), já o grupo Caf *per se* não obteve diferença estatística em relação ao grupo controle e o grupo EtOH+Caf apresentou uma diminuição no tempo de investigação quando comparado ao grupo EtOH (+++ $p < 0,001$ ) (figura 13B).

O índice de reconhecimento social, mostrou que o grupo EtOH teve um aumento no índice quando comparado ao grupo controle (\*\* $p < 0,001$ ), já o grupo Caf *per se* obteve um índice semelhante ao grupo controle e o grupo EtOH+Caf apresentou um índice de reconhecimento menor em relação ao grupo EtOH (+++ $p < 0,001$ ) (figura 13C).

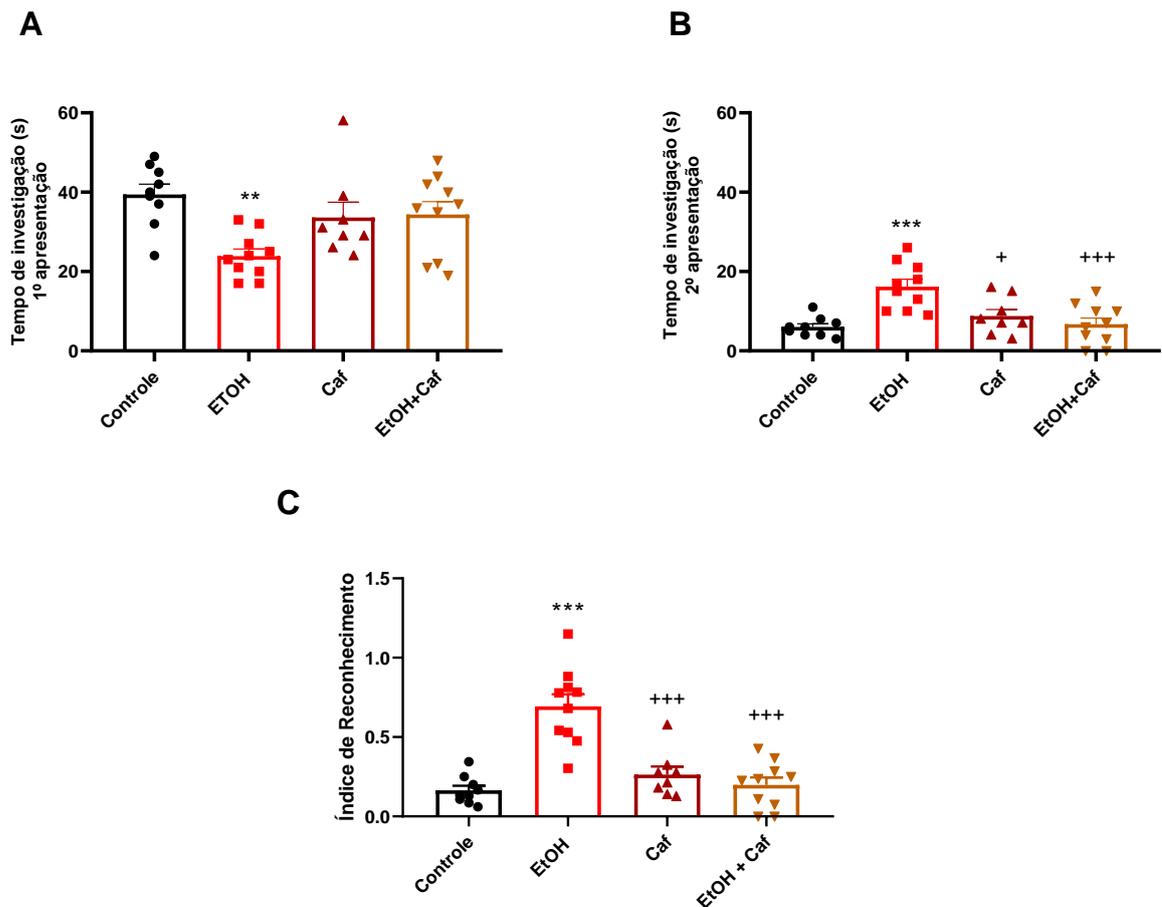


Figura 13. Efeitos da cafeína (10 mg/kg/dia) no padrão *binge drinking* (3,0 g/kg/dia; 3 dias on - 4 dias off) sobre a memória social, avaliada pelo teste de reconhecimento social. (A) Tempo total despendido para explorar o animal juvenil durante a primeira exposição em segundos. (B) Tempo total despendido para explorar o animal juvenil durante a segunda exposição, após 30 minutos da primeira exposição. (C) Índice de reconhecimento (razão entre a duração da investigação; ou seja, a razão entre a segunda exposição e a primeira exposição). Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  e.p.m do tempo de investigação na fase de treino e o índice de reconhecimento na fase de teste, durante 180 segundos, com n=10 animais por grupo. Os dados foram significativos comparando: \*\*p<0,01 comparado ao grupo controle; \*\*\*p<0,001 comparado ao grupo controle; +p<0,05 comparado ao grupo etanol (EtOH); +++p<0,001 comparado ao grupo EtOH. *One-way ANOVA* seguida do teste post hoc de Bonferroni.

#### 4.1.2 A CAFEÍNA DE LONGO-PRAZO DIMINUI ANEDONIA APÓS *BINGE DRINKING* ETANOL

Após a análise dos parâmetros relacionados a autolimpeza no splash test, os resultados mostraram que posteriormente aos ciclos de *binge*, os animais do grupo EtOH apresentaram um maior tempo de latência em relação ao grupo controle (\*p<0,05). Já os animais do grupo Caf *per se* não obtiveram diferença estatística quando comparado ao grupo controle. O tratamento com a cafeína conseguiu diminuir essa latência, uma vez que o grupo EtOH+Caf mostrou diferença significativa em relação ao grupo EtOH (+++p<0,001) (figura 14A).

Nos resultados relacionados ao tempo gasto na autolimpeza, o grupo EtOH apresentou um menor tempo quando comparado ao grupo controle ( $***p<0,001$ ), já a Caf *per se* obteve um comportamento semelhante ao grupo controle. O tratamento com cafeína no grupo EtOH+Caf aumentou o tempo de autolimpeza quando comparado ao grupo EtOH ( $+++p<0,001$ ) (figura 14B).

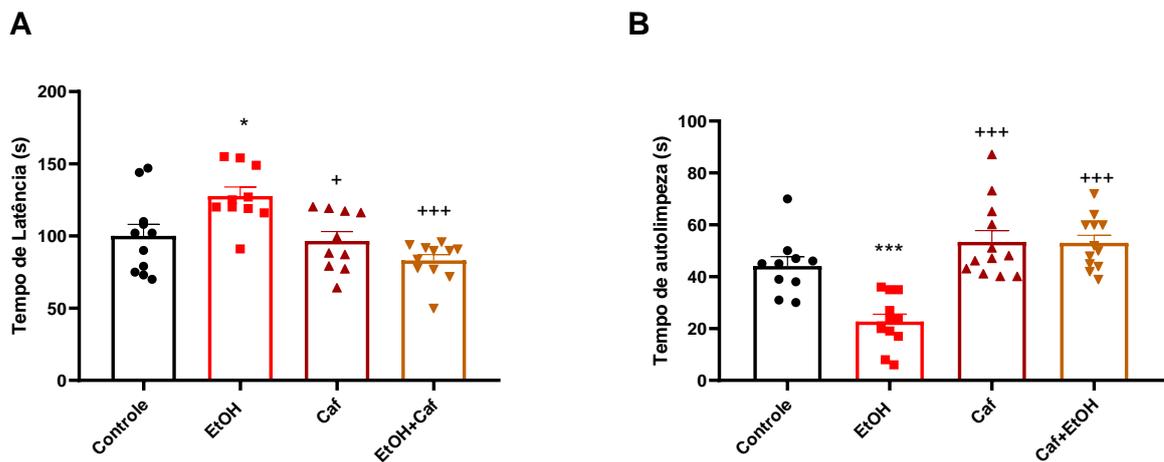


Figura 14. Efeitos da cafeína (10 mg/kg/dia) após binge drinking etanol (3,0 g/kg/dia; 3 dias on - 4 dias off) sobre o comportamento do tipo anedônico, avaliado pelo splash test. (A) Tempo total até o animal iniciar os movimentos de autolimpeza em segundos. (B) Tempo total em que o animal realiza movimentos de autolimpeza em segundos. Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  e.p.m do tempo de latência e o tempo total de autolimpeza, durante 5 minutos, com  $n=10$  animais por grupo. Os dados foram significativos comparando: controle vs EtOH ( $*p<0,05$ ) no tempo de latência (A); EtOH vs Caf ( $+p<0,05$ ) no tempo de latência (A); EtOH vs EtOH+Caf ( $+++p<0,001$ ) no tempo de latência (A); controle vs EtOH ( $***p<0,001$ ) no tempo de autolimpeza (B); EtOH vs Caf ( $+++p<0,001$ ) no tempo de autolimpeza (B) e EtOH vs EtOH+Caf ( $+++p<0,001$ ) no tempo de autolimpeza (B). Todos os testes foram submetidos à ANOVA one-way seguida do teste post hoc de Bonferroni.

#### 4.1.3 A CAFEÍNA DE LONGO-PRAZO REDUZ O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO APÓS *BINGE DRINKING* ETANOL

Após a análise sobre o tempo de imobilidade do animal no teste do nado forçado, os resultados mostraram que após os ciclos de *binge*, o grupo intoxicado com EtOH apresentou um aumento no tempo de imobilidade quando comparado ao grupo controle ( $***p<0,001$ ), já o grupo Caf *per se* não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. O tratamento com a cafeína no grupo EtOH+Caf diminuiu esse tempo de imobilidade quando comparado ao grupo EtOH ( $+++p<0,001$ ) (figura 15).

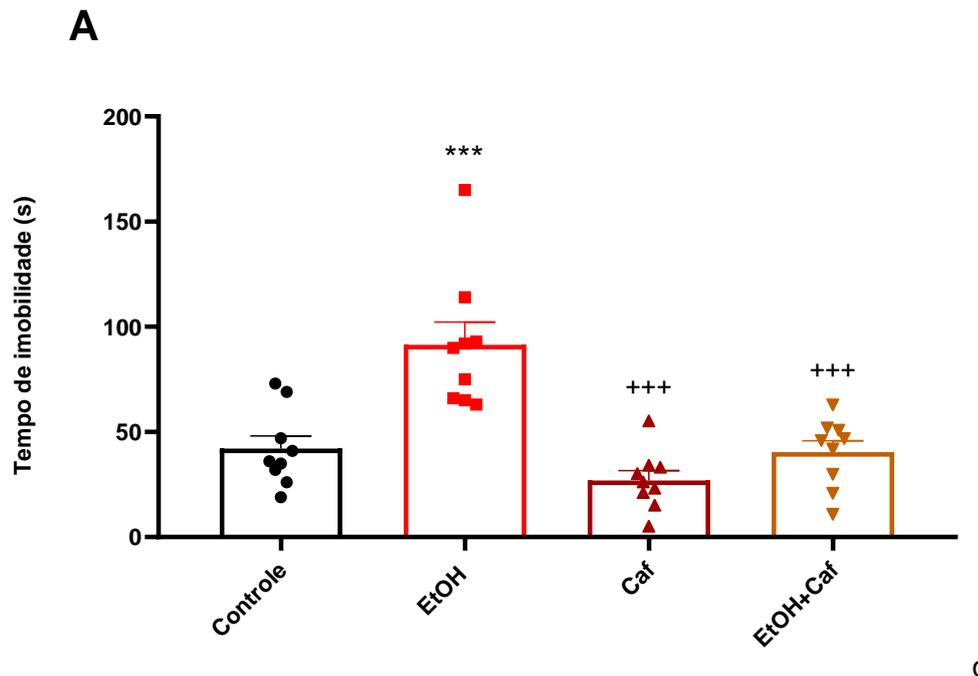


Figura 15. Efeitos da cafeína (10 mg/kg/dia) após *binge drinking* etanol (3,0 g/kg/dia; 3 dias on - 4 dias off) sobre o comportamento do tipo depressivo, avaliado pelo teste do nado forçado. (A) Tempo total em que animal fica imóvel em segundos. Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  e.p.m do tempo de imobilidade, durante 5 minutos, com n=9 animais por grupo. Os dados foram significativos comparando: controle vs EtOH (\*\* $p < 0,001$ ); EtOH vs Caf (++++ $p < 0,001$ ) e EtOH vs EtOH+Caf (++++ $p < 0,001$ ). Todos os testes foram submetidos à ANOVA one-way seguida do teste post hoc de Bonferroni.

## 4.2 Concentração de monoaminas

4.2.1 A CONCENTRAÇÃO DE DA, NE E 5-HT NO ESTRIADO SÃO PREJUDICADAS NOS ANIMAIS INTOXICADOS COM ETANOL. PORÉM, A CAFEÍNA CONSEGUE MELHORAR APENAS OS NÍVEIS DE 5-HT.

Após a análise das concentrações de monoaminas no estriado, os resultados mostraram que após os 4 *binges* de etanol, os animais do grupo EtOH obtiveram uma menor concentração de DA quando comparado ao grupo controle ( $*p < 0,05$ ). Já o grupo Caf *per se* e o grupo EtOH+Caf permaneceram iguais ao controle (figura 16A). O grupo EtOH diminuiu os níveis de NE quando comparado ao grupo controle (\*\* $p < 0,001$ ). Por outro lado, o grupo Caf *per se* e o EtOH+CAF não obtiveram uma melhora nos níveis de NE quando comparados ao grupo intoxicado com etanol e apesar da Caf *per se* aumentar as concentrações de NE, ela não consegue se igualar ao controle (figura 16B). O grupo EtOH também diminuiu as concentrações de 5-HT

quando comparado ao grupo controle ( $***p<0,001$ ), o grupo Caf *per se* mostrou um aumento equivalente ao controle e o grupo EtOH+CAF conseguiu aumentar os níveis de 5-HT ( $+++p<0,001$ ) (figura 16C).

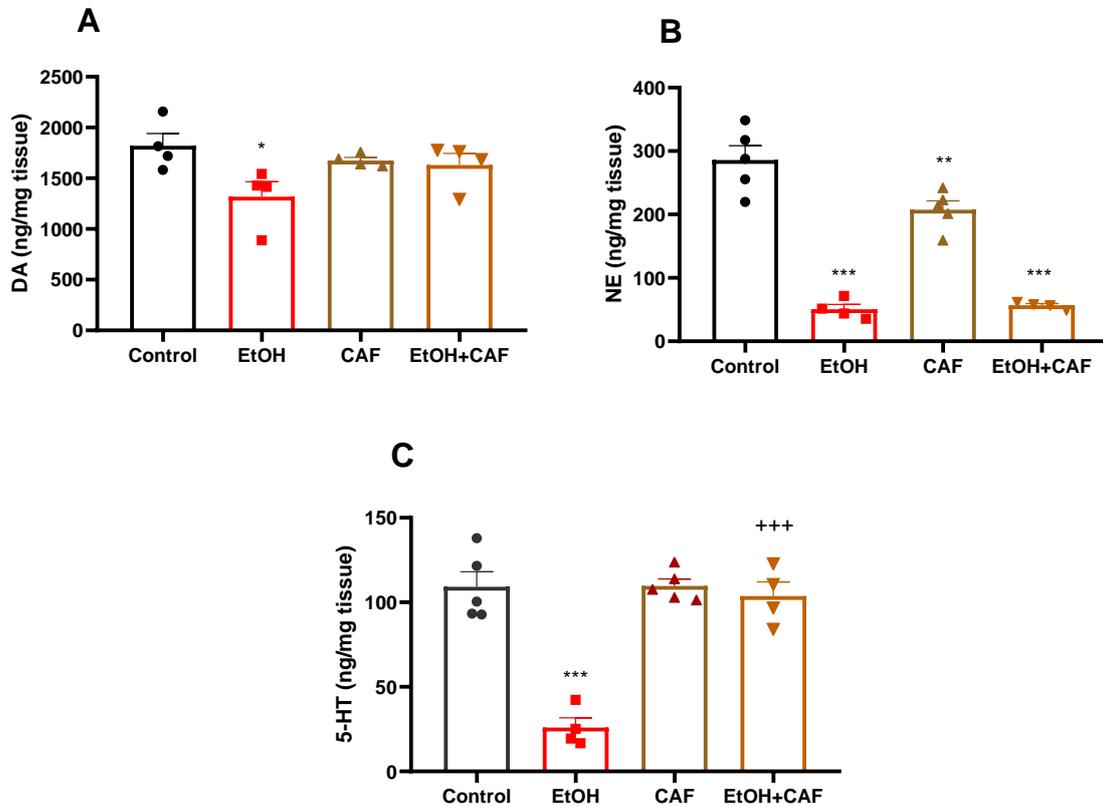
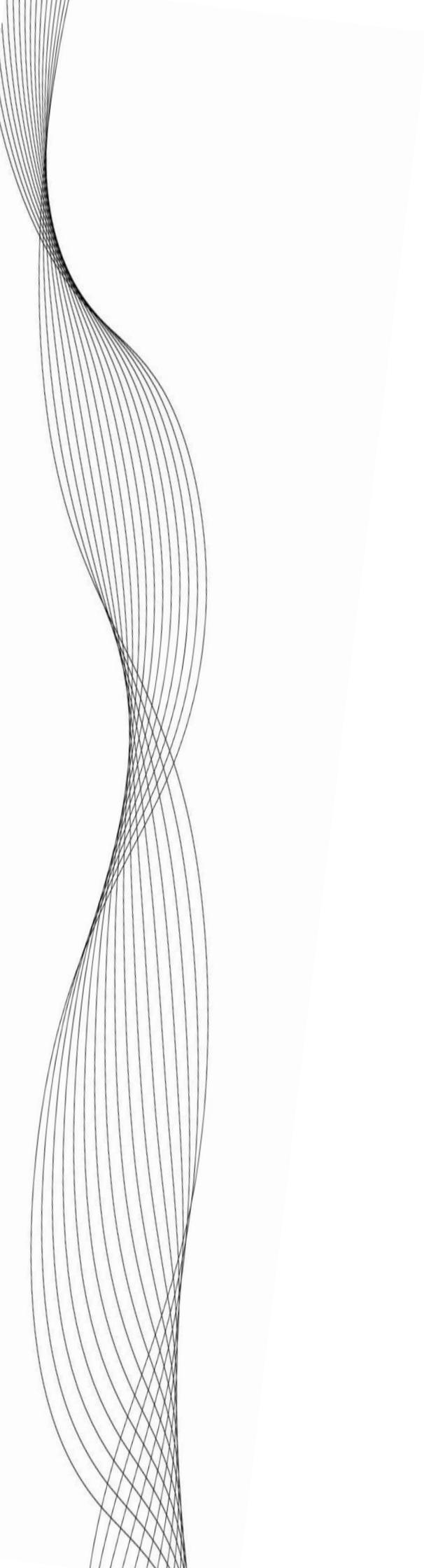


Figura 16. Efeitos da cafeína (10 mg/kg/dia) após binge drinking etanol (3,0 g/kg/dia; 3 dias on - 4 dias off) sobre níveis de DA (A), NE (B) e 5-HT (C) no estriado de ratas fêmeas. Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  e.p.m, com  $n=4-5$  animais por grupo. Os dados foram significativos comparando: controle vs EtOH ( $*p<0,05$ ) na concentração de DA (A); controle vs EtOH na concentração de NE (B) ( $***p<0,001$ ), controle vs CAF na concentração de NE ( $**p<0,01$ ) e controle vs EtOH+CAF na concentração de NE (B) ( $***p<0,001$ ); controle vs EtOH na concentração de 5-HT (C) ( $***p<0,001$ ), EtOH vs EtOH+CAF (C) ( $+++p<0,001$ ). Todos os testes foram submetidos à ANOVA one-way seguida do teste post hoc de Bonferroni.



---

## **DISCUSSÃO**

---

## 5 DISCUSSÃO

Neste modelo experimental, a administração crônica de álcool, na dose de 3g/kg/dia, no padrão *binge drinking*, em ratas adolescentes elucidou déficits cognitivos, emocionais e neuroquímicos que foram atenuados pelo tratamento com a cafeína, conforme demonstrado pelos testes realizados.

A ingestão de álcool durante os anos da adolescência gera grande preocupação, pois neste período o cérebro ainda está em processo de desenvolvimento (SPEAR, 2015). A maturação postergada de regiões específicas do sistema límbico, está associada a comportamentos como impulsividade, ansiedade e falta de atenção (FERNANDES et al., 2018; GUERRI; PASCUAL 2010). Este contexto aumenta a suscetibilidade dos jovens ao abuso de substâncias, acarretando mudanças comportamentais e neuroquímicas significativas (ANTONIETTE, 2010; BAVA et al., 2010; SPEAR, 2000). Nesse sentido, diversos estudos mostram os prejuízos gerados pela retirada do álcool, como alterações neurotóxicas relacionadas a aprendizagem e memória, além de comportamentos semelhante à ansiedade e depressão (CIPITELLI et al., 2010; FERNANDES et al., 2018; BELÉM-FILHO et al., 2018).

Dessa forma, esse estudo buscou avaliar os prejuízos do consumo do álcool relacionados a memória através do teste do reconhecimento social. Este teste tem sido bastante explorado na pesquisa neurofarmacológica como uma grande referência de memória sensorial, uma vez que os roedores utilizam o olfato para fazer a discriminação social (FERGUSON et al., 2000). Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que no teste de reconhecimento social, o grupo exposto ao etanol apresentou um tempo de investigação reduzido e um índice de reconhecimento aumentado quando comparado ao grupo controle, o que caracteriza um prejuízo na memória social. Este achado está em consonância com estudos prévios do nosso grupo de pesquisa que indicam que o consumo de álcool em adolescentes pode comprometer funções cognitivas, especialmente a memória de curto prazo (FERNANDES et al., 2018; QUEIROZ et al., 2022).

De maneira semelhante a cafeína per si não alterou comprometeu a cognição e nem a memória após 24h, já evidenciado na literatura por Botton e colaboradores (2010) que administração da cafeína per sí não prejudica a memória de curto prazo, pelo contrário melhora mais do que animais que receberam apenas salina. Por outro

a cafeína diminui alterações cognitivas causadas pelo etanol, pois o grupo EtOH+Caf exibiu tempos de investigação melhorados, reafirmando que a cafeína pode ter efeitos neuroprotetores e cognitivos positivos (NEHLIG, 2010).

Vários estudos na literatura destacam uma associação significativa entre o efeito antidepressivo e as modulações que ocorrem nos receptores de adenosina no sistema nervoso central, especificamente o antagonista do receptor de adenosina A<sub>2a</sub>. Escudeiro e colaboradores (2013) observaram que ratos knockout para antagonistas dos receptores de adenosina A<sub>2a</sub> apresentaram uma redução do tempo de imobilidade nos testes do nado forçado.

Em consonância com essas descobertas, nossos resultados mostraram que o etanol induziu um estado anedônico, evidenciado pelo aumento da latência e pela redução no tempo total de autolimpeza. A cafeína, por sua vez, reduziu a latência e aumentou o tempo de autolimpeza, tanto isoladamente quanto em combinação com o etanol, o que pode ser interpretado como um efeito antidepressivo. Este efeito é suportado por estudos que associam a cafeína a um menor risco de depressão, devido à sua capacidade de bloquear os receptores adenosinérgicos A<sub>2A</sub> e modular o sistema dopaminérgico (KASTER et al., 2015).

No teste do nado forçado, um modelo comportamental de desesperança aprendida, utilizado para avaliação de comportamentos depressivos, o grupo etanol exibiu um aumento no tempo de imobilidade, refletindo um fenótipo do tipo depressivo. Em estudos desenvolvidos por Queiroz e colaboradores (2022), 24h após a exposição ao etanol, animais demonstraram maior tempo de imobilidade, corroborando com os achados neste estudo. O tratamento com cafeína reverteu a imobilidade aumentada pelo consumo do etanol, demonstrando efeitos semelhantes aos antidepressivos, o que está em linha com pesquisas que relatam propriedades antidepressivas da cafeína (YAMADA et al., 2014; PECHLIVANOVA et al., 2012).

Esses resultados sugerem que a cafeína pode oferecer efeitos positivos contra os prejuízos comportamentais provocados pelo álcool, possivelmente através da modulação dos sistemas de neurotransmissão afetados pelo consumo dessa droga. A cafeína pode amenizar os déficits cognitivos e comportamentais induzidos pelo etanol, modulando a atividade dos receptores de adenosina, como A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub>. Estes receptores estão amplamente expressos no cérebro, incluindo áreas críticas para a cognição e emoção, como o hipocampo, córtex pré-frontal e estriado. O antagonismo dos receptores de adenosina pela cafeína pode, portanto, facilitar a função cognitiva e

melhorar o humor (CUNHA e AGOSTINHO, 2010), neutralizando os efeitos neurodepressores do etanol.

Os achados mostram também que a exposição ao etanol no padrão binge-like durante a adolescência reduz significativamente os níveis de monoaminas (DA, NE e 5-HT) no estriado. Esta área está relacionada a funções de modulação de comportamentos sociais atrelados a memória, além de processar informações emocionais (MOURA E GILBERTO FERNANDO XAVIER, 2010; PRICE E DREVETS, 2012). Tais modificações podem estar relacionadas ao impacto do etanol na neurotransmissão e neuroplasticidade, além da interação com vias de estresse oxidativo e neuroinflamação, amplamente documentadas na literatura como mecanismos cruciais para os efeitos neurotóxicos do álcool (FERNANDES et al., 2017; MCCLAIN et al., 2013). Esse desequilíbrio é especialmente preocupante em fases críticas de desenvolvimento cerebral, como a adolescência, quando o sistema dopaminérgico exerce papel fundamental na regulação de comportamentos motivacionais e emocionais.

A cafeína, por sua vez, apresentou um efeito neuroprotetor significativo no aumento da concentração de 5-HT, mas não foi tão eficaz em restaurar os níveis de DA e NE. Esses resultados estão em consonância com outros estudos que destacam o potencial da cafeína como agente modulador dos efeitos negativos do etanol. Por exemplo, Kaster et al. (2015) relataram que a cafeína exerce efeitos semelhantes aos antidepressivos, mediando a neurogênese e a plasticidade sináptica, via bloqueio de receptores A2A.

Em paralelo, estudos que investigam a interação do álcool com o sistema adenosinérgico reforçam a relevância dessa via nos prejuízos causados pelo etanol. Pinheiro et al. (2022) mostraram que o aumento nos níveis de adenosina induzido pelo álcool aumenta os efeitos inibitórios no SNC, comprometendo a excitabilidade neural e o humor. Nesse contexto, o uso da cafeína como antagonista adenosinérgico surge como uma estratégia para diminuir os déficits de monoaminas.

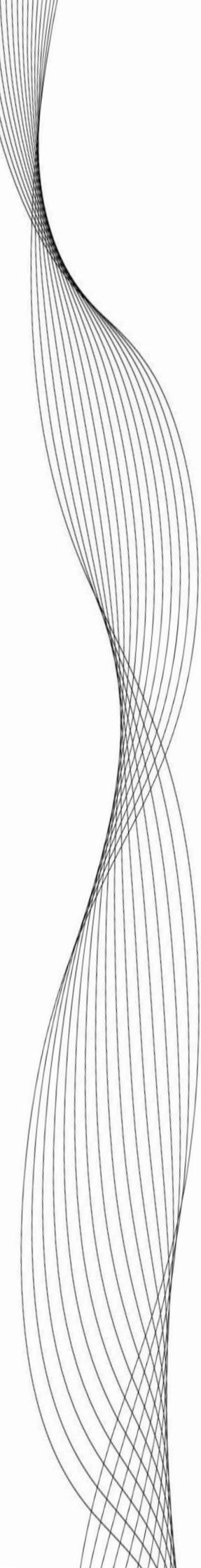
Além do mais, estudos adicionais corroboram com a relação entre o sistema adenosinérgico e os prejuízos neuroquímicos associados ao consumo de álcool. Em um modelo de exposição ao etanol, Hellemans et al. (2010) identificaram reduções significativas nos níveis de 5-HT e DA, associadas à hiperatividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Esses resultados reforçam o impacto

neuroquímico do etanol na adolescência, com prejuízos a longo prazo no desenvolvimento emocional e comportamental.

Nesse contexto, nos testes comportamentais, como o teste do nado forçado e o splash test, os animais expostos ao etanol exibiram comportamento depressivo e anedônico, corroborando a redução dos níveis DA e NE observados no estriado. Esses neurotransmissores desempenham papéis cruciais na modulação do humor e da motivação, e suas alterações explicam os déficits comportamentais. Por outro lado, o aumento dos níveis de serotonina 5-HT promovido pela cafeína se alinha com a melhoria dos comportamento do tipo depressivo observados nos testes comportamentais, mostrando a eficácia do antagonismo dos receptores adenosinérgicos em amenizar os prejuízos induzidos pelo etanol. Essa relação entre os dados comportamentais e neuroquímicos mostra o potencial da cafeína para mitigar os efeitos causados do pelo etanol, ao atuar tanto na recuperação dos níveis de 5-HT quanto na melhoria dos fenótipos comportamentais relacionados à depressão e à anedonia.

Além do mais, dados ainda não publicados por nosso grupo de estudos também já mostram a capacidade da cafeína de modular o humor e a cognição, atenuando déficits de memória e emocionais causados pelo etanol.

Portanto, a cafeína parece exercer múltiplos efeitos neurobiológicos que podem compensar os danos cognitivos, emocionais e neuroquímicos induzidos pelo álcool. Futuras pesquisas devem se aprofundar na caracterização desses mecanismos para elucidar as vias exatas relacionadas a esses efeitos.



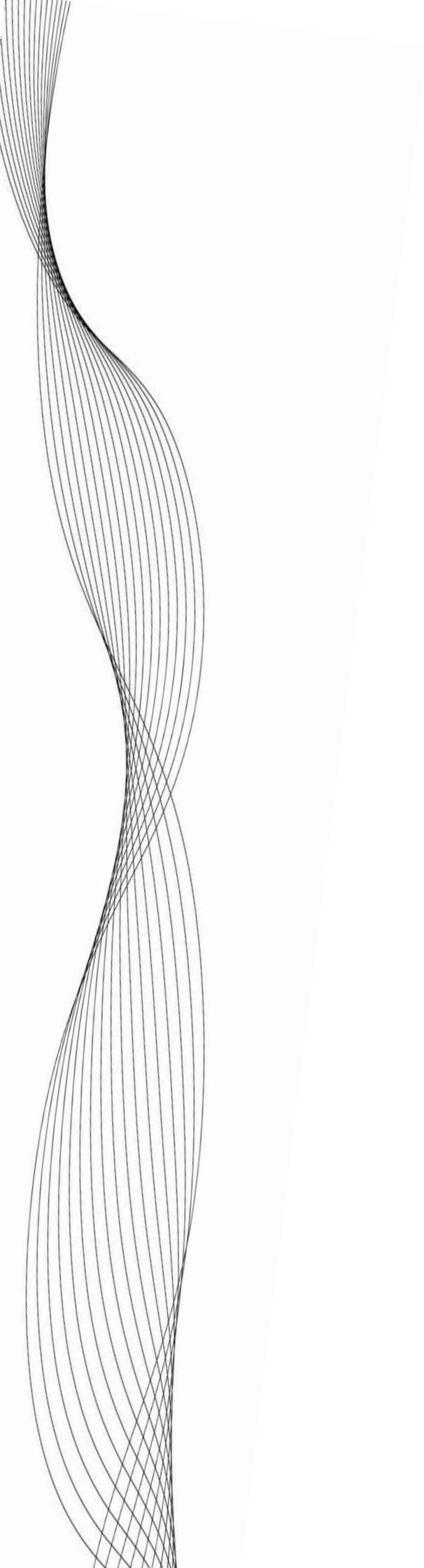
---

## **CONCLUSÃO**

---

## **6 CONCLUSÃO**

A presente dissertação investigou os efeitos da cafeína na memória, no comportamento do tipo depressivo e na concentração de monoaminas em ratas adolescentes após exposição ao etanol. Os resultados obtidos reforçam a hipótese de que a cafeína pode atenuar os prejuízos cognitivos, comportamentais e neuroquímicos induzidos pelo etanol. Pois, observou-se uma melhora significativa na memória, uma diminuição no comportamento do tipo anedônico e do tipo depressivo e também um aumento nos níveis de 5-HT nas ratas tratadas, sugerindo um potencial terapêutico destas abordagens para os danos no SNC resultantes do consumo de álcool em adolescentes. Este estudo contribui para a compreensão dos mecanismos adenosinérgicos envolvidos na neuroproteção e oferece novas perspectivas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas contra os danos causados pelo etanol no cérebro em desenvolvimento. Futuras pesquisas são necessárias para explorar os mecanismos subjacentes a estes efeitos.



---

## REFERÊNCIAS

---

## REFERÊNCIAS

ALASMARI, Fawaz et al. Role of glutamatergic system and mesocorticolimbic circuits in alcohol dependence. **Progress in neurobiology**, v. 171, p. 32-49, 2018.

American Psychiatric Association. (2013). **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais** (5ª ed.). American Psychiatric Publishing.

**APA PsycNet**. Disponível em: <<https://psycnet.apa.org/record/2018-08021-001>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

BELÉM-FILHO, I. J. A.; RIBERA, P. C.; NASCIMENTO, A. L.; et al. Low doses of methylmercury intoxication solely or associated to ethanol binge drinking induce psychiatric-like disorders in adolescent female rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 60, p. 184–194, 2018.

BERTOLA, A. et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model). **Nature Protocols**, v. 8, n. 3, p. 627–637, 28 fev. 2013.

BHATT, S.; NAGAPPA, A. N.; PATIL, C. R. Role of oxidative stress in depression. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 7, p. 1270–1276, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359644620301926>>.

BLAKEMORE, S.-J.; CHOUDHURY, S. Development of the adolescent brain: Implications for executive function and social cognition. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 47, n. 3-4, p. 296–312, mar. 2006.

BODEN, Joseph M.; FERGUSSON, David M.; HORWOOD, L. John. Associations between exposure to stressful life events and alcohol use disorder in a longitudinal birth cohort studied to age 30. **Drug and alcohol dependence**, v. 142, p. 154-160, 2014.

BOISON, D. Adenosine as a neuromodulator in neurological diseases. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 8, n. 1, p. 2–7, fev. 2008.

BORLINA, Gabriel Henrique de Oliveira, MOREIRA, Gustavo Henrique Batista, MELO, Sidnei Junior Viana de. **Utilização de cascas de batatas e beterrabas na produção de etanol**. 2022. 47f. Trabalho de Conclusão de Curso (Técnico em Química). Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, Escola Técnica Estadual - ETEC Trajano Camargo, Limeira, 2022.

BOTTON, P. H.; COSTA, M. S.; ARDAIS, A. P.; et al. Caffeine prevents disruption of memory consolidation in the inhibitory avoidance and novel object recognition tasks by scopolamine in adult mice. **Behavioural Brain Research**, v. 214, n. 2, p. 254–259, 2010.

BRASIL. **I Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira**. Brasília: Secretaria Nacional Antidrogas, 2007. Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio\\_padroes\\_consumo\\_alcool.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_padroes_consumo_alcool.pdf). Acesso em: 16 dez. 2023

BROWN, S. A.; TAPERT, S. F. Adolescence and the Trajectory of Alcohol Use: Basic to Clinical Studies. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1021, n. 1, p. 234–244, jun. 2004.

BUTLER, T. R.; PRENDERGAST, M. A. Neuroadaptations in Adenosine Receptor Signaling Following Long-Term Ethanol Exposure and Withdrawal. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 36, n. 1, p. 4–13, 2011. Acesso em: 27/11/2019.

CASILLAS-ESPINOSA, P. M.; POWELL, K. L.; O'BRIEN, T. J. Regulators of synaptic transmission: Roles in the pathogenesis and treatment of epilepsy. **Epilepsia**, v. 53, p. 41–58, dez. 2012.

CEDERBAUM, A. I. Alcohol Metabolism. **Clinics in Liver Disease**, v. 16, n. 4, p. 667–685, nov. 2012.

CENTRO DE INFORMAÇÕES SOBRE SAÚDE E ÁLCOOL [homepage]. CISA- **Centro De Informações Sobre Saúde e Alcool**. Disponível em: <<https://cisa.org.br/>>. Acesso em: 30 de dezembro de 2023.

CIPPITELLI, A.; ZOOK, M.; BELL, L.; 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. 538–546, 2010. Acesso em: 30/12/2019.

COELHO, J. E. et al. Overexpression of Adenosine A2A Receptors in Rats: Effects on Depression, Locomotion, and Anxiety. **Frontiers in Psychiatry**, v. 5, 13 jun. 2014.  
COLE-HARDING, S.; WILSON, J. R. Ethanol Metabolism in Men and women. **Journal of Studies on Alcohol**, v. 48, n. 4, p. 380–387, jul. 1987.

CONEGUNDES, Lara Silvia Oliveira et al. Binge drinking e beber frequente ou pesado entre os adolescentes: prevalência e fatores associados. **Jornal de Pediatria**, v. 96, p. 193-201, 2020.

COOKE, S. F. Plasticity in the human central nervous system. **Brain**, v. 129, n. 7, p. 1659–1673, 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/brain/article/129/7/1659/300527>>. Acesso em: 20/12/2019.

CORREIA, A. S.; CARDOSO, A.; VALE, N. Oxidative Stress in Depression: The Link with the Stress Response, Neuroinflammation, Serotonin, Neurogenesis and Synaptic Plasticity. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 470, 2023.

CREWS, F. T. et al. Adolescent Alcohol Exposure Persistently Impacts Adult Neurobiology and Behavior. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 4, p. 1074–1109, 27 set. 2016.

CUNHA, R. A. How does adenosine control neuronal dysfunction and neurodegeneration? **Journal of Neurochemistry**, v. 139, n. 6, p. 1019–1055, 16 ago. 2016.

CUNHA, R. A.; AGOSTINHO, P. M. Chronic Caffeine Consumption Prevents Memory Disturbance in Different Animal Models of Memory Decline. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. s1, p. S95–S116, 14 abr. 2010.

DELGADO, P. L. Depression: The Case for a Monoamine Deficiency. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61, n. suppl 6, p. 4165, 31 mar. 2000.

DOS SANTOS, É. R. Q.; MAIA, J. G. S.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; DO SOCORRO FERRAZ MAIA, C. Linalool as a Therapeutic and Medicinal Tool in Depression Treatment: A Review. **Current Neuropharmacology**, v. 20, n. 6, p. 1073–1092, 2022.

DUBOWSKI, K. M. Absorption, Distribution and Elimination of alcohol: Highway Safety aspects. **Journal of Studies on Alcohol, Supplement**, n. s10, p. 98–108, jul. 1985.

DUMAN, R. S.; LI, N. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1601, p. 2475–2484, 5 set. 2012.

DUNWIDDIE, T. V.; MASINO, S. A. The Role and Regulation of Adenosine in the Central Nervous System. **Annual Review of Neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 31–55, 2001.

EL YACOUBI, M.; LEDENT, C.; PARMENTIER, M.; BERTORELLI, R.; ONGINI, E.; COSTENTIN, J.; VAUGEUIS, J.M. Adenosine A2A receptor antagonists are potential antidepressants: evidence based on pharmacology and A2A receptor knockout mice. **Br J Pharmacol**, v.134: p. 68-77, 2001.

FERGUSON, J. N.; YOUNG, L. J.; HEARN, E. F.; et al. Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. **Nature Genetics**, v. 25, n. 3, p. 284–288, 2000. Acesso em: 20/9/2019.

FERNANDES, L. M. P. et al. Ethanol. **Addictive Substances and Neurological Disease**, p. 201–215, 2017.

FERNANDES, L. M. P. et al. Repeated Cycles of Binge-Like Ethanol Intake in Adolescent Female Rats Induce Motor Function Impairment and Oxidative Damage in Motor Cortex and Liver, but Not in Blood. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–14, 19 set. 2018.

FERNANDES, L. M. P.; CARTÁGENES, S. C.; BARROS, M. A.; et al. Repeated cycles of binge-like ethanol exposure induce immediate and delayed neurobehavioral changes and hippocampal dysfunction in adolescent female rats. **Behavioural Brain Research**, v. 350, p. 99–108, 2018.

FERRARI, F.; VILLA, R. F. The Neurobiology of Depression: an Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 4847–4865, 2016.

FERREIRA, Bruna Vitória de Oliveira et al. Atitudes de adolescentes escolares sobre o consumo de álcool e outras drogas: estudo transversal. **Revista Baiana de Enfermagem**, v. 36, 2022.

FREDHOLM, B. B. et al. Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. **Pharmacological Reviews**, v. 51, n. 1, p. 83–133, mar. 1999.

FREDHOLM, B. B. et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors—An Update. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 1, p. 1–34, 8 fev. 2011.

FREITAS, A. E. et al. Fluoxetine modulates hippocampal cell signaling pathways implicated in neuroplasticity in olfactory bulbectomized mice. **Behavioural Brain Research**, v. 237, p. 176–184, 15 jan. 2013.

GOMES, J. I.; FARINHA-FERREIRA, M.; REI, N.; et al. Of adenosine and the blues: The adenosinergic system in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder. **Pharmacological Research**, v. 163, p. 105363, 2021.

GONÇALVES, Nélio et al. Caffeine and adenosine A2A receptor inactivation decrease striatal neuropathology in a lentiviral-based model of Machado–Joseph disease. **Annals of neurology**, v. 73, n. 5, p. 655-666, 2013.

GOULLE, J.-P.; LACROIX, C. Alcoolémie : aspects médico-légaux. **Alcoolémie : aspects médico-légaux**, v. 43, n. 1, p. 17–32, 2000.

GRYGIEL-GÓRNIAK, B.; LIMPHAIBOOL, N.; PUSZCZEWICZ, M. Cytokine secretion and the risk of depression development in patients with connective tissue diseases. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 73, n. 6, p. 302–316, 2019.

GUERRI, C.; PASCUAL, M. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. **Alcohol**, v. 44, n. 1, p. 15–26, 2010.

GUO, B.; ZHANG, M.; HAO, W.; et al. Neuroinflammation mechanisms of neuromodulation therapies for anxiety and depression. **Translational Psychiatry**, v. 13, n. 1, 2023.

HAES, Tíssiana Marques et al. Álcool e sistema nervoso central. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 153-163, 2010.

HANSON, David J. **Preventing alcohol abuse: alcohol, culture, and control**. Bloomsbury Publishing USA, 1995.

HELLEMANS, K. G. C.; SLIWOWSKA, J. H.; VERMA, P.; WEINBERG, J. Prenatal alcohol exposure: Fetal programming and later life vulnerability to stress, depression and anxiety disorders. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 34, n. 6, p. 791–807, 2010.

IZQUIERDO, I. *Memória*. 3ª Edição. São Paulo. Artmed, 2018

IZQUIERDO, I. **Memória**. Porto Alegre: Artmed, 2002

JEAN-PIERRE GOULLÉ; GUERBET, M. Éthanol : pharmacocinétique, métabolisme et méthodes analytiques. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 73, n. 5, p. 313–322, 1 set. 2015.

JESULOLA, E.; MICALOS, P.; BAGULEY, I. J. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? **Behavioural Brain Research**, v. 341, p. 79–90, 2018.

KASTER, M. P. et al. Caffeine acts through neuronal adenosine A2A receptors to prevent mood and memory dysfunction triggered by chronic stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 25, p. 7833–7838, 8 jun. 2015.

KOLAHDOUZAN, Mahshad; HAMADEH, Mazen J. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative diseases. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 23, n. 4, p. 272-290, 2017.

LIEBER, C. S. Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS): the First 30 Years (1968-1998)-A Review. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 23, n. 6, p. 991–1007, jun. 1999.

MADEIRA, Maria H. et al. Having a coffee break: the impact of caffeine consumption on microglia-mediated inflammation in neurodegenerative diseases. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, 2017.

MANN, Karl et al. Neuroimaging in alcoholism: ethanol and brain damage. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 25, p. 104S-109S, 2001.

MARIANO, Thaís; CHASIN, Alice. Drogas psicotrópicas e seus efeitos sobre o sistema nervoso central. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz. Ano**, v. 6, 2019.

MARSHALL, A. W. et al. Ethanol Elimination in Males and Females: Relationship to Menstrual Cycle and Body Composition. **Hepatology**, v. 3, n. 5, p. 701–706, 21 set. 2007.

MARTÍN, A. V. Farmacología Y Toxicología Del Alcohol etílico, O etanol. **Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid**, v. 51, n. 51, p. 241–248, 2014.

MARTÍN, Alfonso Velasco et al. Farmacología y toxicología del alcohol etílico, o etanol. 2014.

MCCLAIN, J. A. et al. Ectopic hippocampal neurogenesis in adolescent male rats following alcohol dependence. **Addiction Biology**, v. 19, n. 4, p. 687–699, 11 jul. 2013.

MEDEIROS, Pollyanna Fausta Pimentel de et al. Binge drinking in Brazilian adolescents: results of a national household survey. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 38, p. e00077322, 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Folder - Álcool no Brasil: consumo em números**. Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/promocao-da-saude/folder-alcool-no-brasil-consumo-em-numeros/view>. Acesso em: 16 dez. 2023

MITCHELL, M. C.; TEIGEN, E. L.; RAMCHANDANI, V. A. Absorption and Peak Blood Alcohol Concentration After Drinking Beer, Wine, or Spirits. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 38, n. 5, p. 1200–1204, 21 mar. 2014.

MORETTI, M. et al. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. **Journal of Psychiatric Research**, v. 46, n. 3, p. 331–340, mar. 2012.

MÖYKKYNEN, T.; KORPI, E. R. Acute Effects of Ethanol on Glutamate Receptors. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, p. n/a-n/a, abr. 2012.

MOURA, Paula J ; GILBERTO FERNANDO XAVIER. Memória de reconhecimento social em ratos. **Psicologia Usp**, v. 21, n. 2, p. 355–389, 2010.

NAM, H. W. et al. Adenosine and Glutamate Signaling in Neuron-Glial interactions: Implications in Alcoholism and Sleep Disorders. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 36, n. 7, p. 1117–1125, 1 jul. 2012.

NAM, H. W. et al. Adenosine Transporter ENT1 Regulates the Acquisition of Goal-Directed Behavior and Ethanol Drinking through A2A Receptor in the Dorsomedial Striatum. **Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 10, p. 4329–4338, 6 mar. 2013.

NEHLIG, A. Effects of coffee/caffeine on brain health and disease: What should I tell my patients? **Practical Neurology**, v. 16, n. 2, p. 89–95, 16 dez. 2015.

NEHLIG, A. Is Caffeine a Cognitive Enhancer? **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. s1, p. S85–S94, 14 abr. 2010.

NIAAA. National Institute On Alcohol Abuse And Alcoholism. NIAAA council approves definition of binge drinking. **NIAAA newsletter**, v. 3, n. 3, p. 3, 2004.

OLIVEIRA, A. C. et al. Chronic ethanol exposure during adolescence through early adulthood in female rats induces emotional and memory deficits associated with morphological and molecular alterations in hippocampus. **Journal of Psychopharmacology**, v. 29, n. 6, p. 712–724, jun. 2015.

OLIVEIRA, A. N.; PINHEIRO, A. M.; BELÉM-FILHO, I. J. A.; et al. Unravelling motor behaviour hallmarks in intoxicated adolescents: methylmercury subtoxic-dose exposure and binge ethanol intake paradigm in rats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 22, p. 21937–21948, 2018.

OMS. **Global status report on alcohol and health 2018**. Organização Mundial da Saúde, 2018. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/274603/9789241565639-eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 05 jan. 2024

OSTROWSKA, J. et al. Green tea protects against ethanol-induced lipid peroxidation in rat organs. **Alcohol**, v. 32, n. 1, p. 25–32, jan. 2004.

PARIANTE, C. M.; LIGHTMAN, S. L. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. **Trends in Neurosciences**, v. 31, n. 9, p. 464–468, set. 2008.

PECHLIVANOVA, D. M. et al. Effect of long-term caffeine administration on depressive-like behavior in rats exposed to chronic unpredictable stress. **Behavioural Pharmacology**, v. 23, n. 4, p. 339–347, ago. 2012.

PEREIRA, L. M.; DE CASTRO, C. M.; GUERRA, L. T. L.; et al. Hippocampus and Prefrontal Cortex Modulation of Contextual Fear Memory Is Dissociated by Inhibiting De Novo Transcription During Late Consolidation. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 8, p. 5507–5519, 2019.

PETIT, G. et al. Gender differences in reactivity to alcohol cues in binge drinkers: A preliminary assessment of event-related potentials. **Psychiatry Research**, v. 209, n. 3, p. 494–503, out. 2013.

PIAZZA, Pier Vincenzo; LE MOAL, Michel. The role of stress in drug self-administration. **Trends in pharmacological sciences**, v. 19, n. 2, p. 67-74, 1998.

PINHEIRO, Bruno Gonçalves et al. The Role of the Adenosine System on Emotional and Cognitive Disturbances Induced by Ethanol Binge Drinking in the Immature Brain and the Beneficial Effects of Caffeine. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 11, p. 1323, 2022.

PLEKANCHUK, V. S.; PROKUDINA, O. I.; RYAZANOVA, M. A. Social behavior and spatial orientation in rat strains with genetic predisposition to catatonia (GC) and stereotypes (PM). **Vavilovskii Zhurnal Genetiki I Seleksii**, v. 26, n. 3, p. 281–289, 1 maio 2022.

PORSOLT, R. D. et al. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. **European Journal of Pharmacology**, v. 47, n. 4, p. 379–391, fev. 1978.

PREDIGER, R. D. S.; BATISTA, L. C.; TAKAHASHI, R. N. Caffeine reverses age-related deficits in olfactory discrimination and social recognition memory in rats. **Neurobiology of Aging**, v. 26, n. 6, p. 957–964, jun. 2005.

PREDIGER, R. D. S.; FERNANDES, D.; TAKAHASHI, R. N. Blockade of adenosine A2A receptors reverses short-term social memory impairments in spontaneously hypertensive rats. **Behavioural Brain Research**, v. 159, n. 2, p. 197–205, 2005.

PREDIGER, R. D. S.; FERNANDES, D.; TAKAHASHI, R. N. Blockade of adenosine A2A receptors reverses short-term social memory impairments in spontaneously hypertensive rats. **Behavioural Brain Research**, v. 159, n. 2, p. 197–205, 2005.

PREDIGER, Rui DS. Effects of caffeine in Parkinson's disease: from neuroprotection to the management of motor and non-motor symptoms. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. s1, p. S205-S220, 2010.

PRICE, J. L.; DREVETS, W. C. Neural circuits underlying the pathophysiology of mood disorders. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 16, n. 1, p. 61–71, jan. 2012.

QUEIROZ, L. Y.; DE OLIVEIRA, I. G.; CARTÁGENES, S. DE C.; et al. Repeated Cycles of Binge-Like Ethanol Exposure Induces Neurobehavioral Changes During Short- and Long-Term Withdrawal in Adolescent Female Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. e7207755, 2022.

RAMCHANDANI, V. A.; KWO, P. Y.; LI, T. K. Effect of Food and Food Composition on Alcohol Elimination Rates in Healthy Men and Women. **Journal of clinical pharmacology**, v. 41, n. 12, p. 1345–50, 2001.

REHM, J. et al. The relationship between different dimensions of alcohol use and the burden of disease-an update. **Addiction**, v. 112, n. 6, p. 968–1001, 20 fev. 2017.

REHM, J.; HASAN, O. S. M.; BLACK, S. E.; SHIELD, K. D.; SCHWARZINGER, M. Alcohol use and dementia: a systematic scoping review. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 11, n. 1, 2019.

RIBEIRO, J. A.; SEBASTIAO, A. M.; DE MENDONCA, A. Participation of adenosine receptors in neuroprotection. **Drug news & perspectives**, v. 16, n. 2, p. 80-86, 2003.

SANCHEZ, Zila M. A prática de binge drinking entre jovens e o papel das promoções de bebidas alcoólicas: uma questão de saúde pública. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 26, p. 195-198, 2017.

SCHUCKIT, Marc A.; SMITH, Tom L. Changes over time in the self-reported level of response to alcohol. **Alcohol and alcoholism**, v. 39, n. 5, p. 433-438, 2004.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature Protocols**, v. 7, n. 6, p. 1009–1014, 3 maio 2012.

SPEAR, L. P. Adolescent alcohol exposure: Are there separable vulnerable periods within adolescence? **Physiology & Behavior**, v. 148, p. 122–130, 2015.

SPEAR, L. P. Effects of adolescent alcohol consumption on the brain and behaviour. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 19, n. 4, p. 197–214, 15 fev. 2018a.

SPEAR, L. P. Effects of adolescent alcohol consumption on the brain and behaviour. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 19, n. 4, p. 197–214, 15 fev. 2018b.

SPEAR, L. P. The Adolescent Brain and Age-Related Behavioral Manifestations. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 4, p. 417–463, 2000. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10817843/>>.

VENGELIENE, V. et al. Neuropharmacology of alcohol addiction. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 2, p. 299–315, 29 jan. 2009.

VETRENO, R. P.; CREWS, F. T. Adolescent binge drinking increases expression of the danger signal receptor agonist HMGB1 and toll-like receptors in the adult prefrontal cortex. **Neuroscience**, v. 226, p. 475–488, dez. 2012.

WARDAS, J. Neuroprotective role of adenosine in the CNS. **Polish Journal of Pharmacology**, v. 54, n. 4, p. 313–326, 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12523485/>>. Acesso em: 3/8/2023.

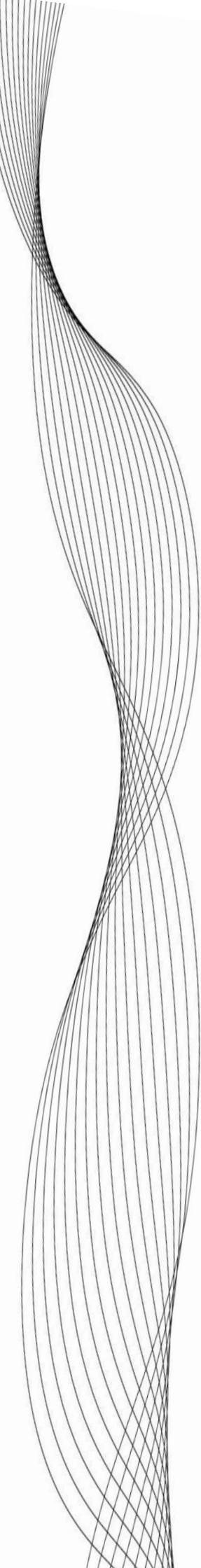
WHITE, A. M. What Happened? Alcohol, Memory Blackouts, and the Brain. **Alcohol Research & Health**, v. 27, n. 2, p. 186–196, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6668891/>>.

WILLNER, P. Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v. 52, n. 2, p. 90–110, 2005.

WITT, E. D. Research on Alcohol and Adolescent Brain development: Opportunities and Future Directions. **Alcohol**, v. 44, n. 1, p. 119–124, jan. 2010.

YAMADA, K.; KOBAYASHI, M.; KANDA, T. Involvement of adenosine A2A receptors in depression and anxiety. **International Review of Neurobiology**, v. 119, p. 373–393, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25175973/>>.

ZEIGLER, D. W.; WANG, C. C.; YOAST, R. A.; et al. The neurocognitive effects of alcohol on adolescents and college students. **Preventive Medicine**, v. 40, n. 1, p. 23–32, 2005.



---

**ANEXO**

---

## ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEUA



**UFPA**  
Universidade Federal do Pará

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "DEPRESSÃO INDUZIDA PELA EXPOSIÇÃO INTERMITENTE AO ÁLCOOL: EFEITOS DA INGESTÃO DA CAFEÍNA E DO BLOQUEIO DE LONGO PRAZO DE RECEPTORES DE ADENOSINA (A2A)", protocolada sob o CEUA nº 7646300323 (ID 002211), sob a responsabilidade de **Cristiane do Socorro Ferraz Maia** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 27/04/2023.

We certify that the proposal "DEPRESSION INDUCED BY INTERMITTENT EXPOSURE TO ALCOHOL: EFFECTS OF CAFFEINE INGESTION AND LONG-TERM BLOCKING OF ADENOSINE (A2A) RECEPTORS", utilizing 90 Heterogenics rats (90 females), protocol number CEUA 7646300323 (ID 002211), under the responsibility of **Cristiane do Socorro Ferraz Maia** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 04/27/2023.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **04/2023** a **12/2024**

Área: **Farmácia**

Origem: **Biotério da SACPA - Instituto Evandro Chagas**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **21 a 28 dias**

N: **90**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **50 a 100 g**

Local do experimento: **Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento (LAFICO)**

Belém, 31 de outubro de 2023

Prof. Dra. Barbarella de Matos Macchi  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. James Tony Lee  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Pará