

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**MONIQUE DA SILVA CAMPOLINO**

**EIXO INTESTINO-CÉREBRO E O ALCOOLISMO: MODULAÇÃO DA  
MICROBIOTA EM MODELO DE PRIVAÇÃO AO ÁLCOOL**

**CRICIÚMA**

**2026**

**MONIQUE DA SILVA CAMPOLINO**

**EIXO INTESTINO-CERÉBRO E O ALCOOLISMO: MODULAÇÃO DA  
MICROBIOTA EM MODELO DE PRIVAÇÃO AO ÁLCOOL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pacheco Rico

**CRICIÚMA**

**2026**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

C198e Campolino, Monique da Silva.  
Eixo intestino-cérebro e o alcoolismo :  
modulação da microbiota em modelo de privação  
ao álcool / Monique da Silva Campolino. - 2026.  
64 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do  
Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2026.  
Orientação: Eduardo Pacheco Rico.

1. Alcoolismo. 2. Eixo intestino-cérebro. 3.  
Microbiota. 4. Transtornos relacionados ao uso  
de álcool. I. Título.

CDD. 22. ed. 616.861

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101  
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC




UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)  
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019


---

### ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – N° 503

Com início às 13 (treze) horas e 30 (trinta) minutos do dia 9 (nove) de março de 2026 (dois mil e vinte e seis), realizou-se, na Sala 204 do Bloco XXI-A, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **MONIQUE DA SILVA CAMPOLINO**, sob a orientação do **Prof. Dr. Eduardo Pacheco**, intitulada **“EIXO INTESTINO-CÉREBRO E O ALCOOLISMO: MODULAÇÃO DA MICROBIOTA EM MODELO DE PRIVAÇÃO AO ÁLCOOL”**. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Alexandra Ioppi Zugno (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada, Profa. Dra. Josiane Budni (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada, e Profa. Dra. Lara Canever (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada. Com o resultado final: **APROVADA**, a aluna finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de **MESTRA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Os trabalhos foram concluídos às 15h (quinze) horas, dos quais eu, Henrique Manenti Felisberto, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Samira da Silva Valvassori, Coordenadora Adjunta do Programa. Criciúma, 9 (nove) de março de 2026 (dois mil e vinte e seis).

Documento assinado digitalmente  
 **SAMIRA DA SILVA VALVASSORI**  
Data: 11/03/2026 15:12:48-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

**Profa. Dra. Samira da Silva Valvassori**  
Coordenadora Adjunta do PPGCS

Documento assinado digitalmente  
 **HENRIQUE MANENTI FELISBERTO**  
Data: 11/03/2026 08:37:34-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

**Henrique Manenti Felisberto**  
Secretário do PPGCS

## FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Psiquiatria Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNESC.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que atendeu às minhas orações desde o início, na aprovação para ingressar no programa de pós-graduação e durante o processo, me dando forças para resistir às adversidades que surgiram ao longo do caminho.

Também sou grata à minha mãe Fátima, que mesmo sem entender muito o que seria o mestrado, sempre demonstrou apoio, auxílio e amor.

Um agradecimento especial ao meu orientador, Dr. Eduardo Pacheco Rico, por aceitar ser meu orientador, mesmo sem antes me conhecer, e me orientar de fato como um mestre, sempre aproveitando todas as oportunidades para contribuir com os seus conhecimentos.

Agradeço a todos do Laboratório de Psiquiatria Translacional que, de alguma forma, me auxiliaram para que esse projeto fosse finalizado, em especial aos colegas e alunos de iniciação científica do grupo de pesquisa em alcoolismo: Guilherme, Amanda, Wuesllen, Rebeca e ao meu colega de pós-graduação, Nicollas dos Santos da Silva, que se fez presente nas aulas, se tornando um grande amigo.

Grata à Universidade do Extremo Sul Catarinense por ser o local que me acolheu desde a graduação, esteve comigo no mestrado e agora na residência multiprofissional. Agradeço também à CAPES pelo investimento, tornando possível a realização desse sonho, e, especificamente, ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde e a todos os professores que o compõem.

Sou grata à empresa Gabbia Biotecnologia que forneceu gentilmente as cepas utilizadas no experimento sem nenhum conflito de interesse.

Obrigada ao Centro de Diagnósticos Anátomo-Patológicos – CEDAP, especificamente à professora Karina, que se disponibilizou para ceder seu laboratório para análises histológicas, e à médica residente Camila por ter realizado a análise propriamente dita e ter debatido os achados juntamente comigo.

Por fim, agradeço à banca examinadora por ter aceitado o convite e ter disponibilizado o seu tempo e talento, bem como a todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.

*“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é tempo de compreender mais, para temer menos.”  
Marie Curie*

## RESUMO

O transtorno por uso de álcool é um dos principais fatores de risco para morte e incapacidade pessoal, considerado um transtorno complexo e generalizado no qual as opções farmacoterapêuticas ainda são de eficácia limitada. Seu consumo excessivo é a terceira causa de comprometimento a saúde em todo o mundo, de acordo com a OMS (2018), afetando comportamento, funções cognitivas, nociceptiva, função hepática, e a microbiota intestinal, prejudicando a absorção de nutrientes através de alterações no equilíbrio da mucosa intestinal, favorecendo o crescimento das bactérias patogênicas e inibindo o crescimento de outras. Já foram evidenciados estudos que demonstram a redução da recaída ao álcool após tratamento com probióticos. Os probióticos são microrganismos que, quando fornecidos em quantidade adequada ao hospedeiro, conferem benefícios à saúde. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o uso de probióticos na modulação da microbiota intestinal e no comportamento frente ao consumo de álcool, incluindo neurotransmissão, defesa antioxidante e danos histológicos. Foram utilizados 48 animais divididos em 4 grupos, cada um com 12 ratos (Controle; Probiótico; Álcool; Álcool + Probiótico). Durante 5 semanas, os ratos tiveram acesso a dois frascos: um contendo água e outro com 20% de etanol (v/v em água consumida pelos animais). Do 35º ao 37º dia, os animais foram privados da exposição *ad libitum* de álcool e, após, quantificado o padrão de consumo através da sua reexposição. Para os grupos que receberam o tratamento com probiótico, uma dose por dia foi ofertada por gavagem, durante 8 dias, contendo no blend  $6 \times 10^9$  UFC/1ml de mistura de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Saccharomyces boulardii*. Dos resultados, embora o padrão de consumo e comportamento ansiogênico realizado através do teste de cruz elevado, não tenham sido alterados, tanto a exposição ao álcool quanto também o tratamento com probióticos, foram capazes de modular a neurotransmissão da dopamina, com uma concentração reduzida no grupo álcool + probióticos (G4) indicando uma regulação compensatória, como também os parâmetros de defesa antioxidante, no córtex e hipocampo, incluindo uma redução significativa da atividade da catalase e da glutatona redutase do grupo álcool + probiótico, indicando uma defesa antioxidante. As partes histológicas hepática e intestinal não apresentaram reversão completa das lesões, devido à grave agressão alcoólica. Os achados indicam que intervenções de curta duração não são suficientes para desfechos complexos, como os comportamentais, entretanto, a modulação no sistema nervoso central já havia sido iniciada, através da resposta antioxidante e da modulação dopaminérgica, ou seja, a suplementação probiótica exerce efeitos relevantes, mesmo na ausência imediata de mudanças comportamentais e histológicas.

**Palavras-chave:** Microbiota; Etanol; Probiótico; Transtorno por uso de álcool.

## ABSTRACT

Alcohol use disorder is one of the main risk factors for mortality and personal disability and is considered a complex and widespread condition for which pharmacotherapeutic options still have limited efficacy. According to the World Health Organization (2018), excessive alcohol consumption is the third leading cause of global health impairment, affecting behavior, cognitive and nociceptive functions, liver function, and the intestinal microbiota. It also impairs nutrient absorption through alterations in the balance of the intestinal mucosa, promoting the growth of pathogenic bacteria while inhibiting beneficial ones. Previous studies have demonstrated a reduction in alcohol relapse following probiotic treatment. Probiotics are microorganisms that, when administered in adequate amounts to the host, confer health benefits. Therefore, the present study aimed to evaluate the use of probiotics in modulating the intestinal microbiota and behavior in response to alcohol consumption, including neurotransmission, antioxidant defense, and histological damage. A total of 48 animals were divided into four groups, each consisting of 12 rats (Control; Probiotic; Alcohol; Alcohol + Probiotic). For five weeks, the rats had access to two bottles: one containing water and the other containing 20% ethanol (v/v in the consumed solution). From day 35 to day 37, the animals were deprived of ad libitum alcohol exposure and subsequently re-exposed to quantify consumption patterns. For the groups receiving probiotic treatment, one daily dose was administered by gavage for eight days, containing a blend of  $6 \times 10^9$  CFU/mL composed of *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Saccharomyces boulardii*. Regarding the results, although ethanol consumption patterns and anxiety-like behavior assessed through the elevated plus maze test were not altered, both alcohol exposure and probiotic treatment were able to modulate dopaminergic neurotransmission, with reduced dopamine concentration observed in the Alcohol + Probiotic group (G4), suggesting a compensatory regulatory mechanism. Modulation of antioxidant defense parameters was also observed in the cortex and hippocampus, including a significant reduction in catalase and glutathione reductase activity in the Alcohol + Probiotic group, indicating activation of antioxidant defense mechanisms. However, hepatic and intestinal histological analyses did not show complete reversal of lesions due to the severe alcohol-induced damage. These findings indicate that short-term interventions are not sufficient to produce complex outcomes, such as behavioral changes. Nevertheless, modulation within the central nervous system had already been initiated through antioxidant responses and dopaminergic modulation. In other words, probiotic supplementation exerts relevant biological effects even in the absence of immediate behavioral and histological changes.

**Keywords:** Microbiota; Ethanol; Probiotic; Alcohol use disorder.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1. TRANSTORNO POR USO DE ÁLCOOL .....	12
1.2. MICROBIOTA INTESTINAL E PERMEABILIDADE .....	14
1.3. EIXO INTESTINO- CÉREBRO.....	16
1.4. PROBIÓTICOS .....	17
1.5. LESÕES HEPÁTICAS INDUZIDAS PELO ÁLCOOL.....	18
1.6. NEUROINFLAMAÇÃO E ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS NA ABSTINÊNCIA ALCOÓLICA .....	19
1.7. ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO PELO ÁLCOOL E SUA MODULAÇÃO POR PROBIÓTICOS.....	21
2. JUSTIFICATIVA .....	23
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>24</b>
3.1. OBJETIVO GERAL .....	24
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>25</b>
4.1. ANIMAIS.....	25
4.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	25
4.3. PROBIÓTICOS .....	26
4.4 ANÁLISES COMPORTAMENTAIS.....	27
<b>4.4.1 Teste Comportamental do Labirinto em Cruz Elevado</b> .....	<b>27</b>
<b>4.4.2 Teste da Quantidade Total de Álcool Consumida</b> .....	<b>27</b>
4.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS .....	27
<b>4.5.1 Preparação das Amostras</b> .....	<b>27</b>
<b>4.5.2 Dosagem de proteínas</b> .....	<b>28</b>
<b>4.5.3 Dosagem dos níveis de monoaminas</b> .....	<b>28</b>
<b>4.5.4 Parâmetros de estresse oxidativo</b> .....	<b>28</b>
<b>4.5.4.1 Atividade da Superóxido dismutase (SOD)</b> .....	<b>28</b>
<b>4.5.4.2 Atividade da Catalase (CAT)</b> .....	<b>29</b>
<b>4.5.4.3 Atividade da Glutaciona Redutase (GR)</b> .....	<b>29</b>

<b>4.6 TESTE HISTOLÓGICO .....</b>	<b>29</b>
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
5. RESULTADOS .....	30
5.1. REEXPOSIÇÃO AO ETANOL APÓS PRIVAÇÃO.....	30
5.2. TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	31
5.3. NÍVEIS DE MONOAMINAS (DOPAMINA, SEROTONINA).....	32
5.4. ESTRESSE OXIDATIVO (CATALASE, SOD, GR).....	33
5.5. HISTOLOGIA HEPÁTICA .....	37
5.6. HISTOLOGIA DO DUODENO E ÍLEO.....	39
6. DISCUSSÃO .....	43
7. CONCLUSÃO.....	50
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO A - APROVAÇÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS .....</b>	<b>66</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. TRANSTORNO POR USO DE ÁLCOOL

O etanol ( $C_2H_5OH$ ) é um álcool primário composto por dois átomos de carbono, seis de hidrogênio e um de oxigênio. A estrutura molecular pode ser descrita como um grupo etila ( $-CH_2-CH_3$ ) ligado a um grupo hidroxila ( $-OH$ ) (Wishart et al., 2022). Por suas propriedades físico-químicas, o etanol atravessa facilmente as membranas celulares e afeta diversos sistemas do organismo, contribuindo para seus efeitos psicoativos e o risco de dependência.

O Transtorno por Uso de Álcool (AUD, do inglês *Alcohol Use Disorder*) é conhecido popularmente como dependência de álcool ou alcoolismo, no ano de 2012, cerca de 3,3 milhões de pessoas morreram em decorrência do consumo de etanol, o que representa 1 em cada 20 óbitos ao redor do mundo (WHO, 2014). A maioria das pessoas começa a consumir álcool devido às sensações de euforia ou para uso recreativo; em seguida, desenvolve-se a tolerância devido à dessensibilização dos receptores de GABA e/ou à ativação de enzimas hepáticas, levando a um consumo descontrolado (Wang et al., 2020).

De acordo com Sarasa-Renedo et al. (2014), o consumo de álcool está relacionado a problemas familiares, violência doméstica, abuso infantil, negligência com o cuidado, escola, trabalho (absenteísmo, baixa produtividade), problemas econômicos e comunitários (ruído, incômodo, roubo, comportamento sexual violento e desprotegido, brigas etc.), que afetam tanto o indivíduo quanto outras pessoas. O transtorno por uso de álcool representa um fardo econômico crescente em todo o mundo, cujo custo total é estimado na faixa de US\$ 200-700 bilhões anuais, tanto na Europa como nos Estados Unidos (Barrio et al., 2017; Baumberg, 2006; Sacks et al., 2015).

Inicialmente, o álcool aumenta a liberação de dopamina, promovendo a sensação de bem-estar; entretanto, o consumo crônico leva à redução da liberação de dopamina, diminuindo a sensibilidade do cérebro a recompensas naturais, fazendo com que o indivíduo precise de doses maiores de álcool para obter um estado de euforia. Sendo assim, o sistema dopaminérgico está envolvido na dependência por uso de álcool (Dikici, 2020). Além de danos neuroquímicos, a parte física do cérebro também é afetada, contribuindo ainda mais para a dependência, já que uma vulnerabilidade microestrutural da fimbria/fórnice explica importantes alterações cognitivas encontradas nos estados de

abstinência pós-dependentes de álcool em humanos e modelos animais (Pérez-Cervera *et al.*, 2023). Por se tratar de uma substância tóxica, uma das principais consequências são os danos hepáticos; o metabolismo do álcool gera espécies reativas de oxigênio (ROS), levando a danos celulares e inflamação (Chen *et al.*, 2023). A via de sinalização TLR4/NF- $\kappa$ B é ativada pelo álcool, promovendo a liberação de citocinas inflamatórias que exacerbam a lesão hepática (Subramaniam *et al.*, 2023). O álcool também interrompe o metabolismo lipídico, levando à esteatose e mais lesões hepáticas (Xiao *et al.*, 2024).

A hepatite alcoólica é uma doença hepática grave caracterizada por inflamação e danos ao fígado causados pelo consumo excessivo de álcool. Essa condição representa um problema de saúde significativo em todo o mundo, pois pode progredir para doenças hepáticas mais graves, incluindo cirrose e insuficiência hepática (Haider *et al.*, 2024). O consumo crônico de álcool pode impactar negativamente o metabolismo de vitaminas e minerais, favorecendo o desenvolvimento de deficiências nutricionais, esse efeito ocorre não apenas devido a uma possível redução na ingestão alimentar, mas também porque o álcool compromete a absorção de nutrientes no trato gastrointestinal. Além disso, fatores como estresse oxidativo, disfunções intestinais e o aumento da excreção de micronutrientes hidrossolúveis agravam esse quadro (CISA, 2023).

Essas deficiências nutricionais podem agravar os danos ao fígado e ao sistema nervoso central. O estresse oxidativo causado pelo álcool leva ao acúmulo de danos ao funcionamento proteico, o que está associado à perda neuronal e ao declínio cognitivo (Mudyanselage *et al.*, 2024). Uma complicação grave do transtorno por uso de álcool é a síndrome de Korsakoff, caracterizada por déficits severos de memória devido à deficiência de tiamina, geralmente resultante da desnutrição associada ao consumo excessivo de álcool (Morand *et al.*, 2024).

As farmacoterapias atuais são frequentemente caracterizadas por eficácia limitada e não mostram resultados promissores no uso clínico. Além disso, a considerável heterogeneidade dos pacientes com AUD torna especialmente desafiador projetar um único medicamento capaz de tratar pacientes com o transtorno por uso de álcool como um todo (Lohoff, 2022). As taxas de recaída após o tratamento são um fator preocupante; muitos pacientes retornam ao uso de substâncias nos primeiros 3 meses após o tratamento, com taxas de recaída de cerca de 70% em 1 ano após o tratamento (Yazici; Bardakci, 2023).

## 1.2. MICROBIOTA INTESTINAL E PERMEABILIDADE

O intestino humano oferece um habitat para diversos microrganismos, que desempenham um papel crucial na homeostase do ecossistema intestinal, contribuindo para a manutenção da saúde do corpo humano. Esse conjunto de microrganismos é denominado microbiota intestinal. A barreira intestinal absorve nutrientes essenciais, fornecendo fontes de energia para o indivíduo, mas também atua como uma linha defensiva, resistindo à invasão de microrganismos e toxinas prejudiciais. Já a permeabilidade intestinal refere-se ao estado funcional mensurável da barreira intestinal, descrevendo a capacidade seletiva do trato gastrointestinal de permitir a passagem de íons, moléculas e nutrientes (Li et al., 2024).

Essa capacidade pode ser alterada quando a microbiota intestinal entra em desequilíbrio, com uma predominância de microrganismos patogênicos em relação aos benéficos, condição conhecida como disbiose (Fu et al., 2025). A disbiose pode ser desencadeada por vários fatores, como maus hábitos alimentares, uso excessivo de medicamentos e problemas crônicos de saúde, aumentando o risco de doenças inflamatórias e outras complicações (Cazella et al., 2024). Hetta et al. (2024) afirmam que a disbiose no microbioma intestinal aumenta o afinamento da camada de muco e a destruição das junções apertadas, o que eleva a permeabilidade da parede intestinal a diferentes patógenos. Esse processo subsequente estimula respostas inflamatórias e imunológicas, sendo um fator importante para o desenvolvimento de doenças gastrointestinais, como a doença inflamatória intestinal.

A disbiose também está associada a doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, em que pode aumentar a neuroinflamação e afetar as funções cognitivas através do eixo intestino-cérebro (Baciuk-Souza et al., 2024). Liu et al. (2021) destacam a relação entre obesidade e microbiota intestinal: a disbiose está intimamente ligada à obesidade, com muitos microrganismos intestinais identificados como responsáveis pelo aumento da absorção de energia do hospedeiro, o que favorece o apetite central, o armazenamento de gordura e a inflamação crônica.

Alterações na composição da microbiota intestinal podem exacerbar o estresse oxidativo, danos celulares e ao ácido desossiribonucleico (DNA), inflamação e alterações

epigenéticas, aumentando o risco de doenças metabólicas, como resistência à insulina, dislipidemia, obesidade e hipertensão (Abdolmaleky; Zhou, 2024). A "Dieta Ocidental", característica dos países ocidentais, é rica em gordura e pobre em fibras, com um alto consumo de alimentos ultraprocessados. Essas refeições são também extremamente ricas em aditivos alimentares, como emulsificantes e adoçantes artificiais, que alteram a microbiota intestinal (Gibiino et al., 2021).

O consumo de álcool também é um fator que contribui para o surgimento da disbiose, pois reduz alguns gêneros bacterianos e aumenta outros (Yan et al., 2011). Além disso, o álcool dificulta o metabolismo de aminoácidos, esteroides, lipídios, carnitina e ácidos biliares, o que resulta em níveis reduzidos de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) e de ácidos graxos saturados de cadeia longa (LCFAs) no intestino após a administração de etanol (Chen et al., 2015). O álcool gera danos morfológicos no epitélio intestinal, incluindo a redução das vilosidades, reduzindo assim a área de contato, dificultando a absorção de nutrientes e aumentando a permeabilidade. Um estudo feito por Moraes et al. (2024) com ratos mostrou que, independentemente da quantidade de álcool, os grupos de ratos com etanol tiveram redução das vilosidades, comparados ao grupo controle.

Da mesma forma que uma dieta rica em gordura saturada e pobre em fibras é fator para o desenvolvimento da disbiose, uma alimentação saudável pode reverter esse quadro e preveni-lo, incluindo fibras, vitaminas e polifenóis (Moura; Buckley, 2025). Estudos também demonstram a melhora através de nutracêuticos contendo prebióticos, como frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GOS), leveduras ( $\beta$ -glucanas) e minerais (Mg, Se, Zn) (Santamarina Et al., 2024). Microrganismos vivos também são utilizados, chamados de probióticos, o termo encontra suas raízes no grego antigo e significa "para a vida" e mostraram efeitos positivos sobre a microbiota intestinal para melhorar aspectos gerais da saúde (Maftei et al., 2024).

### 1.3. EIXO INTESTINO- CÉREBRO

O eixo intestino-cérebro é constituído por rotas bidirecionais que utilizam vias de comunicação como o sistema nervoso parassimpático (especialmente o nervo vago), o sistema imunológico, o sistema neuroendócrino e o sistema circulatório, que permitem a passagem de metabólitos e neurotransmissores produzidos pelo intestino (Carabotti et al., 2015). O fígado também faz parte desse eixo por diversos motivos, como a conexão física através da veia porta e o influxo sanguíneo direcionado para o fígado a partir dos intestinos. Com a barreira intestinal prejudicada, metabólitos inflamatórios podem ser translocados para o fígado (Kolodziejczyk et al., 2019).

No fígado, as células de Kupffer (macrófagos residentes) expressam o receptor *Toll-like 4* (TLR4), que reconhece o LPS e outros padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), desencadeando o recrutamento e a ativação de outras células inflamatórias (Koyama; Brenner, 2017). Além dessa resposta imunológica local, a comunicação sistêmica e a modulação do comportamento e da homeostase ocorrem por meio de múltiplas rotas do eixo intestino-cérebro. Essas vias incluem: a via endócrina mediada pelo cortisol; as vias neurais, envolvendo o nervo vago e o sistema nervoso entérico; as vias metabólicas, através das quais a microbiota produz precursores de neurotransmissores (como o triptofano) e ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs); e a via imunológica (Ouabbou et al., 2020).

A disbiose intestinal pode contribuir para a associação entre alterações imunológicas e transtornos mentais, pois favorece um estado pró-inflamatório no intestino, permitindo a passagem de moléculas inflamatórias, como lipooligossacarídeos e certos aminoácidos, para a corrente sanguínea. Esse processo pode levar à desregulação da resposta imune e ao reconhecimento anômalo de antígenos. Dessa forma, a microbiota intestinal desempenha um papel fundamental nos transtornos mentais por meio do eixo intestino-cérebro (Ouabbou et al., 2020).

Um fator que contribui para a desregulação da microbiota, afetando negativamente o sistema nervoso central (SNC), é o álcool, que altera a quantidade de bactérias intestinais, aumenta a permeabilidade intestinal e provoca inflamação sistêmica. Esses fatores estão positivamente correlacionados com sintomas como

depressão e desejo por álcool, contribuindo para o desenvolvimento e manutenção da dependência do álcool (Leclercq et al., 2012). Além disso, como já citado anteriormente, o consumo crônico de álcool contribui para a deficiência nutricional, especialmente das vitaminas do complexo B, o que pode impactar também os transtornos mentais, pois esses nutrientes são essenciais para a síntese de neurotransmissores e neurônios. Níveis adequados dessas vitaminas são indispensáveis para a regulação do humor e afetam neurotransmissores ligados à depressão e à ansiedade (Zhao et al., 2024).

#### 1.4. PROBIÓTICOS

A microbiota intestinal humana consiste em diversas bactérias essenciais para a digestão, metabolismo e função imunológica. Bactérias benéficas, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, auxiliam na quebra de carboidratos, na produção de vitaminas e no suporte imunológico (Kho; Lal, 2018), um exemplo disso são as espécies de *Lactobacillus*, que produzem substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas, que inibem o crescimento de bactérias nocivas, contribuindo para um microbioma intestinal equilibrado (Paul et al., 2025). Em contraste, bactérias nocivas como *Fusobacterium nucleatum* aderem e invadem as células epiteliais, facilitando um ambiente pró-inflamatório e proporcionando condições propícias para o desenvolvimento de câncer (Alon-Maimon et al., 2022).

Os probióticos são definidos como "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro" (O'mahony et al., 2014). Esses microrganismos são excelentes para a microbiota intestinal, aderindo à mucosa intestinal, fortalecendo as barreiras epiteliais, modulando a imunidade, excluindo competitivamente com patógenos e produzindo antimicrobianos (Paul et al., 2025).

A microbiota intestinal mantém uma conexão complexa com diversos órgãos, e seu desequilíbrio, como a disbiose e o aumento da permeabilidade intestinal, pode contribuir para o desenvolvimento de várias doenças que afetam esses sistemas, logo, tratar a microbiota pode melhorar, de forma indireta, outras doenças (Zhang et al., 2024). Isso inclui os distúrbios na saúde mental, por meio de mecanismos neurais, endócrinos e imunoinflamatórios, afetando, inclusive, transtornos como o AUD. Embora os

mecanismos neuronais exatos subjacentes a esse fenômeno ainda não sejam totalmente compreendidos, as evidências sugerem que a neuroinflamação pode contribuir plausivelmente para os sintomas de abstinência de álcool e o desejo por álcool (Amadiou et al., 2022).

A melhora da microbiota intestinal pode desempenhar um papel importante no tratamento de transtornos mentais, como a redução da recidiva ao consumo de álcool. Um estudo de Ezquer et al. (2022) demonstrou que ratos que consumiram etanol por 33 dias tiveram uma redução significativa na reexposição ao álcool após o tratamento com *Lactobacillus-GG*. O consumo excessivo de álcool, que durava 60 minutos inicialmente (com doses de 1,65–1,75 g de etanol/kg), foi reduzido em até 80% pelo tratamento, resultando numa diminuição significativa da recidiva alcoólica nas primeiras 24 horas após a reexposição ao etanol. Além disso, o tratamento aumentou o consumo de água pelos animais.

Essas descobertas ressaltam o potencial terapêutico de direcionar a microbiota intestinal para aliviar os sintomas de transtornos de saúde mental. Essa compreensão em evolução sugere que os tratamentos probióticos e prebióticos, juntamente com as modificações dietéticas, podem oferecer novos caminhos para gerenciar e tratar condições de saúde mental (Paul et al., 2025).

## 1.5. LESÕES HEPÁTICAS INDUZIDAS PELO ÁLCOOL

O álcool é metabolizado principalmente no fígado pela álcool desidrogenase (ADH) uma enzima primária, que converte o álcool em acetaldeído esse é rapidamente convertido em acetato pela enzima aldeído desidrogenase (ALDH), o acetato é posteriormente metabolizado em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), ácidos graxos e água nos tecidos periféricos (Hyun et al., 2021). O acetaldeído é altamente tóxico e, quando acumulado, desencadeia estresse oxidativo, peroxidação lipídica e disfunção mitocondrial, contribuindo para lesão hepática progressiva (Li et al., 2023).

A esteatose hepática alcoólica é a primeira manifestação clínica no fígado das doenças hepáticas alcoólicas (ALD, do inglês *Alcoholic Liver Disease*), isso se deve ao comprometimento das vias do metabolismo lipídico principalmente aquelas mediadas por SIRT1 e AMPK o álcool inibe a SIRT1 e sua inibição leva à aumento da lipogênese (via

SREBP-1c) e redução da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, favorecendo o acúmulo de gordura no fígado, também inibe a AMPK diminuindo assim a oxidação de ácidos graxos, essas vias interagem entre si e o álcool compromete essa interação (You et al., 2015).

A hepatite é uma doença hepática caracterizada pela inflamação do fígado, que pode ser causada por diversos fatores, incluindo vírus e o consumo excessivo de álcool. O álcool provoca hepatite devido à sua toxicidade direta, ao estresse oxidativo gerado pelos radicais livres produzidos durante seu metabolismo hepático e à ativação de uma resposta inflamatória, que envolve a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , as quais intensificam a inflamação no tecido hepático (Gao; Bataller, 2011).

Além da hepatite, o consumo crônico de álcool contribui para o desenvolvimento da fibrose hepática, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido conjuntivo no fígado. A cirrose representa o estágio avançado dessa fibrose, podendo levar à insuficiência hepática. Nesse ambiente de inflamação crônica e regeneração celular desordenada, o risco de mutações genéticas aumenta, favorecendo o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (CHC), que é o tipo mais comum de câncer primário do fígado. Embora diversos outros fatores também contribuam para a carcinogênese hepática, é indiscutível que a presença de um microambiente inflamatório crônico constitui um importante fator de risco para o surgimento do câncer (Seitz et al., 2022).

## 1.6. NEUROINFLAMAÇÃO E ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS NA ABSTINÊNCIA ALCOÓLICA

De acordo com Dharavath et al. (2023), o consumo crônico de álcool promove um desequilíbrio entre os neurotransmissores glutamato (excitatório) e GABA (inibitório). A exposição frequente ao etanol potencializa a neurotransmissão gabaérgica e inibe a glutamatérgica por meio dos receptores NMDA. Com o tempo, o cérebro adapta-se quimicamente à presença do etanol, estabelecendo um novo equilíbrio neuroquímico no qual a substância torna-se parte integrante da função neuronal. A retirada abrupta do etanol desencadeia um aumento na atividade glutamatérgica, favorecendo a

hiperexcitabilidade e contribuindo para os sintomas da abstinência, já que o cérebro estava condicionado a níveis elevados de GABA.

O estudo de Dahchour e Ward (2022) demonstrou que o consumo agudo de etanol promove um aumento significativo na concentração extracelular de dopamina no núcleo accumbens, uma única dose de álcool é suficiente para estimular a liberação de dopamina, desencadeando efeitos reforçadores associados à sensação de prazer. No entanto, exposições crônicas ao etanol induzem uma adaptação neuroquímica, resultando em uma resposta dopaminérgica atenuada a novas doses — fenômeno compatível com o desenvolvimento de tolerância. Durante a abstinência, há uma queda acentuada nos níveis basais de dopamina, o que contribui para a recaída.

Paralelamente, o processo de abstinência desencadeia uma resposta inflamatória significativa no cérebro, caracterizada pela ativação da micróglia e o aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina-6 (IL-6) o etanol e seus metabólitos podem comprometer a integridade da barreira hematoencefálica, facilitando a entrada de moléculas inflamatórias (Walter et al., 2017).

A neuroinflamação alimenta o desequilíbrio neuroquímico: ela inibe o sistema dopaminérgico (reduz prazer e motivação) e super estimula o glutamatérgico (aumenta estresse e neurotoxicidade). Essa interação entre inflamação e neurotransmissores é uma das causas centrais dos sintomas comportamentais e cognitivos da abstinência alcoólica (Gipson et al., 2021). Nesse contexto, a disbiose ocasionada pelo álcool aumenta a permeabilidade intestinal, permitindo que metabólitos e endotoxinas entrem na corrente sanguínea e, através do eixo intestino-cérebro, contribuam para a intensificação da neuroinflamação. Estudos demonstram que a modulação da microbiota intestinal por meio da administração de probióticos pode reduzir a inflamação no cérebro, atenuando os efeitos neurocomportamentais da abstinência alcoólica (Chen et al., 2022).

## 1.7. ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO PELO ÁLCOOL E SUA MODULAÇÃO POR PROBIÓTICOS

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade antioxidante do organismo. Durante o metabolismo do álcool, especialmente no fígado, ocorre a geração excessiva de ROS, principalmente pela atividade da enzima citocromo P450 2E1 (CYP2E1), além da conversão de etanol em acetaldeído, um metabólito altamente tóxico e pró-oxidante (Ceni et al., 2014). O acetaldeído, além de ser altamente reativo, contribui diretamente para a formação de ligações anormais com proteínas e lipídios, gerando disfunções estruturais e funcionais nas células hepáticas. Em paralelo, a ativação da CYP2E1 não apenas intensifica a conversão de etanol, mas também promove reações de oxidação incompleta, com liberação excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Cederbaum; Lu; Wu, 2009).

O fígado por ser o órgão metabolizador do álcool acaba estando mais suscetível aos efeitos do estresse oxidativo, esse excesso de ROS compromete a integralidade estrutural e funcionalidade dos hepatócitos, quando os hepatócitos sofrem danos no DNA, sua capacidade de reparar esse material genético e de manter a expressão normal dos genes fica comprometida contribuindo para o desenvolvimento da Doença Hepática Alcoólica (DHA) a própria doença sinaliza o sistema imune havendo liberação de citocinas pró-inflamatórias, a presença da inflamação agrava ainda mais o estresse oxidativo, formando um ciclo de lesão contínua, que contribui para a progressão da doença (Lai et al., 2024).

O cérebro também é altamente vulnerável ao estresse oxidativo por consumir muito oxigênio, além de ter menos mecanismos de defesa antioxidante. De acordo com Mudyanselage et al. (2024), o álcool ocasiona lesão neural com ROS mitocondrial elevado, queda no ATP e acúmulo de proteínas danificadas. Esses processos resultam em disfunção mitocondrial, que compromete a produção energética essencial para a sobrevivência e funcionamento dos neurônios, contribuindo para o declínio cognitivo e neurodegeneração associada ao consumo crônico de álcool.

O uso de probióticos tem se mostrado uma estratégia eficaz na modulação do estresse oxidativo e da inflamação induzidos pelo álcool. De acordo com o estudo experimental de Hsieh et al. (2021), os probióticos estimulam a síntese e a regeneração da glutathiona reduzida (GSH) no fígado, eles também aumentam a expressão e a atividade da glutathiona peroxidase (GPx), potencializando a neutralização dos peróxidos e protegendo as células hepáticas contra o estresse oxidativo, conseqüentemente, também reduzindo a inflamação.

## 2. JUSTIFICATIVA

O consumo nocivo de álcool configura-se como um relevante problema de saúde pública, uma vez que está associado a múltiplos danos sistêmicos, transtornos mentais e comportamentais, além do desenvolvimento de dependência química, impactando significativamente a morbimortalidade em nível global (Organização Pan-Americana da Saúde, 2020). Apesar dos avanços científicos, as opções terapêuticas para o alcoolismo ainda são limitadas, devido à complexidade dos mecanismos biológicos envolvidos na dependência (Costardy et al., 2015). Diferentes padrões de consumo de álcool afetam o sistema nervoso central de maneiras variadas, dificultando a padronização de um tratamento eficaz (Macrae & Peterson, 2015). Além disso, transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade, estão fortemente associados ao alcoolismo, o que agrava a condição e torna seu manejo clínico ainda mais desafiador (Boden & Fergusson, 2011; McHugh & Weiss, 2019).

Diante da eficácia limitada das abordagens psicofarmacológicas convencionais, estratégias terapêuticas alternativas vêm ganhando destaque, como os probióticos que têm sido amplamente estudados por seu potencial na modulação do eixo intestino-cérebro, apresentando efeitos positivos sobre vias neuroquímicas associadas à dependência (Bernhardt et al., 2024). Evidências sugerem que determinadas cepas probióticas podem reduzir alterações inflamatórias e comportamentais decorrentes do consumo excessivo de álcool (Fuenzalida et al., 2021). No entanto, os mecanismos responsáveis por esses efeitos ainda não estão totalmente elucidados, e a aplicação clínica dos probióticos no tratamento da dependência alcoólica requer maior investigação.

Estudos mais aprofundados são necessários para compreender a magnitude dos efeitos dos probióticos e seu potencial como terapia adjuvante no tratamento do alcoolismo. A elucidação desses mecanismos pode abrir caminho para novas estratégias terapêuticas mais eficazes e com menos efeitos colaterais, beneficiando pacientes que enfrentam dificuldades com os tratamentos convencionais.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Analisar o uso de probióticos na modulação da microbiota intestinal e no comportamento frente ao transtorno por uso de álcool.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o consumo voluntário de álcool e análises comportamentais;
- Quantificar os níveis de dopamina, serotonina;
- Avaliar o estresse oxidativo no córtex e hipocampo;
- Avaliar os danos histológicos hepáticos e intestinais.

## 4. METODOLOGIA

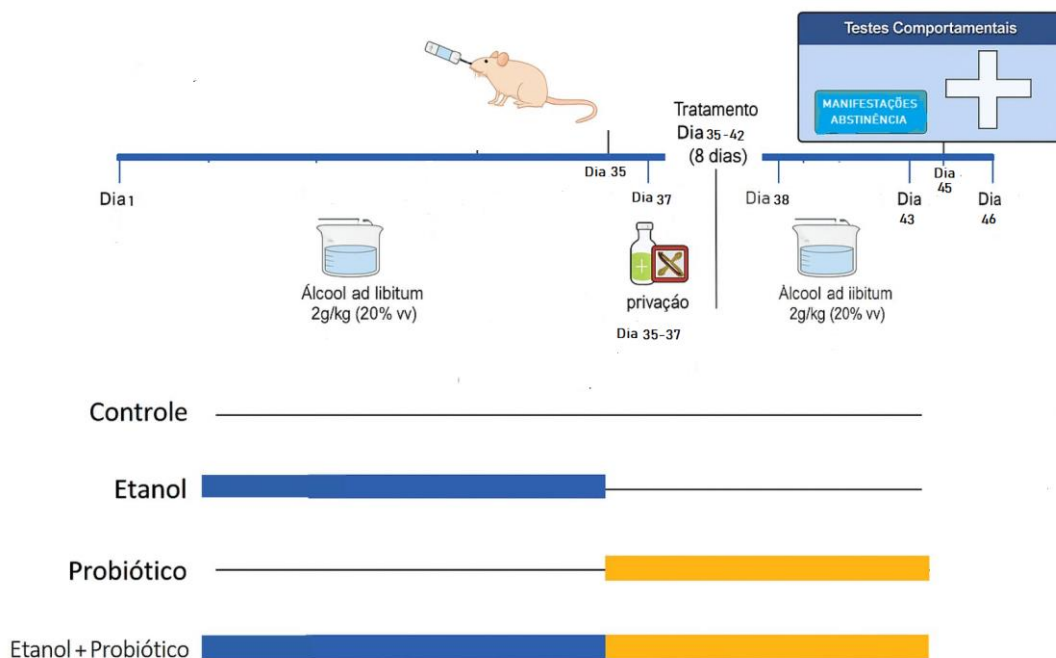
### 4.1. ANIMAIS

Foram utilizados 48 ratos Wistar machos com 60 dias de vida, obtidos da colônia de reprodução do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense, aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), com número de protocolo 73/2024, e permaneceram no biotério com água potável e comida ad libitum até o fim do experimento. Todos os animais foram mantidos em ambiente com temperatura e umidade controladas, bem como em ciclo claro-escuro (12h escuro e 12h claro), alocados 5 animais por caixa. Os animais foram monitorados diariamente quanto ao seu estado de saúde.

### 4.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O presente experimento apresentou uma duração de 46 dias totais, sendo dividido 48 animais divididos em 4 diferentes grupos, contendo 12 animais cada. O cálculo amostral estabelece o número de 12 animais por grupo, capaz de permitir de forma suficiente a variabilidade dos dados e peso estatístico para todos os parâmetros que serão avaliados (bioquímicos e comportamentais) e considerando os 3 Rs preconizados pelas regras de uso de animais.

Durante 5 semanas, os ratos tiveram acesso a dois frascos: um contendo água da torneira e outro com 20% de etanol (v/v em água da torneira). Do dia 35º ao 37º os animais foram privados do álcool exposição *ad libitum* de álcool. Do 38º ao 43º dia foi quantificado o padrão de consumo através da oferta de álcool (Abulseoud et al., 2014). Para os grupos que receberam o tratamento com probiótico, uma única dose do blend contendo  $6 \times 10^9$  bilhões de UFC/1 ml de mistura de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Saccharomyces boulardii* entre o 35º e 42º dias foi ofertada por gavagem. Após, foi avaliado o padrão de ansiedade (46º dia) através do teste do plus maze, seguido de eutanásia no dia 46º para a coleta de sangue, cérebro, fígado e intestino para análises bioquímicas e histológicas. Dos 4 grupos, 2 deles passaram pela intervenção através da administração da solução contendo o blend de probióticos conforme resume a imagem abaixo:



**Figura1. Linha do tempo do protocolo experimental.** Linha azul representa o consumo de álcool e a amarela de probióticos.

#### 4.3. PROBIÓTICOS

Os probióticos utilizados no estudo foram fornecidos pela fabricante Gabbia, contendo um blend de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Saccharomyces boulardii*. A suspensão preparada dissolvendo  $6 \times 10^9$  bilhões de UFC em 1ml de veículo apropriado, garantindo homogeneidade da solução. A administração foi realizada por gavagem, utilizando seringas estéreis para evitar contaminação e preservar a integridade microbiológica das cepas. A preparação das doses foi realizada diariamente para assegurar a viabilidade das bactérias durante o período de tratamento.

## 4.4 ANÁLISES COMPORTAMENTAIS

### 4.4.1 Teste Comportamental do Labirinto em Cruz Elevado

Os ratos foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado conforme descrito anteriormente (Pellow et al., 1985). O aparato do labirinto em cruz elevado, inteiramente feito de madeira, consiste em dois braços abertos (50 x 10 cm) e dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm) separados por uma plataforma central (5 x 5 cm). Os testes foram conduzidos sob luz vermelha fraca (nível de luminosidade medido no centro do aparelho, 100 lux) em uma sala silenciosa. Os animais foram colocados individualmente na plataforma central do labirinto em cruz de frente para um braço aberto. O número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos e fechados do aparelho foram registrados em uma sessão de 5 minutos. Avaliando a redução da ansiedade que é indicada no labirinto em cruz por um aumento na proporção de tempo gasto nos braços abertos.

### 4.4.2 Teste da Quantidade Total de Álcool Consumida

Consiste em avaliar quanto de etanol foi consumido em cada caixa, na qual houve entre 3 ou 4 animais por caixa. A cada 48h foi medida a quantidade de etanol em cada garrafa, a fim de avaliar o consumo de acordo com o volume. Um cálculo foi realizado para se ter uma estimativa de quanto cada animal tomou de etanol durante todo o experimento para avaliar o efeito do tratamento no período que mimetiza abstinência.

## 4.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

### 4.5.1 Preparação das Amostras

As amostras de córtex frontal e hipocampo dos ratos, foram homogeneizadas em KCl KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (12 mM KCl, 0.038 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH= 7,4) para realização da técnica de dosagem de proteína para posteriormente as técnicas bioquímicas.

#### **4.5.2 Dosagem de proteínas**

A quantificação da concentração total de proteínas foi realizada através do método de Peterson (1977). Em uma placa de 96 poços foram adicionados 2 µL da amostra previamente preparada e 98 µL de água ultrapura. Em seguida, foram adicionados 100 µL de reagente de Lowry (cobre-tartarato-carbonato [sulfato de cobre 0,1%; tartarato de potássio 0,2% e carbonato de sódio 10%], dodecil sulfato de sódio 10%, hidróxido de sódio 1N, e água ultrapura), seguido por um período de incubação de 10 minutos, no escuro, a temperatura ambiente. Após esse período, foram adicionados aos poços 50 µL de reagente de Folin (0,4 N), seguido de um período de incubação de 30 minutos, à temperatura ambiente, no escuro. Logo após o término do período de reação, a placa foi lida por absorbância em espectrofotômetro a 620 nm. Uma curva padrão utilizando albumina 1mg/mL foi feita na mesma placa que as amostras.

#### **4.5.3 Dosagem dos níveis de monoaminas**

Os níveis de dopamina e serotonina foram avaliados por cromatografia de varredura a laser (LS-MS), seguindo o protocolo descrito em Roca et al., (2021). As amostras foram lavadas com PBS até a completa remoção do sangue. O solvente de extração (metanol + água) foi adicionado na proporção de 3:1 v/v. Posteriormente, a amostra foi centrifugada (13.000 rpm, 10 minutos, 4 °C) e o sobrenadante foi coletado para análise. Os níveis de monoaminas foram expressos em ppb de serotonina ou dopamina por mg de proteína derivada do homogeneizado cerebral.

#### **4.5.4 Parâmetros de estresse oxidativo**

##### **4.5.4.1 Atividade da Superóxido dismutase (SOD)**

A atividade da SOD em cérebro total foi determinada de acordo com Bannister e Calabrese (1987). Primeiramente, foram realizadas leituras da auto-oxidação da adrenalina. Após, foram adicionados à amostra CAT 10 mM, tampão glicina 50 mM e adrenalina 60 mM, e ao branco foi adicionada adrenalina 60 mM. A atividade enzimática foi determinada pela inibição da auto-oxidação da adrenalina medida

espectrofotometricamente em 480 nm à temperatura ambiente. A atividade da enzima foi expressa em nmol.mg de proteína<sup>-1</sup>.

#### **4.5.4.2 Atividade da Catalase (CAT)**

Esta atividade enzimática da catalase em cérebro total foi determinada através do método de Aebi (1984). À amostra previamente homogeneizada, foi adicionado Triton 0,1 % seguido de agitação. Esta mistura foi conservada em gelo durante 15 minutos. Ao tampão fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0, foi adicionado H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (v/v). Este meio foi colocado em cubeta de quartzo e o aparelho estabilizado contra um branco corrido separadamente de tampão fosfato. Após adição da amostra, foi realizada a leitura da queda da absorvância do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 240 nm, à temperatura ambiente, durante 180 segundos. Para o cálculo, utilizou-se o coeficiente de extinção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 43,6 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>. Os resultados da atividade enzimática estão expressos em nmol.mg de proteína<sup>-1</sup>.

#### **4.5.4.3 Atividade da Glutathione Redutase (GR)**

A atividade da GR (EC 1.8.1.7) foi medida monitorando o consumo de NADPH a 340 nm em um meio contendo tampão fosfato de sódio 200 mM, pH 7,5, 6,3 mM de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 1 mM de glutathione oxidada (GSSG), 0,1 mM de NADPH e sobrenadantes de tecido (3 µg de proteína) (Carlberg e Mannervik, 1985). A atividade específica foi calculada e expressa como nmol·min<sup>-1</sup>·mg de proteína<sup>-1</sup>.

### **4.6 TESTE HISTOLÓGICO**

Para a avaliação da permeabilidade intestinal, o tecido do jejuno fixado em formalina de cada rato foi examinado usando coloração de hematoxilina e eosina de Harris, conforme descrito por Almuqadam et al., 2021. Posteriormente, o material foi incorporado, cortado, e as fatias subsequentes coradas por hematoxilina de Harris e coloração de eosina e então verificado usando um microscópio de luz (Olympus CK20, Japão). O dano tecidual foi avaliado através das alterações morfológicas da vilosidade intestinal.

Para a histopatologia de tecido hepático, a esteatose microvesicular será avaliada através de coloração hematoxilina-eosina. Foram realizadas a contagem e tamanho dos hepatócitos e das gotículas de gordura únicas que deslocam o núcleo do hepatócito para sua periferia (Roth e Qin, 2019).

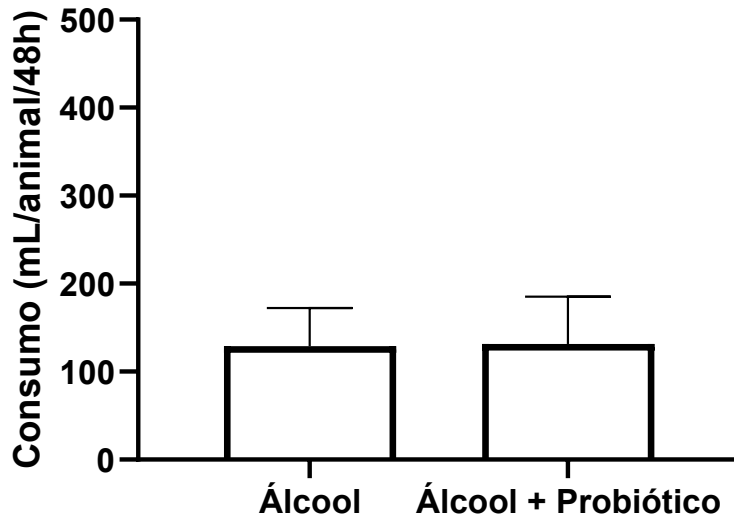
#### 4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste do padrão de consumo foi avaliado pelo teste t de Student pareado. Os dados de labirinto em cruz elevado e bioquímicos foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste *post hoc* de Tukey. Os dados são considerados diferentes estatisticamente quando o  $p < 0,05$  e são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico GraphPad Prism (Boston, Massachusetts, EUA).

### 5. RESULTADOS

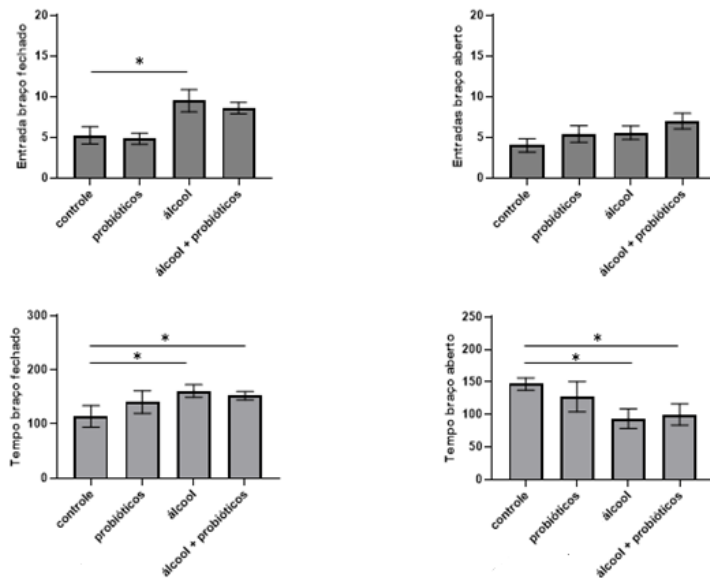
#### 5.1. REEXPOSIÇÃO AO ETANOL APÓS PRIVAÇÃO

O consumo voluntário de álcool foi ofertado durante a exposição alcoólica, logo após, os animais foram privados de álcool e seu tratamento foi iniciado. De acordo com a Figura 2, o consumo após a reexposição ao álcool não apresentou diferença significativa entre o grupo Álcool, que apresentou um consumo médio de  $102 \pm 61$  mL/animal/48h em comparação com o grupo que recebeu o tratamento  $102 \pm 65$  mL/animal/48h.



**Figura 2. Avaliação do consumo voluntário absoluto de álcool.** Dados representam o volume (mL) do consumo no intervalo de 48 horas entre o 38° e 43° dia. Valores são expressos como média  $\pm$  erro padrão.

## 5.2. TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO



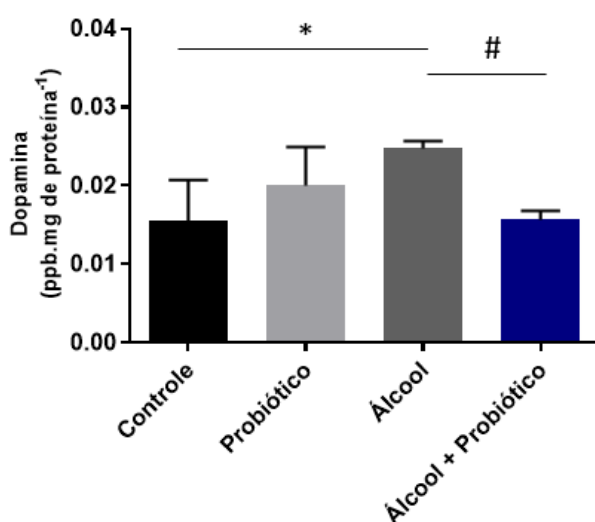
**Figura 3: Resultados do teste do labirinto em cruz elevado.** Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido por teste de múltiplas comparações de Tukey e estão expressos em média e erro padrão. \* significa diferença entre os grupos avaliados considerando  $p < 0,05$ .

O número de entradas para os braços abertos revelou que não houve diferença significativa entre os grupos avaliados. Entretanto, o número de entrada nos braços

fechados mostrou um aumento significativo ( $9,5 \pm 1,4$ ) em comparação ao grupo controle ( $5,2 \pm 1,3$ ;  $p < 0,05$ ). Os grupos com intervenção com probióticos não apresentaram alterações significativas em comparação com os demais grupos. Com relação ao tempo de permanência aos braços abertos, tanto o efeito do álcool, como também do tratamento com probióticos não apresentou diferença significativa. Quando analisados os tempos de permanência nos braços fechados o grupo etanol apresentou aumento significativo ( $165 \pm 12,5$ ;  $p < 0,05$ ) em comparação ao grupo controle. A intervenção com probiótico não revelou diferença com os demais grupos. Tomados em conjunto, o probiótico isoladamente não alterou o padrão de comportamento. Em contraste, o álcool foi capaz de aumentar o tempo de permanência nos braços fechados, indicativo de um aumento do perfil ansiogênico. Já o tratamento com probiótico não alterou frente à intervenção com álcool.

### 5.3. NÍVEIS DE MONOAMINAS (DOPAMINA, SEROTONINA)

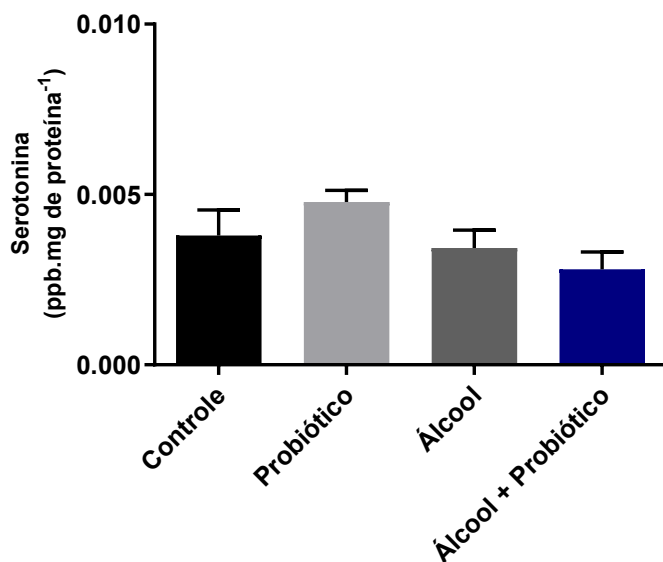
A avaliação dos níveis de monoaminas (dopamina e serotonina) no sistema nervoso central, especificamente no estriado dos ratos, buscou investigar o impacto do álcool nos animais expostos e o efeito modulador dos probióticos no eixo intestino-cérebro.



**Figura 4: Concentração de dopamina no estriado.** Os níveis de dopamina foram determinados por cromatografia de varredura a laser (LS-MS). Os valores estão expressos em ppb.mg de proteína<sup>-1</sup> e representam a média  $\pm$  erro padrão. Os resultados estão expressos em ppb.mg de proteína<sup>-1</sup>. (A) Níveis

de dopamina, evidenciando aumento no grupo Álcool em relação ao Controle (\*) e redução no grupo Álcool + Probiótico em relação ao grupo Álcool (#).

O grupo álcool apresentou uma concentração maior de dopamina em relação aos outros grupos, enquanto o grupo exposto ao álcool e posteriormente tratado com probiótico teve uma redução significativa na concentração do neurotransmissor.

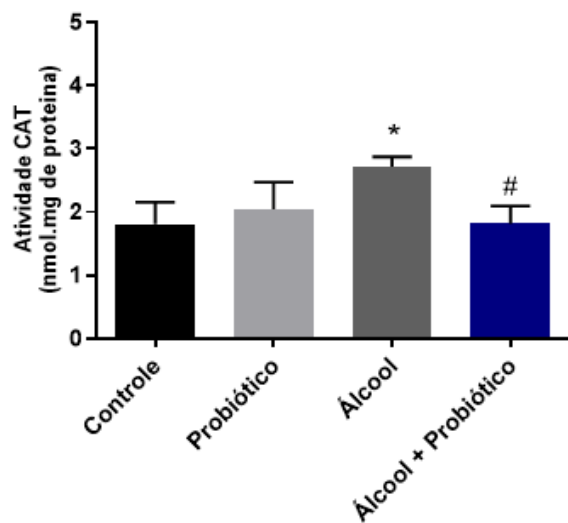


**Figura 5: Concentração de serotonina no estriado.** Os níveis de serotonina foram determinados por cromatografia de varredura a laser (LS-MS). Os valores estão expressos em ppb.mg de proteína<sup>-1</sup> e representam a média  $\pm$  erro padrão.

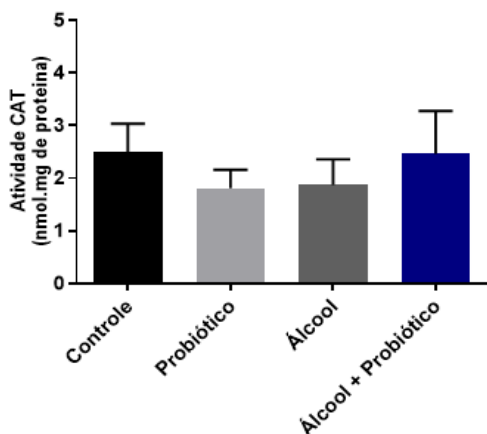
Os grupos não tiveram concentrações significativamente diferentes entre si.

#### 5.4. ESTRESSE OXIDATIVO (CATALASE, SOD, GR)

A exposição ao etanol está associada ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio no sistema nervoso central. Em resposta a esse estresse oxidativo, diferentes regiões cerebrais ativam mecanismos antioxidantes específicos. No córtex cerebral, a atividade da catalase (CAT) não apresentou diferenças significativas entre os grupos controle e probiótico (Figura 6). O grupo exposto ao álcool apresentou aumento significativo da atividade da CAT em relação ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ). No grupo Álcool + Probiótico, observou-se redução significativa da atividade enzimática em comparação ao grupo Álcool ( $p < 0,05$ ). No hipocampo (figura 7), a ausência de alterações significativas na atividade da catalase sugere que essa enzima não foi modulada nas condições experimentais avaliadas.



**Figura 6: Atividade da enzima catalase na região do córtex cerebral.** Os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Os valores das atividades enzimáticas estão expressos em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína $^{-1}$ . \* $p < 0,05$  em múltiplas comparações (ANOVA de duas vias seguida de post-hoc de Tukey).



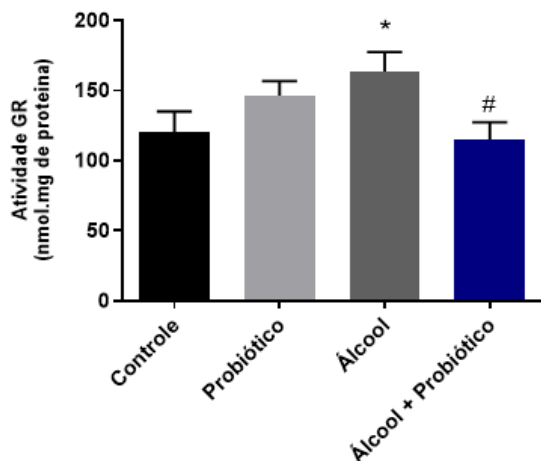
**Figura 7: Atividade da enzima catalase na região do hipocampo**

Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão. Os valores das atividades enzimáticas estão expressos em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína $^{-1}$ .

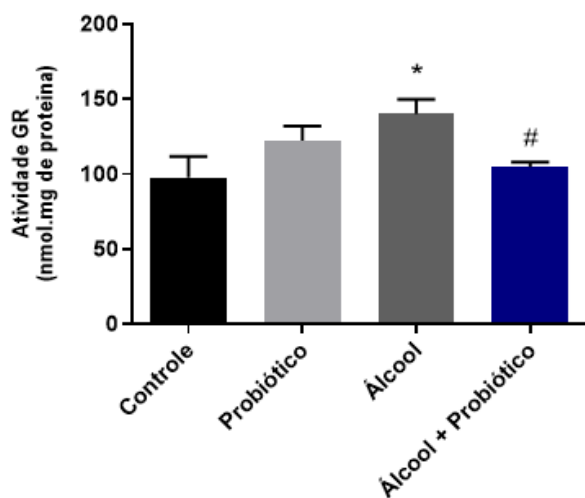
Na região do córtex cerebral, a atividade da enzima glutathiona redutase (GR) apresentou aumento significativo no grupo exposto ao álcool em comparação ao grupo controle (Figura 8). No grupo Álcool + Probiótico, observou-se redução significativa da atividade da GR em relação ao grupo Álcool.

Na região do hipocampo (Figura 9), a atividade da enzima glutathiona redutase apresentou aumento significativo no grupo exposto ao álcool em comparação ao grupo

controle. No grupo Álcool + Probiótico, observou-se redução significativa da atividade da GR em relação ao grupo Álcool.



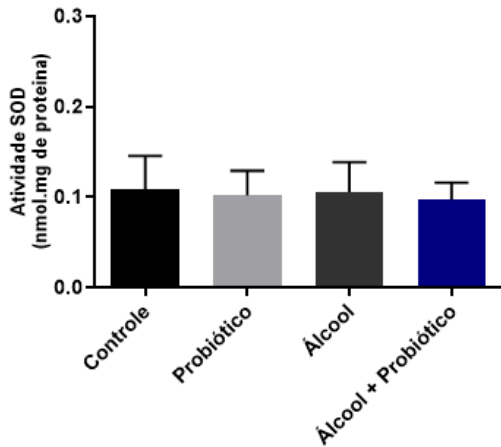
**Figura 8: Atividade da enzima glutathione redutase na região do córtex.** Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão. Os valores das atividades enzimáticas estão expressos em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína $^{-1}$ . \* $p < 0,05$  em múltiplas comparações (ANOVA de duas vias seguida de post-hoc de Tukey)



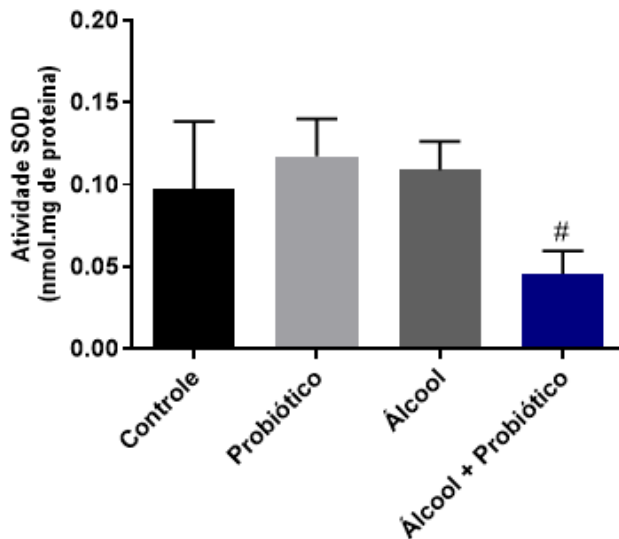
**Figura 9: Atividade da enzima glutathione redutase na região do hipocampo.** Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão. Os valores das atividades enzimáticas estão expressos em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína $^{-1}$ . \* $p < 0,05$  em múltiplas comparações (ANOVA de duas vias seguida de post-hoc de Tukey).

Na região do córtex cerebral, a atividade da enzima superóxido dismutase não apresentou diferenças significativas (Figura 10) entre os grupos Controle, Probiótico, Álcool e Álcool + Probiótico, indicando ausência de modulação dessa enzima nas condições experimentais avaliadas.

Na região do hipocampo, a atividade da enzima superóxido dismutase apresentou redução significativa no grupo Álcool + Probiótico em comparação ao grupo Álcool (Figura 11).



**Figura 10: Atividade da enzima superóxido dismutase na região do córtex.** Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão. Os valores das atividades enzimáticas estão expressos em U.mg de proteína-1



**Figura 11: Atividade da enzima superóxido dismutase na região do hipocampo.** Os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Os valores das atividades enzimáticas estão expressos em U.mg de proteína-1. # $p < 0,05$  em múltiplas comparações (ANOVA de duas vias seguida de post-hoc de Tukey).

## 5.5. HISTOLOGIA HEPÁTICA

A avaliação histológica foi realizada por meio de escores semi-quantitativos, conforme metodologia previamente descrita na literatura (Zhang et al., 2009), aplicados às amostras de duodeno, íleo e fígado.

A esteatose hepática foi classificada de acordo com a porcentagem de hepatócitos acometidos, conforme segue:

- 0: ausência de esteatose
- 1: esteatose envolvendo menos de 25% dos hepatócitos
- 2: esteatose envolvendo 26–50% dos hepatócitos
- 3: esteatose envolvendo 51–75% dos hepatócitos
- 4: esteatose envolvendo mais de 75% dos hepatócitos

A inflamação e necrose hepática foram avaliadas considerando o número de focos inflamatórios por lóbulo:

- 0: ausência de inflamação/necrose
- 1: presença de um foco inflamatório por lóbulo
- 2: presença de dois ou mais focos inflamatórios por lóbulo

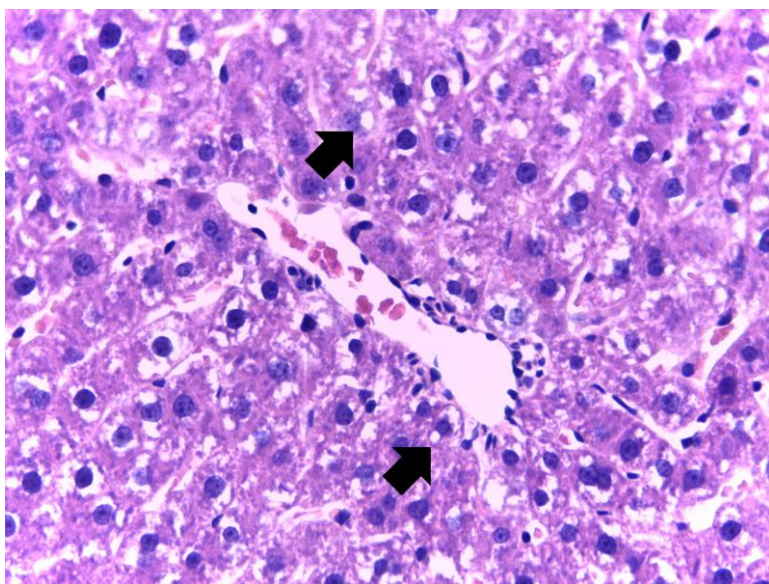
Tabela 1 – Avaliação hepática

<b>Amostra</b>	<b>Esteatose</b>	<b>Inflamação/Necrose</b>
<b>G1</b>		
G1CX1R2	1	0
G1CX2R2	0	0
G1CX3R2	0	0
<b>G2</b>		
G2CX1R2	0	0
G2CX2R2	0	0
G2CX3R2	0	0
<b>G3</b>		
G3CX1R3	0	0
G3CX2R1	0	0
G3CX3R2	1	1
<b>G4</b>		
G4CX2R2	1	1
G4CX2R1	1	0
G4CX3R2	1	0

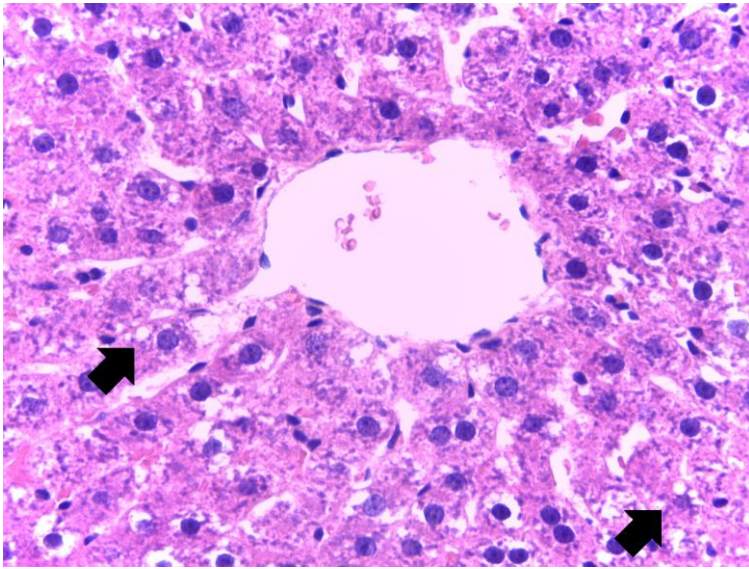
Avaliação hepática das amostras dos 4 grupos, sendo eles: Controle (G1), Probiótico (G2), Álcool (G3), Álcool + Probiótico (G4).

Fonte: Do autor, 2026.

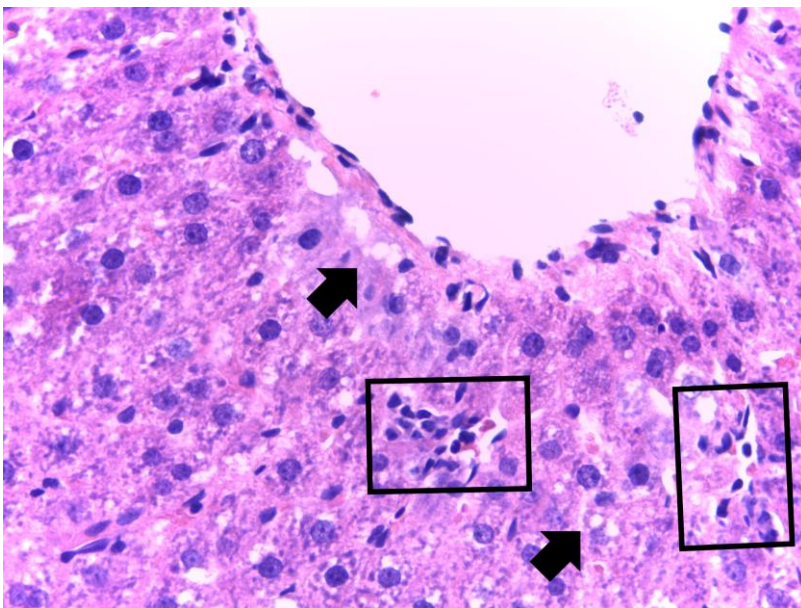
No grupo Controle (G1), observou-se predominância de ausência de esteatose (escore 0), com ocorrência pontual de inflamação discreta (escore 1). No grupo Probiótico (G2), todas as amostras apresentaram escore 0 para esteatose e inflamação/necrose. No grupo Álcool (G3), foram identificados animais com esteatose leve (escore 1, <25% dos hepatócitos), associada ou não à inflamação/necrose discreta (escore 1) com vesículas microesteatóticas perinucleares (figura 12). No grupo Álcool + Probióticos (G4), observou-se esteatose leve (escore 1) em parte dos animais, com inflamação discreta associada e focos de atividade inflamatória lobular (Figuras 13 e 14).



**Figura 12: Fotomicrografia do tecido hepático de rato do Grupo (G3).** Fígado em região de veia centrolobulillar com vesículas microesteatóticas perinucleares (seta). Coloração HE. Aumento 40x.



**Figura 13: Alterações histopatológicas no tecido hepático de ratos expostos ao álcool (Álcool+Probiótico).** Fígado em região de veia centrolobular com vesículas microesteatóticas perinucleares (seta). Coloração HE. Aumento 40x.



**Figura 14: Alterações histopatológicas no tecido hepático de ratos expostos ao álcool (Álcool+Probiótico).** Fígado em região de veia centrolobular com vesículas microesteatóticas perinucleares (seta) e focos de atividade inflamatória lobular (moldura). Coloração HE. Aumento 40x.

## 5.6. HISTOLOGIA DO DUODENO E ÍLEO

A avaliação histológica foi realizada por meio de escores semi-quantitativos, conforme metodologia previamente descrita na literatura, aplicados às amostras de duodeno e íleo. As análises tiveram como objetivo identificar alterações estruturais

associadas à exposição ao etanol e ao tratamento com probióticos, incluindo processos inflamatórios, dano tecidual e alterações da arquitetura histológica.

A mucosa intestinal foi avaliada por meio de escores semi-quantitativos variando de 0 a 4, considerando os seguintes parâmetros:

- Dano das células epiteliais
- Depleção de mucina celular
- Edema da lâmina própria
- Infiltrado inflamatório

Para todos os parâmetros, os escores foram atribuídos da seguinte forma:

- 0: ausência de alteração
- 1: alteração mínima
- 2: alteração leve
- 3: alteração moderada
- 4: alteração acentuada

Duodeno

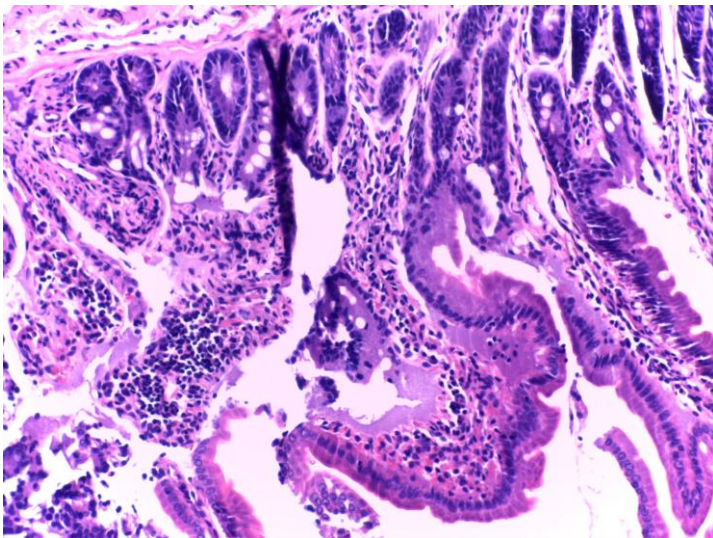
Tabela 2: Escores histológicos para as amostras do duodeno.

<b>Amostra</b>	<b>Dano epitelial</b>	<b>Depleção de Mucina</b>	<b>Edema</b>	<b>Infiltrado Inflamatório</b>
<b>G1</b>				
G1CX2R2	0	0	0	0
G1CX3R2	0	0	0	1
<b>G2</b>				
G2CX1R2	0	0	0	1
G2CX2R2	0	0	0	0
G2CX3R2	0	0	0	0
<b>G3</b>				
G3CX1R3	0	0	0	1
G3CX1R4	0	0	0	1
G3CX3R2	0	0	0	1
<b>G4</b>				
G4CX1R1	0	0	0	0
G4CX2R2	0	0	0	1
G4CX3R2	0	0	0	1

Avaliação histológica do duodeno das amostras dos 4 grupos, sendo eles: Controle (G1), Probiótico (G2), Álcool (G3), Álcool + Probiótico (G4).

Fonte: Do autor, 2026.

No grupo Controle (G1), os animais apresentaram escores predominantemente iguais a zero para dano epitelial, depleção de mucina e edema da lâmina própria. O infiltrado inflamatório variou entre escore 0 e 1. No grupo Probiótico (G2), os escores permaneceram majoritariamente em 0 para todos os parâmetros avaliados, com presença pontual de infiltrado inflamatório mínimo (escore 1). No grupo Álcool (G3), observou-se infiltrado inflamatório mínimo (escore 1) em todas as amostras analisadas, sem alterações quanto ao dano epitelial, mucina ou edema (Figura 15). No grupo Álcool + Probióticos (G4), observou-se padrão semelhante, com escores 0 para dano epitelial, mucina e edema, e infiltrado inflamatório mínimo (escore 1) em parte dos animais.



**Figura 15: Histopatologia do duodeno de animal expostos ao álcool (G3).** Duodeno com infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear, erosão epitelial e deposição de fibrina. Coloração HE. Aumento 20x.

## Íleo

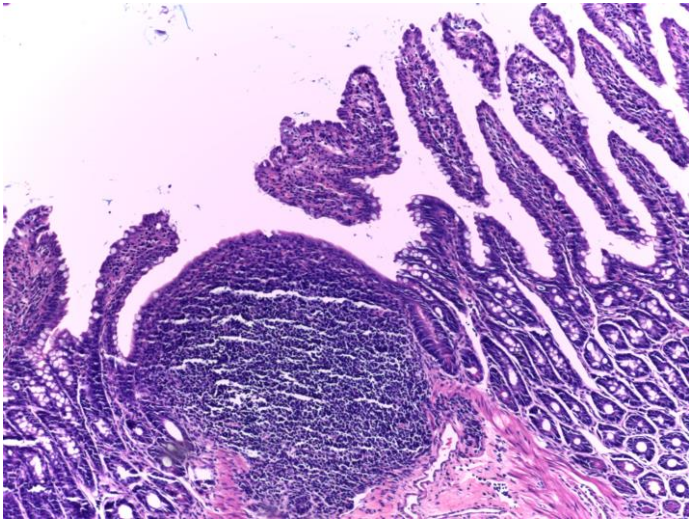
Tabela 3: Escores histológicos para as amostras do íleo.

<b>Amostra</b>	<b>Dano epitelial</b>	<b>Depleção de Mucina</b>	<b>Edema</b>	<b>Infiltrado Inflamatório</b>
<b>G1</b>				
G1CX1R2	0	0	0	1
G1CX2R2	0	0	0	1
G1CX3R2	0	0	0	1
<b>G2</b>				
G2CX1R2	0	0	2	2
G2CX2R2	0	0	1	1
G2CX3R2	0	0	0	1
<b>G3</b>				
G3CX1R3	0	0	0	1
G3CX1R4	0	0	0	0
G3CX3R2	0	0	1	1
<b>G4</b>				
G4CX1R1	0	0	0	1
G4CX2R2	0	0	0	1
G4CX3R2	1	1	1	2

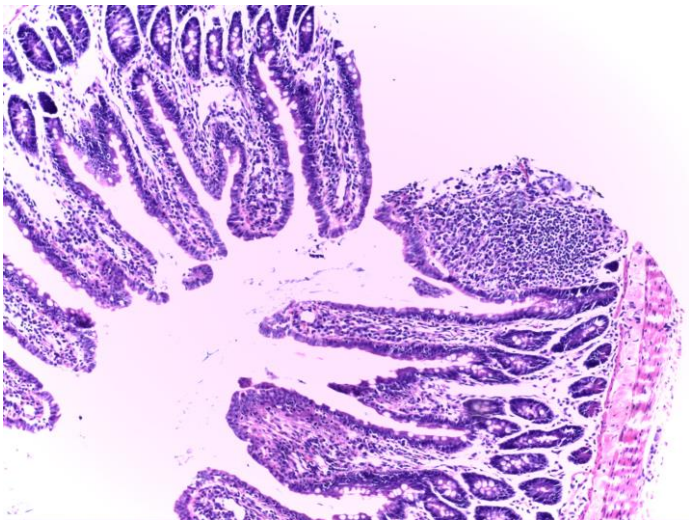
Avaliação histológica do íleo das amostras dos 4 grupos, sendo eles: Controle (G1), Probiótico (G2), Álcool (G3), Álcool + Probiótico (G4).

Fonte: Do autor, 2026.

Grupo Controle (G1), foi observado infiltrado inflamatório mínimo (escore 1), sem outras alterações histológicas. O grupo Probiótico (G2) apresentou edema da lâmina própria e infiltrado inflamatório variando entre escores 1 e 2, sem danos epiteliais ou depleção de mucina. Grupo Álcool (G3), observou-se edema da lâmina própria leve (escore 1), infiltrado inflamatório leve a moderado (escore 1–2) e alterações discretas na mucina em amostras isoladas. O grupo Álcool + Probióticos (G4) apresentou maior variabilidade dos escores, incluindo dano epitelial leve (escore 1), depleção de mucina, edema da lâmina própria (escore 1–2) e infiltrado inflamatório moderado (escore 2) (figura 16 e 17).



**Figura 16: Histopatologia do íleo de animais expostos ao álcool (G4).** Íleo com infiltrado inflamatório polimorfonuclear e formação de folículo linfoide. Coloração HE. Aumento 10x.



**Figura 17: Histopatologia do íleo de animais expostos ao álcool (G4).** Íleo com infiltrado inflamatório polimorfonuclear, alargamento das vilosidades e edema. Coloração HE. Aumento 10x.

## 6. DISCUSSÃO

O consumo voluntário de etanol após o período de privação associado ao tratamento com probióticos não apresentou redução significativa entre os grupos experimentais. Esse resultado indica que, nas condições experimentais adotadas, a intervenção não foi capaz de promover alterações detectáveis no padrão de ingestão alcoólica. A ausência de efeito comportamental direto, entretanto, não invalida a

relevância biológica do tratamento, considerando a complexidade dos mecanismos envolvidos no alcoolismo e o caráter multifatorial do comportamento de consumo. O comportamento representa um desfecho tardio e mais complexo, conforme discutido por Domi et al. (2021), a recaída ao consumo de álcool representa um dos principais desafios terapêuticos, sendo sustentada por adaptações duradouras nos circuitos neurais envolvidos na motivação, recompensa e busca pela substância.

Observou-se, no estudo experimental de Forsyth et al. (2009), que a suplementação com probióticos foi capaz de mitigar significativamente a lesão hepática induzida pelo álcool, mesmo quando a exposição ao etanol é mantida de forma constante (tratamento e exposição ao álcool, simultaneamente), demonstrando que os benefícios sistêmicos da intervenção podem ocorrer independentemente da alteração no volume de ingestão alcoólica. Um outro estudo experimental (Pizarro et al. 2021), com tratamento contínuo antes, durante e após a privação de álcool demonstrou que a suplementação ao longo de todo o protocolo foi capaz de promover redução significativa do consumo de álcool e da recaída após período de abstinência. A administração prolongada esteve associada à atenuação do consumo escalonado de álcool e à diminuição do comportamento de recaída, sugerindo que intervenções de maior duração são mais eficazes para impactar desfechos comportamentais complexos, como a compulsão alcoólica (Pizarro et al. 2021).

No teste comportamental do labirinto em cruz elevado, é observado um aumento no perfil ansiogênico nos grupos que consumiram álcool; entretanto, os probióticos não reverteram essa condição, possivelmente devido ao tempo de tratamento aplicado, pois em outros protocolos utilizados em diferentes estudos disponíveis na literatura, como o de Ezquer et al. (2022), corroboram uma redução do perfil de ansiedade, com redução significativa da recidiva ao álcool. O estudo de Pei et al. (2023) realizado com 30 dias de tratamento com probióticos em camundongos, também mitigou efetivamente a ansiedade induzida pelo etanol. Embora o consumo de álcool e o comportamento ansioso não tenham sido significativamente modulados pelo tratamento, os achados neuroquímicos sugerem que alterações no sistema nervoso central já haviam sido iniciadas. O aumento dos níveis de dopamina observado no grupo Álcool (G3) em comparação ao Controle (G1) corrobora a literatura clássica, que identifica a dopamina como o principal mediador do sistema de recompensa mesocorticolímbico. O etanol atua promovendo a liberação

de dopamina em áreas como o núcleo accumbens e o estriado, o que sustenta o valor de reforço da substância e impulsiona o comportamento de busca (Di Chiara; Imperato, 1988).

A redução significativa de dopamina no grupo álcool + probiótico (G4) constitui um achado de grande relevância, sugerindo que a suplementação com probióticos foi capaz de reduzir os níveis de dopamina que foram elevados pela indução alcoólica, exercendo um efeito regulador no sistema dopaminérgico, no estudo de Ezquer et al. (2021) ratos tiveram livre acesso ao álcool e receberam o tratamento de forma contínua durante 13 dias, observou-se um aumento nos níveis plasmáticos de FGF21 ( $p < 0,01$ ) e uma elevação marcante na expressão hepática de FGF21 nos animais tratados com o probiótico. Na discussão, os autores explicam que o FGF21 atua no sistema nervoso central aumentando a transcrição do transportador de dopamina (DAT) no núcleo accumbens, o que reduz a quantidade de dopamina disponível na fenda sináptica e, conseqüentemente, atenua os efeitos de recompensa do álcool.

Assim, a capacidade do probiótico em normalizar os níveis de dopamina no presente estudo reforça que a intervenção promoveu benefícios neurobiológicos profundos, atuando diretamente sobre o sistema dopaminérgico. Evidências experimentais demonstram que formulações probióticas são capazes de modular o conteúdo estriatal de dopamina por meio da atenuação da inflamação intestinal e sistêmica, preservando neurônios dopaminérgicos e restaurando a homeostase dopaminérgica central (Zhou et al., 2023). Nesse contexto, a modulação observada pode refletir um efeito regulador sobre a base neuroquímica da dependência, favorecendo a restauração do equilíbrio do sistema de recompensa.

Por outro lado, a serotonina se manteve em níveis semelhantes não havendo mudanças significativas, o sistema serotoninérgico parece demandar exposição mais prolongada ou maior intensidade de estresse neuroinflamatório para apresentar alterações detectáveis, como em fases prolongadas de abstinência diferente do que foi experimentado no estudo, Hossaini et al. (2025) demonstraram que um protocolo de 21 dias de abstinência foi capaz de induzir alterações significativas nos níveis de serotonina e na atividade da MAO-A em ratos, diferentemente do observado em exposições mais curtas. Enquanto isso, o sistema dopaminérgico apresenta uma grande sensibilidade ao álcool, sendo muito estimulado durante o consumo. Carrara-Nascimento et al. (2020)

investigaram os efeitos da exposição ao etanol sobre a neurotransmissão dopaminérgica, os resultados revelaram alterações significativas na disponibilidade de dopamina nessas regiões, confirmando a elevada responsividade do sistema dopaminérgico ao etanol e sua correlação com o desenvolvimento de sensibilização locomotora.

A exposição ao etanol promoveu alterações significativas nos sistemas antioxidantes cerebrais, evidenciadas pelo aumento da atividade da catalase no córtex cerebral e da glutathione redutase em ambas as regiões avaliadas. Esses achados indicam a ativação de mecanismos compensatórios frente ao aumento da carga oxidativa induzida pelo álcool, em concordância com evidências de que o metabolismo do etanol está diretamente associado à maior produção de espécies reativas de oxigênio no sistema nervoso central (Cederbaum, 2012). No córtex cerebral, o aumento da atividade da catalase no grupo Álcool sugere uma resposta adaptativa ao acúmulo de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), subproduto tanto da dismutação do radical superóxido quanto da oxidação do etanol. Além de sua função antioxidante, a catalase pode atuar como via alternativa na metabolização central do etanol, utilizando  $H_2O_2$  para a conversão do etanol em acetaldeído, o que reforça sua participação direta na resposta ao insulto alcoólico (Contreras-Zentella et al., 2022).

A ausência de alterações significativas na atividade da SOD no córtex indica que a geração primária de radicais superóxido não foi o principal fator modulador da resposta antioxidante nessa região. Esse perfil sugere que o estresse oxidativo cortical está predominantemente relacionado à necessidade de detoxificação de  $H_2O_2$ , hipótese sustentada por estudos que demonstram respostas antioxidantes regionais específicas frente à exposição ao etanol (Hernández et al., 2016). A elevação da atividade da glutathione redutase no córtex cerebral reforça a ativação do sistema da glutathione como resposta adaptativa ao estresse oxidativo. No hipocampo, entretanto, observou-se um perfil distinto, caracterizado pela ausência de alterações na atividade da catalase e pelo aumento da GR, indicando que essa região prioriza mecanismos antioxidantes dependentes da glutathione. Essa divergência regional está bem documentada na literatura, que aponta menor participação da via da catalase no hipocampo em comparação ao córtex, com predominância do ciclo da glutathione como mecanismo de proteção celular (Casañas-Sánchez et al., 2016).

O tratamento com probiótico exerceu efeito modulador consistente sobre os sistemas antioxidantes avaliados. No córtex cerebral, a redução da atividade da catalase no grupo Álcool + Probiótico, em relação ao grupo Álcool, sugere diminuição da necessidade de ativação compensatória dessa enzima, indicando atenuação do estresse oxidativo. De forma semelhante, houve a redução da atividade da glutathione redutase em ambas as regiões cerebrais, essa resposta é corroborada por Hsieh et al. (2021), que observaram que a suplementação com *Lactobacillus* reduz a necessidade de uma resposta antioxidante enzimática exacerbada ao diminuir a carga inflamatória e oxidativa global induzida pelo etanol. Os probióticos também se mostram eficazes no estresse oxidativo periférico. Chayanupatkul et al. (2022), em um modelo de lesão hepática induzida por etanol, avaliaram diretamente o estresse oxidativo por meio da quantificação de malondialdeído (MDA) no tecido hepático. Esse efeito foi acompanhado pela redução de marcadores inflamatórios.

No hipocampo, a diminuição da atividade da SOD no grupo Álcool + Probiótico reforça a hipótese de que o tratamento contribuiu para a redução da geração de radicais superóxido, diminuindo a necessidade de ativação dessa enzima. Em conjunto, esses achados indicam que o probiótico não promove hiperativação direta das enzimas antioxidantes, mas favorece a restauração da homeostase redox cerebral. Evidências adicionais de neuroproteção associada ao uso de probióticos são descritas por Bonfili et al. (2018), que observaram preservação da homeostase redox cerebral e ativação da via SIRT1 em modelo experimental de doença de Alzheimer, corroborando a capacidade desses microrganismos de modular vias antioxidantes centrais, redução de estresse oxidativo periférico através dos probióticos também foi evidenciado por D'Antongiovanni et al. (2023), sugerindo um mecanismo indireto de neuroproteção mediado pela modulação do eixo intestino–fígado–cérebro.

A avaliação histopatológica do fígado e do intestino revelou que o consumo de álcool promove alterações estruturais, o íleo sofreu alterações mais diversificadas que o duodeno, essa predominância é conceitualmente esperada devido as particularidades desse segmento intestinal que é mais suscetível ao álcool assim como em outros estudos como o de Zhong et al. (2010), os achados do estudo utilizado como referência para a leitura dos dados desse, concordam que, embora os escores tenham sido

numericamente baixos (predominantemente entre 0 e 2), a presença de lesões em grupos expostos ao álcool é biologicamente relevante devido ao caráter agudo da injúria.

Apesar do íleo ser mais suscetível, também houve presença de infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear no duodeno, acompanhado de erosão epitelial e deposição de fibrina no grupo G3 (álcool), evidenciando uma agressão direta à mucosa do trato gastrointestinal superior, esses achados convergem com os resultados de Gu et al. (2025), que, em seu modelo de ingestão prolongada de álcool em ratos, também observaram danos patológicos significativos no duodeno, incluindo a desorganização do epitélio e o aumento da permeabilidade intestinal. Wang et al. (2020) descrevem que, no duodeno, especificamente, essa agressão estrutural está associada ao prejuízo no transporte de micronutrientes essenciais, como a tiamina, exacerbando os danos sistêmicos decorrentes do uso do álcool, colaborando para deficiências nutricionais.

As mucinas, secretadas pelas células caliciformes, formam uma barreira física e química essencial que impede o contato direto de microrganismos e toxinas com o epitélio, a manutenção dessa camada é um dos principais mecanismos de defesa contra a translocação bacteriana (Kreimeyer et al., 2025). No grupo G3 (álcool), embora a depleção de mucina não tenha sido o achado predominante nos animais analisados, a presença constante de infiltrado inflamatório e edema sugere que o insulto alcoólico iniciou efetivamente o processo de agressão à mucosa assim como no estudo experimental de Moraes et al. (2024) que destacou alterações histopatológicas na mucosa intestinal, caracterizadas por aumento de infiltrado inflamatório e comprometimento estrutural das vilosidades, indicando que o insulto alcoólico é capaz de iniciar efetivamente o processo de agressão à mucosa intestinal.

Por outro lado, observou-se a ocorrência de depleção da mucina em um dos animais do grupo G4 (álcool + probiótico), embora os probióticos possuam propriedades protetoras reconhecidas, neste modelo específico, eles não foram suficientes para reverter integralmente o quadro de desequilíbrio intestinal. Essa limitação sugere que o tempo de exposição ao álcool sobrepôs-se ao tempo de intervenção com o tratamento, indicando que a severidade da agressão aguda pode ter excedido a capacidade imediata de modulação da mucosa pelo probiótico (Saadh et al., 2025).

Essa dinâmica entre a agressão crônica e a eficácia limitada de intervenções protetoras é bem documentada. De forma análoga, Zhang et al. (2009) demonstraram

que, mesmo utilizando agentes com potencial terapêutico contra a toxicidade alcoólica, a reversão das lesões histológicas e da permeabilidade intestinal não foi completa após 10 semanas de exposição, persistindo danos residuais na mucosa, isso reforça a ideia de que a severidade do insulto alcoólico pode sobrepor-se à capacidade de modulação de diferentes agentes protetores, o que pode explicar a ocorrência de depleção de mucina em um animal do grupo G4.

A histologia hepática evidenciou alterações compatíveis com toxicidade aguda induzida pelo álcool. Nos grupos Controle e Probiótico, a arquitetura lobular hepática permaneceu preservada, enquanto nos grupos expostos ao álcool foram observados sinais de balonização hepatocelular, focos inflamatórios e áreas discretas de necrose, esses achados corroboram os resultados de Chiu et al. (2015), que demonstraram que a exposição crônica ao etanol induz degeneração celular e necrose, as quais podem ser atenuadas pela suplementação com microrganismos probióticos.

A balonização hepatocelular reflete sofrimento celular decorrente do estresse oxidativo e da disfunção metabólica induzida pelo etanol. A ocorrência dessas alterações hepáticas está diretamente relacionada ao comprometimento da barreira intestinal, uma vez que o aumento da permeabilidade favorece a translocação de endotoxinas para o fígado via veia porta, desencadeando resposta inflamatória hepática (Chanchaonthana et al., 2023). Em um estudo de Bobby et al. (2021), ratos foram submetidos a uma dieta com etanol por um período contínuo de 28 dias (quatro semanas). Os resultados incluíram o desenvolvimento de esteatose macrovesicular e microvesicular, caracterizada pelo acúmulo de gotículas de gordura no citoplasma dos hepatócitos, e a presença de infiltrado inflamatório no parênquima hepático.

Essa interação entre disfunção intestinal e lesão hepática é amplamente documentada e foi experimentalmente demonstrada por Zhou et al. (2013). Em conjunto, a análise integrada dos dados cerebrais, intestinais e hepáticos confirma que a exposição ao álcool compromete precocemente o eixo intestino–cérebro, e que mesmo alterações histológicas de baixa intensidade representam evidências claras do estabelecimento inicial do dano tóxico. Embora a intervenção com probiótico não tenha promovido reversão completa das lesões histológicas observadas, seus efeitos moduladores sobre o sistema dopaminérgico e sobre a homeostase redox sugerem uma atuação relevante na atenuação da desregulação induzida.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que, nas condições experimentais adotadas, a suplementação com probióticos não promoveu redução significativa do consumo voluntário de etanol, tampouco reverteu o comportamento ansiogênico associado à exposição alcoólica. Esses achados indicam que intervenções de curta duração não são suficientes para desfechos complexos como os comportamentais, entretanto, a modulação no sistema nervoso central já havia sido iniciada através da melhora do perfil antioxidante e da resposta compensatória, ou seja, os dados sugerem que a suplementação probiótica exerce efeitos neurobiológicos e antioxidantes relevantes, mesmo na ausência de mudanças imediatas no comportamento de consumo.

As alterações histológicas foram observadas de forma precoce, causadas pelo álcool, a suplementação com probióticos não promoveu reversão significativa dos danos estruturais, sugerindo que, embora exista potencial modulador, a restauração tecidual pode requerer maior tempo de intervenção ou estratégias complementares. Como perspectivas, recomenda-se a realização de protocolos com maior tempo de tratamento e acompanhamento prolongado após o período de abstinência, a fim de avaliar se a modulação neuroquímica observada pode se traduzir em alterações comportamentais mais robustas. Estudos adicionais também poderão explorar diferentes doses, combinações de cepas e a caracterização mais aprofundada de marcadores inflamatórios do eixo intestino–cérebro, juntamente com técnicas mais precisas para avaliação da permeabilidade intestinal, contribuindo para a compreensão dos mecanismos envolvidos e para o aprimoramento de estratégias terapêuticas.

## 8. REFERÊNCIAS

ABDOLMALEKY, H. M.; ZHOU, J.-R. Gut microbiota dysbiosis, oxidative stress, inflammation, and epigenetic alterations in metabolic diseases. *Antioxidants*, v. 13, n. 8, art. 985, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox13080985>.

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, v. 105, p. 121-126, 1984.

ALMUGADAM, B. S.; YANG, P.; TANG, L. Analysis of jejunum microbiota of HFD/STZ diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 138, p. 111094, 2021. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111094.

ALON-MAIMON, T.; MANDELBOIM, O.; BACHRACH, G. *Fusobacterium nucleatum* and cancer. *Periodontology 2000*, v. 89, n. 1, p. 166–180, 2022. DOI: 10.1111/prd.12426.

AMADIEU, C. et al. The gut-brain axis in alcohol use disorder: A review. *Frontiers in Psychiatry*, v. 13, p. 863264, 2022.

BACIUUK-SOUZA, Leticia; BACIUUK, Erica Passos; TOMA, Marízia do Amaral. Disbiose do trato gastrointestinal e Doença de Alzheimer: revisão integrativa. *Intellectus Saúde*, v. 1, n. 1, 2024. DOI: 10.21116/is.v1i1.954.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assay for superoxide dismutase. In: PACKER, L. (ed.). *Methods in Enzymology*. Orlando: Academic Press, 1987. v. 105, p. 279-287.

BARRIO, Patrícia et al. Social costs of illegal drugs, alcohol and tobacco in the European Union: A systematic review. *Drug Alcohol Review*, v. 36, n. 5, p. 578–588, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/dar.12504>.

BAUMBERG, B. The global burden of disease of alcohol: economic and social costs. Oxford: Oxford University Press, 2006.

BERNHARDT, G. V. et al. Probiotics-role in alleviating the impact of alcohol liver disease and alcohol deaddiction: a systematic review. *Frontiers in Nutrition*, v. 11, p. 1372755, 2024. DOI: 10.3389/fnut.2024.1372755.

BOBY, Naila et al. Ethanol-Induced Hepatotoxicity and Alcohol Metabolism Regulation by GABA-Enriched Fermented Smilax china Root Extract in Rats. *Molecules*, [S. l.], v. 26, n. 16, p. 4835, ago. 2021.

BODEN, Joseph M.; FERGUSON, David M. Alcohol and depression. *Addiction*, v. 106, n. 5, p. 906-914, 2011.

BONFILI, L. et al. SLAB51 Probiotic Formulation Activates SIRT1 Pathway Promoting Antioxidant and Neuroprotective Effects in an AD Mouse Model. *Molecular Neurobiology*, [s. l.], v. 55, n. 10, p. 7987–8000, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0973-4>. Acesso em: 26 jan. 2026.

CARABOTTI, M. et al. The gut–brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*, v. 28, p. 203–209, 2015.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, v. 113, p. 484–490, 1985.

CARRARA-NASCIMENTO, P. F. et al. Effects of ethanol exposure during adolescence or adulthood on locomotor sensitization and dopamine levels in the reward system. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 14, n. 31, p. 1-11, 2020. DOI: 10.3389/fnbeh.2020.00031.

CASAÑAS-SÁNCHEZ, V. et al. Sub-toxic Ethanol Exposure Modulates Gene Expression and Enzyme Activity of Antioxidant Systems to Provide Neuroprotection in Hippocampal HT22 Cells. *Frontiers in Physiology*, v. 7, p. 312, 2016.

CAZELLA, Franciane Veiga; ANDRADE, Giovanna Galego Navarrete de; HENSCHER, Letícia Dalla Vechia. Disbiose intestinal: impactos clínicos, diagnóstico avançado e estratégias terapêuticas. *Cuadernos de Educación y Desarrollo*, v. 16, n. 12, p. 1-4, 2024. DOI: <https://doi.org/10.55905/cuadv16n12-114>. Acesso em: 2 mar. 2025.

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

CEDERBAUM, Arthur I.; LU, Yongke; WU, Defeng. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Free Radical Biology and Medicine*, Amsterdam, v. 46, n. 5, p. 549-561, 1 mar. 2009. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.12.010.

CENI, E.; MELLO, T.; GALLI, A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World Journal of Gastroenterology*, v. 20, n. 47, p. 17756–17772, dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.17756>.

CENTRO DE INFORMAÇÕES SOBRE SAÚDE E ÁLCOOL (CISA). O álcool pode atrapalhar a absorção de nutrientes? 25 out. 2023. Disponível em: <https://www.cisa.org.br>. Acesso em: 9 mar. 2025.

CHANCHAROENTHANA, W. et al. Alcohol-induced gut permeability defect through dysbiosis and enterocytic mitochondrial interference causing pro-inflammatory macrophages in a dose dependent manner. *Scientific Reports*, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 11520, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38661-5>. Acesso em: 31 jan. 2026.

CHAYANUPATKUL, Maneerat et al. Probiotics and their beneficial effects on alcohol-induced liver injury in a rat model: the role of fecal microbiota. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, Londres, v. 22, n. 168, 2022. DOI: 10.1186/s12906-022-03643-9.

CHEN, Ganggang et al. Gut microbiota dysbiosis: The potential mechanisms by which alcohol disrupts gut and brain functions. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, art. 916765, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916765>.

CHEN, Mo; ZHONG, Wanglei; XU, Weiqi. Alcohol and the mechanisms of liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v. 38, n. 1, p. 6-16, jan. 2023. Acesso em: 1 mar. 2025.

CHEN, Peng et al. Long-chain saturated fatty acid supplementation maintains intestinal eubiosis and reduces ethanol-induced liver injury in mice. *Gastroenterology*, v. 148, n. 1, p. 203-214.e16, 2015.

CHIU, Wan-Chun et al. Synbiotics reduce ethanol-induced hepatic steatosis and inflammation by improving intestinal permeability and microbiota in rats. *Food & Function*, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 1692-1700, 2015.

CONTRERAS-ZENTELLA, M. L.; VILLALOBOS-GARCÍA, D.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. Ethanol Metabolism in the Liver, the Induction of Oxidant Stress, and the Antioxidant Defense System. *Antioxidants*, v. 11, n. 7, p. 1258, 26 jun. 2022. Acesso em: 30 jan. 2026.

COSTARDY, João Victor Vezali et al. A review on alcohol: from the central action mechanism to chemical dependency. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 61, n. 4, p. 381–387, 2015. DOI: 10.1590/1806-9282.61.04.381.

D'ANTONGIOVANNI, V. et al. Use of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 as therapeutic strategy for alcohol-induced liver injury: involvement of the gut–liver axis.

British Journal of Pharmacology, Londres, v. 180, n. 3, p. 456–474, 2023. DOI: 10.1111/bph.15638.

DAHCHOUR, A.; WARD, R. J. Changes in brain dopamine extracellular concentration after acute and chronic alcohol exposure. *Alcohol and Alcoholism*, v. 57, n. 2, p. 220–228, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/alcalc/agab072>.

DHARAVATH, H. N. et al. Role of GABAergic synapse in alcohol use disorder: A mini-review of clinical and preclinical evidences. *Frontiers in Neural Circuits*, v. 17, 2023. DOI: 10.3389/fncir.2023.1218737.

DI CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, [S. l.], v. 85, n. 14, p. 5274-5278, jul. 1988.

DIKICI, Gülfem Rana. Ethology of addiction and dopamine. *Journal of Experimental and Basic Medical Sciences*, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 28-31, 2020. DOI: 10.5606/jebms.2020.75607.

DOMI, E. et al. Neurobiology of alcohol seeking behavior. *Journal of Neurochemistry*, v. 157, n. 5, p. 1456–1473, 2021. DOI: 10.1111/jnc.15343.

EZQUER, F. et al. A dual treatment blocks alcohol binge-drinking relapse: Microbiota as a new player. *Drug and Alcohol Dependence*, v. 236, p. 109466, 2022. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2022.109466.

EZQUER, F. et al. Innate gut microbiota predisposes to high alcohol consumption. *Addiction Biology*, v. 26, n. 6, e13018, 2021. DOI: 10.1111/adb.13018.

FORSYTH, C. B. et al. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic

steatohepatitis. *Alcohol*, [s. l.], v. 43, n. 2, p. 163-172, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2008.12.009>.

FU, Xiangyu et al. Disruption of intestinal barrier and dysbiosis of gut microbiota in an experimental rhesus macaque model with 6-year diabetes mellitus. *Experimental Animals*, v. 74, n. 1, p. 1-12, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1538/expanim.24-0125>.

FUENZALIDA, Catalina et al. Probiotics-Based Treatment as an Integral Approach for Alcohol Use Disorder in Alcoholic Liver Disease. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 729950, 2021. DOI: 10.3389/fphar.2021.729950. Acesso em: 28 jun. 2025.

GAO, Bin; BATALLER, Ramon. Alcoholic liver disease: Pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*, v. 141, n. 5, p. 1572–1585, nov. 2011. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.09.002.

GIBIINO, Giulia et al. Dietary Habits and Gut Microbiota in Healthy Adults: Focusing on the Right Diet. A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 13, p. 6728, 2021. DOI: 10.3390/ijms22136728.

GIPSON, C. D. et al. Interactions of neuroimmune signaling and glutamate plasticity in addiction. *Journal of Neuroinflammation*, v. 18, n. 1, art. 56, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02072-8>.

GREEN, Paul G.; ALVAREZ, Pedro; LEVINE, Jon D. Probiotics attenuate alcohol-induced muscle mechanical hyperalgesia: preliminary observations. *Molecular Pain*, [s. l.], v. 18, p. 1-6, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1177/17448069221075345>.

GU, J. et al. L-Theanine Mitigates Chronic Alcoholic Intestinal Injury by Regulating the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B Pathway and Modulating the Gut Microbiota. *Nutrients*, [s. l.], v. 17, n. 11, p. 1943, 2025.

HAIDER, Rehan et al. Hepatite alcoólica. *J Pesquisa Clínica e Relatórios*, v. 15, n. 1, 2024. DOI: 10.31579/2690-1919/351.

HERNÁNDEZ, José A.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, Rosa C.; RENDÓN-RAMÍREZ, Adela. Lipids and Oxidative Stress Associated with Ethanol-Induced Neurological Damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2016, p. 1–13, 2016. DOI: 10.1155/2016/1543809.

HETTA, Helal F. et al. Gut microbiome as a target of intervention in inflammatory bowel disease pathogenesis and therapy. *Immuno*, v. 4, n. 4, p. 726-744, 2024. DOI: 10.3390/immuno4040026.

HONG, Xiao et al. Alcohol-related liver disease (ALD): current perspectives on pathogenesis, therapeutic strategies, and animal models. *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fphar.2024.1432480. Acesso em: 1 mar. 2025.

HOSSAINI, D. et al. Biotin mitigates alcohol withdrawal-induced anxiety and depression by regulating serotonin metabolism, BDNF, inflammation, and oxidative stress in rats. *Neuropsychopharmacology Reports*, v. 45, n. 1, e12523, 2025. DOI: 10.1002/npr2.12523.

HSIEH, Pei-Shan et al. *Lactobacillus* spp. reduces ethanol-induced liver oxidative stress and inflammation in a mouse model of alcoholic steatohepatitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 21, n. 188, 2021. DOI: 10.3892/etm.2021.9619.

HYUN, Jeongeun et al. Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 11, p. 5717, 2021. DOI: 10.3390/ijms22115717.

KALAYCI, Riza et al. The role of intestinal permeability in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 26, n. 4, p. 599-611, 2012. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.04.001.

KHO, Z. Y.; LAL, S. K. The Human Gut Microbiome – A Potential Controller of Wellness and Disease. *Frontiers in Microbiology*, [s. l.], v. 9, p. 1835, 2018. Acesso em: 13 fev. 2026.

KOŁODZIEJCZYK, A. A. et al. The role of the microbiome in NAFLD and NASH. *EMBO Molecular Medicine*, v. 11, n. 2, art. e9302, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.15252/emmm.201809302>.

KOYAMA, Y.; BRENNER, D. A. Liver inflammation and fibrosis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 14, n. 1, p. 11-22, 2017.

KREIMEYER, H.; LLORENTE, C.; SCHNABL, B. Influence of Alcohol on the Intestinal Immune System. *Alcohol Research: Current Reviews*, v. 45, issue 1, p. 03, 2025. DOI: 10.35946/arcr.v45.1.03.

LAI, Weiwen et al. Oxidative stress in alcoholic liver disease, focusing on proteins, nucleic acids, and lipids: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 278, pt. 3, p. 134809, out. 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134809.

LECLERCQ, Sofia et al. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol dependence. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 26, n. 4, p. 599-611, 2012.

LI, Zhuotong et al. Modulação da microbiota intestinal na permeabilidade intestinal: uma nova estratégia para o tratamento de doenças gastrointestinais. *Imunofarmacologia Internacional*, v. 137, p. 112416, 20 ago. 2024. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112416.

LI, Z. et al. Amelioration of alcohol-induced acute liver injury in C57BL/6 mice by a mixture of TCM phytochemicals and probiotics with antioxidative and anti-

inflammatory effects. *Frontiers in Nutrition*, [s. l.], v. 10, p. 1144589, 2023. Acesso em: 13 fev. 2026.

LIU, B.-N. et al. Gut microbiota in obesity. *World Journal of Gastroenterology*, v. 27, n. 25, p. 3837-3850, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i25.3837>.

LOHOFF, Falk W. Targeting unmet clinical needs in the treatment of alcohol use disorder. *Frontiers in Psychiatry*, v. 13, art. 767506, 2022. DOI: 10.3389/fpsyt.2022.767506. Acesso em: 2 mar. 2025.

MACRAE, C. A.; PETERSON, R. T. Zebrafish as tools for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 14, n. 10, p. 721–731, 11 set. 2015.

MAFTEI, Nicoleta-Maricica et al. The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*, v. 12, n. 2, art. 234, 2024.

MCHUGH, R. Kathryn; WEISS, Roger D. Alcohol use disorder and depressive disorders. *Alcohol Research: Current Reviews*, v. 40, n. 1, 2019.

MORAES, Thaís Santa Cruz et al. Histopathological and histomorphometric analysis of the small intestine in Wistar rats subjected to daily alcohol intake. *Research, Society and Development*, v. 13, n. 2, e13513245115, 2024. DOI: 10.33448/rsd-v13i2.45115.

MORAES, T. S. C. et al. Histopathological and histomorphometric analysis of the small intestine after chronic ethanol ingestion. *Research, Society and Development*, v. 13, n. 3, p. 1–14, 2024.

MORAND, Alexandrina et al. Padrões de compensação e conectividade funcional alterada no transtorno por uso de álcool com e sem síndrome de Korsakoff. *Brain Communications*, v. 6, n. 5, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcae294>.

MOURA, I. B.; BUCKLEY, A. M. Using nutrition to help recovery from infections. *Current Opinion in Gastroenterology*, v. 41, n. 1, p. 54-58, 2025.

MUDYANSELAGE, Anjana W. et al. Alcohol triggers the accumulation of oxidatively damaged proteins in neuronal cells and tissues. *Antioxidants*, v. 13, n. 5, art. 580, 2024. DOI: 10.3390/antiox13050580. Acesso em: 1 mar. 2025.

MUDYANSELAGE, Dilanthi et al. Alcohol triggers the accumulation of oxidatively damaged proteins in neuronal cells and tissues. *Antioxidants, Basel*, v. 13, n. 5, p. 580, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13050580>.

OLUFUNMILAYO, E. O.; GERKE-DUNCAN, M. B.; HOLSINGER, R. M. D. Oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative disorders. *Antioxidants*, v. 12, n. 2, p. 517, 2023. DOI: 10.3390/antiox12020517.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Regional status report on alcohol and health in the Americas 2020. Washington, D.C.: OPAS, 2020. ISBN 978-92-75-12220-4.

OUABBOU, S. et al. Inflammation in mental disorders: is the microbiota the missing link? *Journal of Neural Transmission*, v. 127, n. 9, p. 1301-1316, 2020.

PAUL, P.; BALAJI, S. An Overview of the Effects of Probiotics on Vaccine-Mediated Immune Response in Humans. In: SHAPSHAK, P. et al. (ed.). *Global Virology V: 21st Century Vaccines and Viruses*. [s. l.]: Springer, 2025. p. 45-65.

PEI, J. et al. Probiotics alleviate chronic ethanol exposure-induced anxiety-like behavior and hippocampal neuroinflammation in male mice through gut microbiota-derived extracellular vesicles. *Microbiological Research*, [s. l.], v. 278, p. 127528, 2023. Acesso em: 31 jan. 2026.

PELLOW, S. et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 14, n. 3, p. 149-67, 1985.

PENG, Yanhua et al. Paradoxical effects of probiotics on alcohol-induced liver injury. *Journal of Gastroenterology*, v. 58, n. 4, p. 317-324, 2024.

PÉREZ-CERVERA, Laura et al. Dano induzido pelo álcool na fímbria/fórnice reduz a conexão hipocampo-córtex pré-frontal durante a abstinência inicial. *Acta Neuropathologica Communications*, v. 11, n. 1, p. 101, 21 jun. 2023. DOI: 10.1186/s40478-023-01597-8. Acesso em: 12 mar. 2025.

PETERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, v. 83, n. 2, p. 346–356, 1977. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4).

PIZARRO, M. et al. A synbiotic supplementation modulates alcohol intake, anxiety-like behavior, and cognitive impairment in a mouse model of alcohol use disorder. *Frontiers in Nutrition*, Lausanne, v. 8, e750333, 2021. DOI: 10.3389/fnut.2021.750333.

RAHMANI, Hamed et al. Microbial dysbiosis and its contribution to the development of alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, v. 28, n. 4, p. 475-487, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i4.475>.

RAMIREZ, Karina et al. The role of alcohol and the gut microbiome in the development of liver cirrhosis. *Liver International*, v. 45, n. 2, p. 153-162, 2025.

ROCA, M. et al. Reviewing the metabolome coverage provided by LC-MS: Focus on sample preparation and chromatography-A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, v. 1147, p. 38–55, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.12.025>.

ROTH, N. C.; QIN, J. Histopathology of Alcohol-Related Liver Diseases. *Clinics in Liver Disease*, v. 23, n. 1, p. 11-23, 2019. DOI: 10.1016/j.cld.2018.09.001.

SAADH, M. J. et al. Effects of probiotics on liver function, inflammation, and gut microbiota in alcoholic liver injury: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Nutrition*, v. 12, p. 1717393, 2025.

SACKS, J. J. et al. 2010 Costs of Excessive Alcohol Consumption in the U.S. *American Journal of Preventive Medicine*, v. 49, n. 5, p. e73-e79, 2015.

SANTAMARINA, Aline Boveto et al. Diet and gut microbiota imbalance in the pathogenesis of cirrhosis and alcoholic liver disease. *Revista Brasileira de Terapias e Tratamentos*, v. 16, n. 12, p. 25-36, 2024.

SARASA-RENEDO, Ana et al. Principales daños sanitarios y sociales relacionados con el consumo de alcohol [Health and social harm related alcohol]. *Revista Española de Salud Pública, Madrid*, v. 88, n. 4, p. 469–491, ago. 2014. DOI: 10.4321/S1135-57272014000400004.

SEITZ, Helmut K.; NEUMAN, Manuela G. Narrative review on alcoholic liver disease: from fibrosis to cancer. *Digestive Medicine Research*, v. 5, p. 15, 2022. DOI: 10.21037/dmr-21-91. Acesso em: 26 jun. 2025.

SIMÕES, Ana Lúcia; SANTOS, Manuela Silva. Microbiota intestinal e doenças hepáticas: diagnóstico e terapias inovadoras. *Microbiologia Aplicada*, v. 2, p. 124-134, 2024.

SUBRAMANIYAN, V. et al. Alcohol-induced liver injury in signalling pathways and curcumin's therapeutic potential. *Toxicology Reports*, v. 11, p. 433-441, 2023.

VILCHIS-LANDEROS, M. M. et al. Antioxidant enzymes and their potential use in breast cancer treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 11, p. 5675, 2024. DOI: 10.3390/ijms25115675.

WALTER, T. J.; VETRENO, R. P.; CREWS, F. T. Alcohol and stress activation of microglia and neurons: brain regional effects. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 41, n. 12, p. 2066–2081, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/acer.13511>.

WANG, Shao-Cheng et al. Alcohol Addiction, Gut Microbiota, and Alcoholism Treatment: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], v. 21, n. 17, p. 6413, 3 set. 2020. Acesso em: 1 set. 2025.

WANG, Zongxin et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and alcohol use disorder. *Alcohol Research & Health*, v. 41, n. 3, p. 257-265, 2023.

WISHART, D. S. et al. Ethanol (T3D0770). *Toxin and Toxin Target Database (T3DB)*. 2022. Disponível em: <https://www.t3db.ca/toxins/T3D0770>. Acesso em: 25 jun. 2025.

WONG, Mun-Hsiu et al. Prevention and therapy for alcohol-induced liver injury. *Journal of Hepatology*, v. 68, n. 2, p. 131-145, 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global status report on alcohol and health – 2014 ed.* Switzerland: WHO, 2014.

YAN, A. W. et al. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology*, v. 53, n. 1, p. 96-105, 2011.

YAZICI, H.; BARDAKCI, S. Factors Associated with Relapses in Alcohol and Substance Use Disorders. *Eurasian Journal of Medicine*, v. 55, n. 2, p. 75-81, 2023. DOI: 10.5152/eurasianjmed.2023.23335.

YOU, Min et al. Sirtuin 1 signaling and alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, v. 4, n. 2, p. 88–100, abr. 2015. DOI: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.12.06.

ZHANG, R. et al. Effects of Puerariae radix extract on the increasing intestinal permeability in rat with alcohol-induced liver injury. *Journal of Ethnopharmacology*, [s. l.], v. 126, n. 2, p. 207–214, 2009. Acesso em: 26 jan. 2026.

ZHANG, S. et al. Lactobacillus plantarum ST-III culture supernatant ameliorates alcohol-induced cognitive dysfunction by reducing endoplasmic reticulum stress and oxidative stress. *Frontiers in Physiology*, v. 13, p. 951543, 2022.

ZHANG, Zhibo et al. Ethanol-induced effects on gut microbiota and gut permeability: insights from mouse models and human studies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 12, art. 3702, 2025. DOI: 10.3390/ijms26123702.

ZHAO, L. et al. Serum levels of folate, vitamin B6, and vitamin B12 are associated with cognitive impairments in depression patients. *Acta Neuropsychiatrica*, v. 36, n. 1, p. 44–50, 2024. DOI: 10.1017/neu.2023.41.

ZHONG, W. et al. The role of zinc deficiency in alcohol-induced intestinal barrier dysfunction. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 298, n. 5, p. G625–G633, 2010. DOI: 10.1152/ajpgi.00350.2009.

ZHOU, J. Y. et al. Long-term binge and escalating ethanol exposure causes necroinflammation and fibrosis in rat liver. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 213–222, 2013.

ZHOU, L.; WONG, K. Y.; XIE, H. Modulation of intestinal inflammation and protection of dopaminergic neurons in Parkinson's disease mice through a probiotic formulation

targeting NLRP3 inflammasome. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, v. 20, art. 9, p. 1-?, 2025. DOI: 10.1007/s11481-024-10163-5.

ZHOU, W. et al. Role of gut microbiota in alcohol use disorder: implications for prevention and therapy. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, art. 12488, 2025. DOI: 10.3389/fmicb.2025.12488.

## ANEXO A - APROVAÇÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade do Extremo Sul Catarinense  
Comissão de Ética no Uso de Animais



### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **12/11/2024**.

<b>Título do projeto</b>	O Eixo Intestino-Cérebro e o Alcoolismo: O papel de Probióticos na Modulação da microbiota e do Comportamento
<b>Project title</b>	The Gut-Brain Axis and Alcoholism: The Role of Probiotics in Modulating the Microbiota and Behavior
<b>Número do protocolo Protocol number</b>	73/2024
<b>Pesquisador principal Principal Investigator</b>	EDUARDO PACHECO RICO
<b>Pesquisadores Researchers</b>	Guilherme Lodetti da Silva, Eduardo Ronconi Dondossola, Ana Carolina Salvador de Farias, Amanda Gomes Teixeira, Monique da Silva Campolino, Ágata Pizoni Zomer, Gustavo Costa da Silva, Rafael Augusto Ribeiro Lima Ronsoni,
<b>Finalidade</b>	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
<b>Vigência da autorização</b>	01/12/2024 a 01/12/2025
<b>Espécie/linhagem/raça</b>	Rato heterogênico / Wistar
<b>Idade/Peso</b>	60 dias / 350 gramas
<b>Número de animais</b>	Masculino 48 / Feminino 0
<b>Procedência</b>	Biotério Unesc

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail [ceua@unesc.net](mailto:ceua@unesc.net).

Criciúma-SC, 12 de novembro de 2024

**Josiane Budni**  
Coordenadora da CEUA