



UNIVERSIDADE FEEVALE

**MESTRADO ACADÊMICO EM TOXICOLOGIA E ANÁLISES
TOXICOLÓGICAS**

Avaliação do estresse oxidativo e sua associação com a terapia medicamentosa em pacientes internados para tratamento de dependência por cocaína.

Isabela Lorini Franciscatto

Linha de Pesquisa: Toxicologia Humana e Análises Toxicológicas

Orientador: Magda Susana Perassolo
Co-orientador: Ana Luiza Ziulkoski

Novo Hamburgo, fevereiro de 2021



ISABELA LORINI FRANCISCATTO

Avaliação do estresse oxidativo e sua associação com a terapia medicamentosa em pacientes internados para tratamento de dependência por cocaína.

Dissertação apresentada para obtenção do GRAU DE MESTRE em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela Universidade Feevale.

Orientador: Magda Susana Perassolo

Co-orientador: Ana Luiza Ziulkoski

Novo Hamburgo, fevereiro de 2021

FICHA CATALOGRÁFICA**DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)**

Franciscatto, Isabela Lorini.

Avaliação do estresse oxidativo e sua associação com a terapia medicamentosa em pacientes internados para tratamento de dependência por cocaína / Isabela Lorini Franciscatto. – 2021.

61 f. ; il. color. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Universidade Feevale, Novo Hamburgo-RS, 2021.

Inclui bibliografia.

“Orientador: Magda Susana Perassolo ; Co-orientador: Ana Luiza Ziulkoski”.

1. Cocaína.
2. Estresse oxidativo.
3. Dependência química.
4. Bioquímica.
5. Terapia medicamentosa.

I. Título.
CDU 615

Bibliotecária responsável: Bruna Heller – CRB 10/2348

ISABELA LORINI FRANCISCATTO

Dissertação intitulada “Avaliação do estresse oxidativo em pacientes internados para tratamento de dependência por cocaína e crack”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, da Universidade Feevale, como requisito necessário para obtenção do grau de mestre.

Aprovado por:

Orientador(a): Prof. Dr Magda Susana Perassolo
Universidade Feevale

Prof. Dr. Marina Venzon Antunes
Banca Examinadora – Universidade Feevale

Prof. Dra. Sabrina do Nascimento
Banca Examinadora – EMS Farmacêutica

Novo Hamburgo, fevereiro, 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Júlio e Maurem, pelo seu amor, dedicação e apoio incansável à minha formação. À minha irmã Lauren e meu cunhado Marcielo, pelo apoio e incentivo e pelos presentinhos lindos recebidos durante os dois anos longe de casa, minhas sobrinhas Joanna e Lívia.

Ao meu namorado e amigo, Gabriel Guiotto, pelo suporte e ombro amigo, por confiar no meu potencial e ser incentivador das minhas escolhas.

Agradeço também aos meus familiares, que mesmo de longe, acompanharam minha trajetória e vibraram pelas minhas conquistas.

As minhas amigas, Gabrieli e Daniela, por serem meu porto seguro em momentos de angustia e por dividirem comigo as conquistas ao longo das nossas vidas. À Ana Laura por ter caminhado comigo ao longo do mestrado, ter sido minha dupla desde o começo e por dividir comigo as aflições e alegrias da pesquisa.

Aos professores do PPG por toda a troca de conhecimento, incentivo e aprendizado. E especial à minha orientadora Magda e minha co-orientadora Ana Luiza, que foram fundamentais na realização deste estudo e contribuíram muito no meu crescimento acadêmico.

Agradeço também a Gabriela Monteiro, responsável pelo laboratório Farmácia Universitária, à Bruna Seibert, Letícia Moraes e Marilia Mottin pelo auxilio nas práticas de laboratório e pela disponibilidade e ajuda ao longo dessa pesquisa.

RESUMO

O uso da cocaína afeta vários sistemas e órgãos e estudos têm mostrado que o consumo da substância leva a um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, e uma redução das defesas antioxidantes. O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros de estresse oxidativo (EO), bioquímicos e hematológicos e associá-los a terapia medicamentosa realizada por pacientes internados para tratamento da dependência por cocaína, comparando os níveis séricos no momento da admissão e na alta hospitalar. Quarenta pacientes foram incluídos no estudo. O EO foi verificado através da catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutationa redutase (GPx), poder antioxidant total (FRAP), níveis de malodialdeído (MDA) e grupamento sulfidrila (GS). Os medicamentos utilizados durante a internação foram registrados e sua influência sobre os parâmetros de EO analisada. Após o período de internação, observou-se um aumento nos níveis de GGT, redução na atividade da SOD e aumento na atividade de GPx e nos níveis de FRAP. Usuários de carbamazepina apresentaram valores mais altos de SOD e menores de FRAP na alta hospitalar. O uso da clorpromazina provocou diferença nos parâmetros de creatinina e gama-glutamiltransferase (GGT), e os níveis de transaminase glutâmico oxalacética (TGO), MDA e FRAP ficaram aumentados na alta hospitalar. O haloperidol e a tiamina durante a internação interferiram nos níveis de fosfatase alcalina. A utilização de risperidona provocou aumento na dosagem de SOD, e o ácido fólico níveis menores de GPx e maiores de transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e fosfatase alcalina. Neste estudo pode-se perceber que os parâmetros relacionados com danos hepáticos tiveram melhorias durante a internação, mas não se pode excluir a interferência do uso de múltiplos medicamentos concomitantemente. Os resultados sugerem que o tratamento de reabilitação medicamentosa foi eficaz na diminuição do dano oxidativo.

Palavras-chave: cocaína, estresse oxidativo, dependência química, bioquímica, terapia medicamentosa.

ABSTRACT

The use of cocaine affects several systems and organs and studies have shown that consumption of the substance leads to an increase in the production of reactive oxygen species, and a reduction in antioxidant defenses. The objective of this study was to evaluate the oxidative stress (OE), biochemical and hematological parameters and associate them with drug therapy performed by inpatients for the treatment of cocaine addiction, comparing serum levels at admission and at discharge. Forty patients were included in the study. EO was verified through catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GPx), total antioxidant power (FRAP), levels of malodialdehyde (MDA) and sulfhydryl group (GS). The drugs used during hospitalization were registered and their influence on the parameters of EO analyzed. After the hospitalization period, there was an increase in gamma-glutamyltransferase (GGT) levels, a reduction in SOD activity and an increase in GPx activity and FRAP levels. Carbamazepine users evaluate higher SOD values and lower FRAP values at hospital discharge. The use of chlorpromazine caused a difference in the parameters of creatinine and GGT, and the levels of glutamic oxalacetic transaminase (TGO), MDA and FRAP considered increased at hospital discharge. Haloperidol and thiamine during hospitalization interfered with alkaline phosphatase levels. The use of risperidone caused an increase in the dosage of SOD, and the folic acid lower levels of GPx and higher levels of glutamic-pyruvic transaminase (TGP) and alkaline phosphatase. In this study, it can be seen that the parameters related to liver damage improve during hospitalization, but the interference from the use of multiple concomitant drugs cannot be excluded. The results obtained that the drug rehabilitation treatment was effective in reducing oxidative damage.

Keywords: cocaine, oxidative stress, chemical dependence, biochemistry, drug therapy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AUDIT - Alcohol use disorders identification test

CAT - Catalase

CHCM- Concentração de hemoglobina corpuscular média

EMCDDA – European monitoring center for drug and drug addiction

EO – Estresse oxidativo

ERN – Espécie reativa de nitrogênio

EROS – Espécie reativa de oxigênio

FC- Frequência cardíaca

FR- Frequência respiratória

FRAP – Poder antioxidante total

GGT – Gama-glutamiltransferase

GPx – Glutationa redutase

GS – Grupamento sulfidrila

GSH- Glutationa redutase

HCM- Hemoglobina corpuscular média

MDA - Malodialdeído

PAD- Pressão arterial diastólica

PAS- Pressão arterial sistólica

RDW- Red cell distribution width

SOD – Superóxido dismutase

TCLE – Termo de consentimento livre esclarecido

TCUD – Termo de consentimento de utilização de dados

TGO – Transaminase glutâmico oxalacética

TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica

UNODC – United nations office on drugs and crime

VCM- Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO GERAL.....	10
2. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2.1 COCAÍNA	12
2.2 ESTRESSE OXIDATIVO	14
3. OBJETIVOS	18
3.1 OBJETIVO GERAL	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4. CAPÍTULO 1.....	19
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS.....	48
ANEXOS.....	53
Anexo I:	53
Anexo II:	55
Anexo III:.....	58
Anexo IV: Certificados	59

1 APRESENTAÇÃO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar parâmetros de estresse oxidativo em pacientes internados para tratamento da dependência por cocaína/crack, além de avaliar o perfil bioquímico e hematológico dos mesmos e a prevalência do uso de fármacos durante o período de desintoxicação.

Essa dissertação inicia com uma breve revisão bibliográfica sobre a temática desenvolvida, seguida da apresentação de um capítulo composto de artigo científico encaminhados para publicação em revista, como abaixo citado:

CAPÍTULO 1: Artigo será encaminhado para a Drug and Chemical Toxicology (Taylor & Francis online), intitulado “Evaluation of oxidative stress in patients hospitalized for treatment of cocaine and crack addiction”.

Em adição ao artigo submetido, durante a realização desta pesquisa os trabalhos abaixo foram apresentados em eventos científicos, a saber:

- “Estresse oxidativo em usuários internados para tratamento por dependência de cocaína/crack”. Apresentado na forma de resumo expandido no Seminário de Pós-Graduação - Inovamundi 2019, da Universidade Feevale, realizado entre os dias 21 a 26 de outubro de 2019.
- “Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo em pacientes internados para tratamento por dependência de cocaína/crack”. Apresentado na forma de resumo expandido no Seminário de Pós-Graduação- Inovamundi 2020, da Universidade Feevale, realizado entre os dias 17 a 24 de outubro de 2020.
- “Avaliação do perfil bioquímico e hematológico em pacientes internados para tratamento de dependência cocaína e crack”. Apresentado na forma de resumo expandido no Seminário de Pós-Graduação - Inovamundi 2020, da Universidade Feevale, realizado entre os dias 17 a 24 de outubro de 2020.
- Co-autora na publicação “Efeito da desintoxicação no estresse oxidativo de usuários de etanol”. Apresentado na forma de resumo pela graduanda Letícia



Moraes na Feira de Iniciação Científica (FIC) - INOVAMUNDI, 2020, da Universidade Feevale, realizado entre os dias 17 a 24 de outubro de 2020.

2 INTRODUÇÃO GERAL

O uso crônico de cocaína é um problema de saúde pública aparentemente intratável em todo o mundo. Ao ser utilizada seja aspirada, injetada ou humana na forma de crack, os usuários costumam sofrer consequências negativas para a saúde, relações sociais e econômicas (HANLON *et al.* 2013).

Segundo III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira (III LNUC, 2018), aproximadamente 800 mil indivíduos com idade compreendida entre os 12 e 18 anos, realizaram o primeiro consumo de alguma substância ilícita entre os 13 anos. Estima-se também que a mistura de tabaco com cocaína seja utilizada por cerca de 250 mil brasileiros, e que a mistura de tabaco com crack e/ou similares, tenha sido consumida por 205 mil pessoas.

O uso da cocaína associa-se a um alto risco de problemas somáticos, sociais e psicológicos, que incluem toxicidade, psicose, transtornos de humor e ansiedade (GAWIN E KLEBER, 1986; KILBEY *et al.*, 1992; KLONER & HALE, 1993; MARAJ *et al.*, 2010). Dentre os prejuízos também estão a dependência, a síndrome de abstinência e os distúrbios comportamentais (CALDAS, 1999; NASCIMENTO, 2003). Mesmo com diversos esforços buscando desenvolver tratamentos eficazes, seja através de fármacos ou tratamentos cognitivos e comportamentais, as taxas de recaída costumam ser altas (VOCCI, 2007).

2.1 COCAÍNA

A cocaína é um dos alcaloides encontrados nas folhas de duas espécies de *Erythroxylum*, planta originária das regiões dos Andes, sendo a *Erythroxylum coca* a principal fonte de produção ilícita (CRUZ & GUEDES, 2013). Suas propriedades estimulantes já eram conhecidas há mais de 4.000 anos na história da humanidade, quando as pessoas mascavam suas folhas. Nas culturas indígenas das regiões da Bolívia e do Peru, esse hábito é praticado há 1.200 anos (YONAMIBE, 2004).

A partir de 1855, os constituintes químicos da cocaína foram isolados, aumentando drasticamente o seu uso. Em 1884, surgiram diversas aplicações terapêuticas para a cocaína, incluindo tratamentos para a asma, depressão e alívio da fadiga crônica

(JOHANSON & FISHMAN, 1989). No final do século XIX, aumentaram os interesses sobre a toxicidade da cocaína devido às altas taxas de morte e intoxicação relacionadas ao uso da droga (SIQUEIRA *et al.* 2011).

O uso da cocaína era principalmente pela via intranasal ou intravenosa, no começo dos anos 90, a forma fumada da cocaína ganhou popularidade pela sua facilidade de uso, maior disponibilidade e efeito imediato (YONAMIBE, 2004). Ao alterar o sal de cocaína para a sua forma livre, obteve-se a formação de pedras, conhecida como “crack” (JULIEN, 1997).

Na América do Sul, o consumo e o tráfico da cocaína tornaram-se mais relevantes, particularmente no Brasil, devido a fatores como a localização geográfica e à grande população urbana (UNODC, 2014). Nesse contexto, segundo Ribeiro (2015), torna-se evidente a crescente utilização da cocaína no cenário brasileiro, merecendo atenção especial de políticas voltadas à saúde pública.

Segundo dados da United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC, 2018), mostra-se uma expansão dos mercados de drogas ilícitas, com a produção de cocaína e de ópio atingindo recordes altíssimos. De 2016 a 2017, a produção global de ópio aumentou 65%, atingindo 10.500 toneladas, a mais alta estimativa já registrada pelo UNODC desde que começou a monitorar a produção de ópio global, no início do século 21. O Relatório Mundial sobre Drogas de 2019, aponta que 35 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem de transtornos causados pelo uso de drogas e apenas uma em cada sete pessoas recebe tratamento adequado (UNODC, 2019).

A substância potencializa as ações da dopamina, noradrenalina e serotonina, bloqueando a captura de neurotransmissores nos terminais nervosos pré-sinápticos (YONAMIBE, 2004). A ação do transporte de dopamina é a mais importante, pois leva à dependência através dos efeitos da cocaína no organismo (CRUZ & GUEDES 2013). Uma vez que o prazer é ocasionado pela droga, deve-se principalmente ao fato de a substância inibir a receptação neural da dopamina, consequentemente deixando muita dopamina livre na fenda sináptica (CARVALHO, 2006).

Kessler (2003) aborda os efeitos causados pela cocaína nos diversos sistemas do organismo. Os efeitos citados ocorrem nos sistemas cardiovascular, gastrointestinal, respiratório e no geniturinário. Após cessados os efeitos euforizantes causados pelo uso da cocaína, os efeitos depressivos são identificados. Assim, durante a abstinência, o desejo intenso pelo consumo da droga, associado aos sintomas da abstinência, caracterizam a síndrome de dependência, caracterizada por um conjunto de sintomas cognitivos, comportamentais e fisiológicos.

Conforme descrito no Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais - Quarta Edição (DSM-IV) incluem fadiga, sonhos desagradáveis, aumento do apetite, aumento da agitação, retardo psicomotor, insônia ou hipersônia (KESSLER, 2003). Estudos apresentados por Zaleski (2016) demonstram que a abstinência causa uma redução nos transportadores de dopamina e também no número de células de liberação dopaminérgica espontânea.

Segundo a Associação Médica Brasileira (2002), a dependência da cocaína se caracteriza pelo consumo compulsivo da substância, geralmente pela necessidade de aliviar ou evitar os sintomas provocados pela falta do consumo da droga. A severidade da crise de abstinência de cocaína depende da intensidade do consumo e da presença de transtornos psiquiátricos. A síndrome de abstinência tem três fases: crash (agitação, depressão, anorexia e craving intenso), síndrome de abstinência (disforia, anedonia, falta de motivação e fissura intensa) e fase de extinção (fissuras frequentes e duração indefinida).

2.2 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo (EO) define-se como um desequilíbrio entre os componentes antioxidantes e pró-oxidantes do organismo, gerando potenciais danos ao metabolismo. Segundo Zaparte *et al.* (2014), o EO está relacionado a fatores como, o aumento na geração de espécies reativas de nitrogênio (ERN) e/ou oxigênio (EROS), através da acumulação dos seus intermediários reativos; os danos causados no sistema de defesa antioxidante, incluem a depleção de antioxidantes enzimáticos e a inibição de enzimas antioxidantes; e a incapacidade em reparar os danos oxidativos.

As EROS possuem elétrons desemparelhados que podem ser deletérios às células em alta concentração, em contrapartida, quando em equilíbrio com o sistema antioxidante, participam na fagocitose, respiração celular, vasodilatação, inflamações e na sinalização celular. O óxido nitroso, das ERN, é benéfico na formação de moléculas primordiais, como na eficiência do metabolismo energético, na plasticidade do genoma e variabilidade de espécies e na apoptose de células danificadas (ZAPARTE *et al.* 2014; GEORGE & KOOB, 2010).

Achados na literatura evidenciam a participação de estresse oxidativo em diversas patogenias de desordem psiquiátricas, definido como um distúrbio no equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes (SCHERER, 2014; BARBOSA *et al.* 2010). Marcadores de estresse oxidativo estão aumentados em usuários de álcool, cocaína, e outras drogas de abuso e desta forma, os prejuízos causados pelo uso crônico dessas substâncias, ocasionam danos e apoptose às células cerebrais (SCHERER, 2014).

Segundo Pomierny-Chamiolo, *et al.* (2013), estudos retratam que após a administração da cocaína, os níveis de antioxidantes aumentam como uma tentativa de compensar a exacerbação da produção de EROS evitando danos celulares. As EROS também podem agravar doenças neurodegenerativas, portanto, estudos que abordem terapias antioxidantes que possam atenuar o EO podem ser benéficas no controle das condições neurodegenerativas dos usuários de cocaína (GRASBON-FROFL, 1999).

2.2.1 BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

O sistema de defesa antioxidante tem como função inibir ou reduzir os danos causados pela ação dos radicais livres e usualmente é dividido em enzimático e não enzimático. O sistema de defesa enzimático inclui enzimas como SOD, CAT e GPx, que agem por meio de mecanismos de prevenção e impedem ou controlam a formação de espécies reativas e não reativas. As enzimas CAT e GPx agem impedindo o acúmulo de peróxido de hidrogênio, enquanto a SOD atua na defesa do organismo contra ERO removendo o radical superóxido. O sistema de defesa não enzimático inclui antioxidantes de origem dietética, como vitaminas, minerais e compostos fenólicos (BARBOSA et al, 2010).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das espécies reativas do metabolismo do oxigênio, porém a membrana é um dos mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica, que acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares (MELLO et al, 1983). Consequentemente, há perda da seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos, e formação de produtos citotóxicos, como o MDA, culminando com a morte celular (HERSHKO, 1989). A lipoperoxidação também pode estar associada aos mecanismos de envelhecimento, de câncer e à exacerbação da toxicidade de xenobióticos (SHAN & JONES, 1990).

A quantificação do MDA tem sido utilizada para avaliar a extensão do dano oxidativo. Esta quantificação pode ser feita pela reação de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBA) a qual tem sido usada como uma medida de lipoperoxidação (ANSCHAU, 2011).

A membrana do glóbulo vermelho contém grande número de grupos sulfidrila, e os agentes oxidantes podem converter estes grupos tióis em componentes dissulfeto, levando à desnaturação das proteínas da membrana (GILBERT & MC LEAN, 1990). Neste processo, pode ocorrer lesão intracelular, com oxidação da hemoglobina em metahemoglobinina, que precipita e forma os corpúsculos de Heinz (RICE-EVANS & BAYSAL, 1987; WINTERBOURN, 1990; FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

O componente lipídico da membrana eritrocitária está também sujeito à agressão oxidativa. Os produtos desta lipoperoxidação podem induzir o estresse oxidativo intracelular (RICE-EVANS et al, 1986). Os lipídios e as proteínas que constituem a membrana eritrocitária podem sofrer com a ação dos radicais livres ocorrendo oxidação de grupos sulfidrila das proteínas de membrana, formação de ligações ou aglomerados entre proteínas oxidadas, além de inibição de enzimas e sistemas de transporte de membrana, alteração da morfologia da célula (CIMEN, 2008) e também hemólise (ZOU et al., 2001).

Não há consenso nos estudos sobre aumento da peroxidação lipídica em dependentes de cocaína, os quais têm mostrado resultados conflitantes. Narvaez et al.

(2013) não apresentam em seu estudo alterações entre pacientes dependentes da substância e o grupo controle.

Estudos realizados por Zaparte, *et al.* (2014), demonstraram níveis elevados de proteína carbonilada e conteúdo total de tióis nas pacientes após quatro dias de internação, e níveis significativamente mais baixos de superóxido dismutase (SOD), glutationa peroxidase (GPx), glutationa reduzida (GSH) e potencial reativo antioxidante total (FRAP), quando comparadas a controles. Após 18 dias de abstinência, elevaram-se os níveis de SOD, GPx, GSH e FRAP nas pacientes, enquanto os níveis de proteína carbonilada e conteúdo proteico de tióis ficaram diminuídos.

3 OBJETIVOS

Apresentam-se, a seguir, os objetivos propostos para o estudo.

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os parâmetros de estresse oxidativo, bioquímicos e hematológicos e associá-los a terapia medicamentosa realizada por pacientes internados para tratamento da dependência por cocaína, comparando os níveis séricos no momento da admissão e na alta hospitalar.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos que nortearam este trabalho foram:

- a) Avaliar o estresse oxidativo de usuários de cocaína, através dos níveis de CAT, SOD, GPx, MDA e FRAP, no momento da internação hospitalar e após a alta hospitalar.
- b) Avaliar parâmetros bioquímicos e perfil hematológico dos pacientes no momento da internação e após a alta hospitalar.
- c) Avaliar os níveis de grupamentos sulfidrilas (GS) de usuários de cocaína no momento da internação e após a alta hospitalar;
- d) Avaliar a prevalência do uso de fármacos durante a internação e comparar com os parâmetros estudados.

4 CAPÍTULO 1

Evaluation of oxidative stress and its association with drug therapy in internal patients to treatment of cocaine dependence.

Oxidative stress in cocaine addiction

Isabela Lorini Franciscatto ^{a b}, Bruna Scherer Seibert ^b, Samuel Selbach Dries ^b, Rafael Linden ^{a c}, Ana Luiza Ziulkoski ^{a d}, Magda Susana Perassolo ^{a b}.

^a Graduate Program on Toxicology and Analytical Toxicology, Feevale University, Novo Hamburgo, RS, Brazil.

^b University Pharmacy, Feevale University, Novo Hamburgo, RS, Brazil.

^c Laboratory of Analytical Toxicology, Feevale University, Novo Hamburgo, Brazil.

^d Molecular Microbiology Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo, Brazil.

Corresponding author: Universidade Feevale, RS-239, 2755 | Novo Hamburgo, RS - CEP 93525-075, telephone/fax: +55 (51) 3586-8800. E-mail: magdaperassolo@feevale.br

Evaluation of oxidative stress and its association with drug therapy in internal patients to treatment of cocaine dependence.

The use of cocaine affects several systems and organs and the consumption of this substance leads to an increase in the production of reactive species oxygen, and a reduction in antioxidant defenses. The aim of this study was to evaluate the oxidative stress (EO), biochemical and hematological parameters in patients hospitalized for treatment of cocaine addiction, comparing serum levels at admission and at hospital discharge. Forty patients were included in the study. EO was evaluated using catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GPx), total antioxidant power (FRAP), malondialdehyde (MDA) and sulfhydryl group (GS). The medications used during hospitalization were registered and their influence on the parameters of EO analyzed. After the hospitalization period, there was an increase in GGT levels, a reduction in SOD activity and an increase in GPx activity and FRAP levels. Carbamazepine users had higher SOD values and lower FRAP values at hospital discharge. The use of chlorpromazine caused differences in the parameters of creatinine and gamma-glutamyltransferase (GGT), and the levels of glutamic oxalacetic transaminase (TGO), MDA and FRAP are increased at hospital discharge. Haloperidol and thiamine during hospitalization interfered with alkaline phosphatase levels. The use of risperidone caused an increase in the dosage of SOD, and the acid folic reached levels lower of GPx and higher levels of glutamic-pyruvic transaminase (TGP) and alkaline phosphatase. Drug rehabilitation treatment was effective in decreasing oxidative damage represented by the reduction of biological markers, which are closely related to the severity of withdrawal symptoms.

Keywords: cocaine, oxidative stress, chemical dependence, biochemistry, drug therapy.

Funding: This research was funded by Feevale University.

Disclosure statement: No potential conflict of interest was reported by the author(s).

1 Introduction

Data released by the World Drug Report (UNODC, 2020) show that around 269 million people used drugs worldwide in 2018. In addition, more than 35 million people suffer from disorders associated with drug use. According to the European Report on Drugs (EMCDDA, 2019) cocaine has been used at least once in a lifetime by 5.4% of the population, aged between 15 and 64 years.

In Brazil, according to home-based epidemiological surveys in 2018, about 3.9% of respondents describe the use of cocaine during their lives and 1.7% used it in 2017. With regard to crack, 1.5% of respondents reported lifetime use and 0.8% in the last year. Among respondents who reported using cocaine in the last year, 40% met the criteria for substance use disorder (ABDALLA *et al.* 2014). It is also estimated that there are about 370 thousand cocaine users who live without a fixed home and have not been registered in household surveys (BASTOS & BERTONI, 2014).

Chemical dependency is characterized as a chronic disease, responsible for individual, family and social disorders that favor family stress and the misery of thousands of people (UNODC, 2018; SOCCOLL *et al.*, 2014). Among the damages attributed to this substance, frequent consumption, active search for drugs, dysfunctional behavior and symptoms of tolerance and withdrawal stand out directly (OLIVEIRA JR *et al.*, 2018).

After use, usually by inhalation, the use of cocaine is associated with constriction of blood vessels, increased heart rate and blood pressure and increased body temperature (OLIVEIRA JR *et al.*, 2018). The substance also presents cardiovascular damage such as myocardial ischemia, cardiac arrhythmias and cardiomyopathies (WEBER *et al.* 2000; KANANI *et al.* 1998; FRUSTACI *et al.* 2015). Other pathologies associated with consumption are related to lung injuries, such as pneumonia, pneumothorax, diffuse alveolar hemorrhage and pulmonary emphysema (McCORMICK & NELSON, 2007; SOLAINI *et al.*, 2008; DUSHAY *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2014).

Cocaine users also become vulnerable to infectious diseases, increasing vulnerability to immunity. The nature of the substance's effects produces euphoria,

decreased judgment and inhibition of impulse control (OLIVEIRA JR *et al.*, 2018; PARikh *et al.*, 2012). The central nervous system (CNS) is particularly vulnerable, which can cause strokes and biochemical and molecular changes in the CNS are also described (CHENG *et al.*, 2016; OLIVEIRA JR *et al.*, 2018).

Treatment for these conditions requires interdisciplinary approaches based on psychotherapeutic and social interventions, aiming at the rehabilitation of drug addicts. However, treatment for detoxification shows repeated episodes of relapse and high rates of abandonment (MONTEIRO *et al.*, 2011)

Despite the progressive increase in the use of cocaine in different countries, the factors related to better clinical outcomes are still unknown (KESSLER & PECHANSKY, 2008). A study carried out with 227 drug addicts, in a psychosocial care center for alcohol and other drugs (CAPS) in Brazil, showed 56.8% of treatment abandonment (MONTEIRO *et al.*, 2011). A study carried out in Spain, showed a dropout rate of 52.9% in a period of up to six months and 67.8% in one year (CASARES-LÓPEZ *et al.*, 2013).

Considered one of the main causes of several chronic disorders and a determining factor in several pathophysiology, oxidative stress (OE) occurs due to an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and / or nitrogen (RNA), also called free radicals and endogenous antioxidant capacity. This imbalance causes damage to the antioxidant defense system, which includes depletion in enzymatic antioxidants, inhibition of antioxidant enzymes, inability to repair oxidative damage and cell death (KHANSARI, et al, 2009; PERNAMBUCO, 2014; PICKERING *et al.*, 2018; ZAPARTE *et al.* 2014).

Cocaine consumption results in a decrease in antioxidant defenses, such as catalase (CAT), and superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GPx) (DEVI & CHAN, 1999; FRUSTACI *et al.*, 2015). In addition, evidence proves the reduction of biological markers for OE, related to the severity of withdrawal symptoms in patients in rehabilitation (ZAPARTE *et al.*, 2015).

Thus, this study aims to assess oxidative stress parameters in hospitalized patients for the treatment of cocaine addiction, associating the dosages of these biomarkers, the biochemical parameters and hematological profile, at the time of hospitalization and after hospital discharge, with assessing the prevalence of drug use during treatment.

2 Methods

2.1 Sample

The present study is a prospective cohort study. Seventy patients were admitted to a mental health unit for the treatment of cocaine addiction and were selected to participate in the follow-up period from June 2017 to December 2019, signing a consent form (ICF). Of these, thirty abandoned treatment against medical advice and were excluded from the research. This study was approved by the Research Ethics Committee of Feevale University (CAAE: 81406617.6.0000.5348). Thus, the study was conducted with 40 patients aged between 18 and 57 years. For all patients, cocaine consumption was stopped completely during treatment, and only three cigarettes were made available to smokers during the day.

2.2 Data collection

Patients' clinical information, such as: physiological parameters (blood pressure, weight, height, heart rate, respiratory rate); comorbidities; and use of medications; were collected through medical records.

The history of use of alcohol, tobacco and drugs of abuse was collected during the interview and data such as the average amount of consumption and the time since the last dose were included. For the patients who used alcohol concomitantly with cocaine, the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) questionnaire was conducted. Sociodemographic information and on the use of antioxidant drugs were also collected at this time, no patient participating in this study, use of antioxidants.

For the measurement of biochemical parameters and EO, four tubes of venous blood were collected, containing approximately 4mL each: three containing anticoagulant EDTA and one containing heparin. Two tubes containing anticoagulant EDTA were used

to measure the biochemical parameters, the third was centrifuged to separate the plasma, the same was reserved and stored at a temperature of -80 ° C for later dosing of the other EO parameters. The tube containing anticoagulant heparin, used for the measurement of catalase.

2.3 Laboratory tests

For laboratory tests, samples of venous blood were collected at the time of the patient's admission and before hospital discharge, an average of 23 days of treatment. Hematological profile, oxaloacetic glutamic transaminase (TGO), glutamic-pyruvic transaminase (TGP), gamma-glutamyltransferase (GGT), alkaline phosphatase, urea and creatinine were measured at the Biomedicine Laboratory of the Feevale University. For the oxidative stress biomarkers, analyzes of SOD, GPX, FRAP, MDA and total sulfhydryl (GS) groups were performed. The samples were centrifuged at 2500 rpm for 10 min and the plasma aliquots were stored at -80 ° C for further analysis. The erythrocytes collected in a heparin tube were used to determine CAT.

Oxidative stress biomarkers

To determine SOD activity, the Fluka 19160 kit (Steinheim, Germany) was used, based on the indirect nitrotetrazolium blue (NBT) method. This assay uses xanthine and xanthine oxidase to generate superoxide radicals that react with 2- (4-iodophenyl) -3- (4-nitrophenol) -5-triphenyltetrazolium chloride to produce a compound that absorbs light at 450 nm. The inhibition of chromogen production is proportional to the SOD activity present in the sample. The reading was performed on a spectrophotometer and the results are expressed as% of SOD inhibition.

CAT was measured using the method described by Aebi (1984). The tubes containing blood (heparin) were centrifuged at 2500 rpm for 10 min and the plasma and leukocytes were discarded. Afterwards, the red cells were washed with 0.9% NaCl solution for 3 times. A 1 ml aliquot of red blood cells must be transferred to another tube, where 4 ml of water (diluted 1) were added. To 20 µL of dilute 1, 9980 µL of a pH 7.0 phosphate buffer solution (dilute 2) were added. The reading was performed on a Varian spectrophotometer, model Dig Varian Cary (50 NSEL03127475) at 240 nm at times 0

and 15s. A white tube was made for each sample read. The white tube was composed of 0.5 mL buffer + 1 mL diluted 2, and the 0.5 mL sample of a 30 mM hydrogen peroxide solution + 1 mL diluted 2. The results were expressed in s corrected by hemoglobin from patients.

The enzymatic activity of GPx was measured using the method described by Pleban; Munyani and Beachum (1982). First, the working reaction was prepared with: 50 mmol / l of Tris buffer at pH 7.6, containing per liter, 1 mmol of Na₂EDTA, 2 mmol of reduced glutathione, 0.2 nmol of NADPH, 4 mmol of sodium azide and 1000 U of glutathione reductase. The mixture was incubated for 5 min at 37 ° C. To determine the enzymatic activity in the plasma, 50 µL of undiluted plasma was added to 950 µL of the working reaction. GPx activity was expressed in plasma U / L. After a period of 30 s, the decrease in absorbance was linear with time. To start the reaction, 10 µL of Hwas added,₂O₂ 8.8 mmol / L followed by a decrease in NADPH in absorbance of 340 nm for 3 min. The white tube was made, and instead of plasma, water was added.

O FRAP it was determined through the method described by Benzie and Strain (1996) which is based on the reducing power of iron. The plasma was placed in contact with the FRAP (TPTZ - 2,4,6-trypyridyl-s-triazine 10 mM in 40 mM HCl; acetate buffer 300 mM pH 3,6; FeCl₃ 6H₂O 20 mM), which is below pH and with the presence of antioxidants is reduced, forming an intense blue color, which was monitored by measuring the change in absorption at 593 nm. The change in absorbance is directly related to the combination of "total" reducing power of electron donating antioxidants present in the reaction mixture. The FRAP was calculated using ascorbic acid and a ferrous sulfate solution as a standard.

The MDA was determined by HPLC-DAD (Antunes *et al*, 2008), through an alkaline hydrolysis of 200 µL of plasma, using 1.5 M NaOH with incubation in a dry bath of 60 ° C for 30 min, to release the fraction bound to proteins, which were precipitated by the addition of HClO₄ 15%. The sample was centrifuged at 4 ° C for 10 min at 12000 rpm. To 250 µL of the supernatant, 25 µL of the DNPH derivative were added, and incubated at room temperature, protected from light for 30 min. The chromatographic run was performed with 50 µL of the prepared sample, in HPLC-DAD in a high-performance

liquid chromatograph Shimadzu Class VP with a Lichrospher Merck RP-18 ec column (250 x 4 mm, di 5 µm), with the mobile phase constituted 0.2% (w / v) acetic acid: acetonitrile (62:38), with a flow rate of 1 mL / min, and controlled at 310 nm.

The GS was dosed through a colorimetric method (AKSENOV & MARKESBERY, 2001), where the reduction of DTNB to TNB can be read in a spectrophotometer, at 412nm. In this method, 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoic acid (DTNB) reacts with the sulphydryl groups of proteins, forming thio nitrobenzoic acid (TNB). The technique uses PBS buffer in 1nM EDTA with PH 7.4 and 0.2M potassium phosphate solution with pH 8.0, containing 10mM DTNB. It used 50 µL of the plasma sample, 980 µL of PBS buffer in EDTA and 30 µL of 10mM DTNB dissolved in potassium phosphate solution. A sample blank (BA) containing 50 µL of plasma sample and 1.01 mL of PBS buffer with EDTA was performed. A reagent blank (BR) containing 1.03 mL of PBS buffer in EDTA and 30 µL of 10mM DTNB dissolved in potassium phosphate solution was also performed. After 30 min of incubation, at room temperature and in the dark, absorbance was performed using a 412nm spectrophotometer, with plastic cuvettes, zeroing the equipment with distilled water.

2.4 Statistical analysis

All collected data were stored in a database using the SPSS 25.0 program. Descriptive analysis of the data were carried out and these expressed as percentage, or mean and standard deviation. The comparison between variables at the beginning and at the end of hospitalization was performed using the paired t test. The comparison of the parameters of oxidative stress and biochemical levels among users and nonusers of the medicines during hospitalization was performed using the test. *t Student* for nonparametric data, Wilcoxon U test was performed, using median (P25 - P75). A p-value of less than 0.05 was considered significant.

3 Results

Forty patients were included in this study, whose clinical and sociodemographic characteristics are shown in table 1. The patients showed a significant increase in body weight and BMI after the hospitalization period to detoxify the effects of cocaine in the

body. The use of alcohol concomitant with illicit drugs was also mentioned by the patients.

Table 1. General clinical characteristics and socio-demographic profile of inpatients to treat cocaine addiction during hospitalization and discharge.

Characterization	Admission	Discharge	P
Weight (kg)	68.12 ± 16.88	70.05 ± 15.70	0.005
BMI (kg / m²)	23.07 ± 4.40	24.02 ± 3.59	0.004
PAD (mm Hg)	70.85 ± 10.94	72.28 ± 8.07	0.500
PAS (mm Hg)	114.28 ± 16.85	115.71 ± 10.92	0.682
FC (bpm)	18.36	$81.70 \pm 81.97 \pm 12.17$	0.928
FR (rpm)	19.85 ± 0.42	19.97 ± 0.45	0.292
Temperature (° C)	36.08 ± 0.45	35.91 ± 0.61	0.059
Males			34 (85%)
Females			6 (15%)
Schooling			
Elementary incomplete			15 (37.5%)
Basic complete			6 (15%)
High school incomplete			12 (30%)
High school complete			5 (12.5%)
Incomplete superior			2 (5%)
Family Income			
<1 minimum wage			9 (22.5%)
≥ 1 minimum wage <3 minimum wages			25 (62.5%)
≥ 3 minimum wages			6 (15%)
Smokers			
No			5 (12.5%)
Yes			34 (85%)
Ex-smoker			1 (2.5%)

Characteristics expressed as Mean \pm Standard Deviation. Statistical test: paired t-test.

When evaluating the patients' blood count results, there were no significant differences between the values obtained at the time of admission and after the detox period (table 2). Table 2 also shows the results of the patient's biochemical dosage, which showed no significant difference between GGT dosages.

Table 2. Results of the blood count and biochemical profile of hospitalized patients to treat cocaine dependence at admission and at hospital discharge.

Characterization	Reference value	Admission	Discharge	P
Leukocytes (µL)	4000 a 11000	7497.05 ± 1656.67	9250.94 ± 9765.98	0.312
Erythrocytes (millions / µL)	4.2 a 5.9	4.89 ± 0.62	4.72 ± 0.63	0.258
Hemoglobin (g / dL)	13.0 a 18.0	14.72 ± 1.30	14.42 ± 1.29	0.189
Hematocrit (%)	38 a 52	42.42 ± 3.30	31.37 ± 3.94	0.112
VCM (fL)	80.0 a 100.0	89.65 ± 4.32	89.94 ± 4, 56	0.781
HCM (pg)	27.0 a 32.0	30.88 ± 1.97	31.32 ± 1.89	0.366
CHCM (g / dL)	31.0 a 36.0	34.35 ± 1.06	34.80 ± 1.56	0.071
RDW (%)	10 a 16	13.08 ± 0.75	13.03 ± 0.84	0.786
Platelets (10³ / µL)	140000 a 450000	255 121.21 ± 91320.77	259424.24 ± 74467.28	0,839
Creatinine (mg / dL)	0,7 a 1,3	1.03 ± 0.23	0.98 ± 0.17	0.232
Urea (mg / dL)	16 a 40	33.41 ± 10.18	32.91 ± 10.40	0.822
TGO (U / L)	5 a 40	24 (18 - 33)	31 (15 - 35)	0.887
TGP (U / L)	7 e 56	26 (13 - 30)	31 (17 - 41)	0.123
GGT (U / L)	10 a 50	19 (16 - 35)	38 (20 - 50)	0.003
Alkaline Phosphatase (U / L)	46 a 120	69.32 ± 16.25	72.85 ± 14.99	0.277

Mean corpuscular volume (VCM), mean corpuscular hemoglobin (HCM), mean corpuscular hemoglobin concentration (CHCM), red cell distribution width (RDW), oxalacetic glutamic transaminase (TGO), glutamic-pyruvic transaminase (TGP), gamma-glutamyltransferase (GGT). Characteristics expressed as Mean ± Standard Deviation or median (P25 - P75). Statistical test: paired t-test and Wilcoxon (for TGO, TGP and GGT).

Regarding the oxidative stress biomarkers table 4, when performing the statistical analysis, we found a significant difference in serum S levels OD, GPx and FRAP of inpatients for the treatment of cocaine addiction. A reduction in SOD activity and an

increase in GPx activity and FRAP levels were observed. As for the sulfhydryl group levels, there were no significant differences between the values obtained at the time of admission and after hospital discharge.

Table 3. Parameters of oxidative stress and sulfhydryl group of hospitalized patients to treat cocaine dependence at admission and at hospital discharge.

Biomarkers	Admission	Discharge	P
SOD (U / L)	202 (80 - 571)	183 (76 - 326)	0.039
CAT (K / s)	0.93 (0.14 - 3.39)	1.10 (0.32 - 2, 87)	0.248
GPx (U / L)	23.4 (2.33 - 101.3)	71.8 (33.4 - 173.0)	0.017
FRAP (µM)	1433.49 ± 436.04	1763.93 ± 644.61	0.002
MDA (µM)	1.89 ± 0.88	1.70 ± 0.29	0.170
GS (µM)	90.9 ± 59.7	72.2 ± 39.4	0.256

Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GPx), total antioxidant power (FRAP), levels of malondialdehyde (MDA) and sulfhydryl group (GS). Characteristics expressed as mean ± standard deviation or median (P25 - P75). Statistical test: paired t-test and Wilcoxon (for SOD, catalase and GPx).

a. Prevalence of drug use

With the help of the questionnaire applied to the patient and the hospital record, information was collected on the use of medications during the hospitalization period of the 40 patients studied. The drugs that had a prevalence of use greater than 20% were: carbamazepine (n = 26); clonazepam (n = 8); chlorpromazine (n = 32); diazepam (n = 25); haloperidol (n = 15); risperidone (n = 14); thiamine (n = 11) and folic acid (n = 8).

Other drugs used, but with a low prevalence of use, were: fluoxetine (n = 6), biperiden (n = 5), cytomegalovirus (n = 5), lithium carbonate (n = 4), valproic acid (n = 4), haldol decanoate (n = 4), ampricile (n = 4), omeprazole (n = 4), neozine (n = 3), rivotril (n = 3), levomepromazine (n = 2), lorazepam (n = 2), olanzapine (n = 2), quetiapine (n = 2), depakene (n = 2), venlafaxine (n = 1), propranolol (n = 1), ketoprofen (n = 1) and nimesulide (n = 1).

Table 4. Influence of drugs used during hospitalization in oxidative stress parameters.

	Drug	Admission	Discharge	P
SOD (U / L)	Risperidone use	154.07 (313.08)	160.85 (120.87)	0.019
	No risperidone use	877.12 (2197.68)	344.85 (336.04)	
	Carbamazepine use	937.47 (2176.53)	330.95 (330.16)	0.049
	No carbamazepine use	42.00 (283.87)	174.49 (149.08)	
GPx (U / L)	Carbamazepine use	71, 85 (109.37)	80.62 (643.35)	0.038
	No carbamazepine use	75.92 (231.68)	130.05 (124.61)	
	Folic acid use	79.03 (234.86)	45, 92 (43.64)	0.002
	No folic acid use	44.92 (151.46)	131.03 (113.08)	
FRAP (µM)	Carbamazepine use	167.19 (588.30)	1551.21 (540.14)	0.002
	No carbamazepine use	535.14 (747.05)	2189.35 (643.35)	
	Chlorpromazine use	237.03 (691.65)	1641.78 (608.33)	0.018
	No chlorpromazine use	531.75 (500.58)	2237.25 (589.56)	
MDA (µM)	Chlorpromazine use	0.14 (0.96)	1.68 (0.27)	0.034
	No chlorpromazine use	0.96 (0.82)	1, 79 (0.34)	
Creatinine (mg/dL)	Chlorpromazine use	0,10 (0,34)	0,98 (0,18)	0,040
	No chlorpromazine use	0,41 (0,46)	0,92 (0,09)	
GGT (U/L)	Chlorpromazine use	11,68 (27,10)	44,30 (24,96)	0,022
	No chlorpromazine use	13,85 (27,12)	35,05 (12,82)	
TGO (U/L)	Chlorpromazine use	3,43 (22,74)	28,46 (10,2)	0,001
	No chlorpromazine use	13,75 (15,04)	19,75 (0,50)	
TGP (U/L)	Folic acid use	17,62 (24,41)	45,28 (18,47)	0,045
	No folic acid use	1,90 (26,77)	29,70 (17,39)	
A phosphatase (U/L)	Haloperidol use	13,53 (18,43)	73,92 (10,11)	0,001
	No haloperidol use	14,04 (27,29)	72,10 (17,86)	
	Tiamine use	5,63 (30,53)	84,40 (18,70)	0,024
	No tiamine use	7,24 (26,13)	68,04 (10,18)	
	Folic acid use	4,75 (36,13)	86,57 (20,34)	0,005
	No folic acid use	5,81 (25,34)	69,29 (11,23)	

Superoxide dismutase (SOD). Glutathione peroxidase (GPx). Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). Malondialdehyde (MDA) Alkaline phosphatase (A. Phosphatase). Results expressed as mean (standard deviation). The difference refers to discharge values minus admission values. The p value refers to the value of the difference between users and non-users of each drug. Statistical test: paired t test.

The most frequently prescribed drugs were: chlorpromazine ($n = 32$), carbamazepine ($n = 26$), diazepam ($n = 25$), haloperidol ($n = 15$), risperidone ($n = 14$), thiamine ($n = 11$) clonazepam ($n = 8$) and folic acid ($n = 8$). Clonazepam and diazepam did not present significant interference in any analyzed parameter.

In carbamazepine users, significant differences were found between the difference in values (discharge - hospitalization) in the parameters SOD ($p = 0.049$) and GPx ($p = 0.038$) and urea ($p = 0.025$). SOD and FRAP gave a difference at the time of discharge in patients who used the drug, with higher SOD values and lower FRAP values ($p = 0.002$). The use of carbamazepine did not interfere with the biochemical levels at hospital discharge.

The use of chlorpromazine showed a significant difference between the difference in values (discharge) in the parameters of creatinine ($p = 0.040$) and GGT ($p = 0.022$). TGO levels are increased at hospital discharge compared to dosages at admission. As for EO parameters, the use of chlorpromazine interfered with MDA parameters ($p = 0.034$).

Haloperidol during hospitalization interfered with alkaline phosphatase levels ($p = 0.001$) at the patient's admission. The use of thiamine also caused changes in alkaline phosphatase, but causing higher levels during hospitalization ($p = 0.024$). Both drugs did not interfere with the other biochemical and EO parameters.

The use of risperidone during hospitalization caused higher levels of SOD ($p = 0.019$), without interfering with the biochemical parameters of the patients. Folic acid on admission, in turn, caused lower levels of GPx ($p = 0.002$) and higher levels of TGP ($p = 0.045$) and alkaline phosphatase ($p = 0.005$).

4 Discussion of results

The weight gain observed in patients during hospitalization for detoxification, was reported in studies by Willhelm *et al.* (2013), who verified changes in body composition

and anthropometric parameters of crack addicts hospitalized for treatment. According to their findings, the increase in weight of patients may be associated with the drugs used during treatment, which would have side effects of increased appetite.

According to Zimmermann *et al.* (2003), other factors that can influence patients' body weight are the quality of the hospital meal and neuroendocrine normalization during treatment. Dopaminergic, histamine, neuroendocrine, anticonvulsant medications such as carbamazepine and antipsychotics, such as chlorpromazine, risperidone and haloperidol that have been used by the patients evaluated in this study, can also influence the increase in body weight.

When measuring the EO parameters, significant changes were observed in three markers, SOD, GPx and FRAP, showing improvements in the antioxidant defenses of hospitalized patients for the treatment of cocaine addiction. The improvement in patients' EO can be explained by the reduction in SOD levels, suggesting a reduction in the formation of reactive oxygen species. The studies by Zaparte, *et al.* (2014) also showed a decrease in SOD activity, comparing the 4th day of abstinence with the 18th day, pointing out in their studies a negative correlation between the levels of SOD with the severity of the withdrawal symptoms.

These results indicate that the recovery of antioxidant defense enzymes during the detoxification process of users, becomes extremely important, as the loss of these enzymes is associated with the development of endothelial diseases that can cause cardiac changes. It is suggested that the improvement observed in the oxidative state may contribute positively to the rehabilitation process by improving the patient's antioxidant defenses and preventing further cell damage (HIRSCH *et al.*, 2018).

GPx is the main antioxidant enzyme in the brain (PAVLEK *et al.*, 2020). Animal studies have shown the overexpression of the enzyme against cocaine-induced neurotoxicity (MAI *et al.*, 2019a; MAI *et al.*, 2019b). Horn *et al.* (2015) performed GPx measurements in smoking patients, finding high levels of the enzyme in relation to the control group. Júnior *et al.* (2005) state that exposure to cigarette smoke can cause this situation oxidative due to the increase in ROSSs and / or NRAs. The dosages performed in

our study show an increase in GPx activity, corroborating the authors' findings, since patients continue to use cigarettes during hospitalization.

The increase in serum FRAP levels after hospitalization found in our study, may indicate a reversal of the substance's effects on oxidative factors (DRIES *et al.* 2020). FRAP levels have also been reported in studies by Zaparte, *et al.* (2014) related to the drug dependence score. Thus, his research showed that in the first moment (4th day of hospitalization) patients are more prone to oxidative damage, due to depletion of the antioxidant system and an increase in damage caused by reactive oxygen species. On the other hand, at the end of the treatment, there was an improvement in the antioxidant system since the oxidative damage markers are reduced.

Studies carried out by Oliveira (2017) showed no changes in the users' blood count and blood glucose, a result similar to the study by Massardo *et al.* (2015) in which abstinence cocaine users also did not show changes in these biochemical parameters, corroborating our findings.

GGT is an induction enzyme microsomal that catalyzes the transfer of the γ - glutamyl group in peptides and amino acids. It is present in many tissues through chronic alcohol intake, often associated with the use of drugs of abuse, can cause changes in your serum levels (ALIEN, 2003). From the analysis of the results of this study, it was found that the dosage of GGT showed a significant increase among those in some patients, so it can be assumed that the period of abstinence from the substances has caused this change, along with the drug therapy used by patients. Changes in the dosages of this enzyme, suggest that it is an indicator of intake of recent illegal substances, significantly decreasing its enzyme levels after treatment and abstinence (REIS & COPLE, 1998; SHARPE, 2001; VIEIRA, *et al.* 2010).

4.1 Influence of drugs used during hospitalization on oxidative stress parameters

Studies carried out comparing the use of antipsychotics and EO parameters showed reduced levels of antioxidant enzymes, such as SOD, CAT and GPx (OTHMEN *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2006; RANJEKAR *et al.*, 2003), others showed unchanged levels

of these enzymes (SRIVASTAVA *et al.*, 2001). Evans *et al.* (2003) conducted a study for 6 months showing normalization of antioxidant enzymes with the treatment of antipsychotics. Changes in the biomarker were correlated with symptomatic improvements between oxidative damage and psychotic symptoms.

According to Correll *et al.* (2015), the use of psychotropic substances is linked to the development of physical diseases, such as liver damage. Marwick et al. (2012) reported that continued treatment with these drugs does not worsen in the clinical case of liver abnormalities and some cases may even disappear, justifying its long-term benefit for patients using this pharmacotherapy to control withdrawal symptoms.

In his studies Kropp *et al.* (2005) found significantly higher levels of lipid peroxidation in patients treated with first generation antipsychotics, compared to most second-generation antipsychotics. There is also evidence that psychotic disorders can impair antioxidant defense and increase lipid peroxidation, since antipsychotic treatment itself increases oxidative stress and induces irreversible neuropathological changes in animal models (MARADIK, et al. 1998; MURTHY, et al. 1989; CADET & PERUMAL, 1990; JESTE *et al.* 1992).

In our studies, users who used haloperidol and thiamine during hospitalization had a difference in alkaline phosphatase levels. Patients treated with second generation antipsychotics had lower levels of oxidative stress (KROOP *et al.* 2005). Oxidative processes are the main metabolic pathways of haloperidol and their side effects include increased serum levels of alkaline phosphatase (PERDOMO *et al.*, 2006).

Studies have shown that antipsychotic drugs have high affinity for biological membranes due to their amphipathic and amphiphilic properties, and this implies that haloperidol can interact with the organization of membrane lipids, possibly leading to changes in the receptor response (TESSIER *et al.*, 2008).

Thiamine deficiency is a unique example of a nutritional deficit that leads to chronic impairment of oxidative metabolism and selective neural loss (CALINGASAN *et al.*, 1999). The interactions of thiamine in oxidative processes can promote

neurodegeneration and cause oxidative stress. The reversal of the effects of its deficiency by antioxidants suggests that the drug may act as an antioxidant directed to the site (GIBSON & ZHANG, 2002). The correlation between alkaline phosphatase activity and thiamine absorption has been studied in rats by Schaller and Holler (1974) and by Lallès (2010), where it is suggested that alkaline phosphatase is involved in the active thiamine absorption process.

The physical identification of alcoholic diseases is based on the search for indications of damage to organs and systems, through biochemical parameters. Folic acid is used to treat chronic alcoholism and is associated with increased serum levels of alkaline phosphatase and TGP, which may indicate liver or bone disease (TELLI *et al.* 2016). These findings also corroborate the indications already presented for the use of alcohol associated with illicit drugs and with lower levels of GPx and higher levels of TGP and alkaline phosphatase during the hospitalization of patients who were part of this study.

Ojeda *et al.*, (2009) studied supplementation with folate and selenium in alcohol users, investigating the prevention of oxidative liver disorders. Their findings demonstrate that GPx activity increases with ethanol, while double supplementation significantly decreases GPx activity.

Previous studies have shown that antiepileptic drugs cause several changes in the antioxidant system. However, due to the fact that these studies were not prospective and the methods were different, the results obtained have been varied (YUKSEL, *et al.* 2001).

The use of carbamazepine by patients undergoing treatment influenced the serum levels of GPx, demonstrating greater activity of the enzyme on admission of the patient and decreased according to the treatment. It also showed a decrease in FRAP levels and an increase in SOD levels.

Studies by Sobaniec, *et al.* (2006) with patients receiving monotherapy with carbamazepine showed increased SOD activity throughout the treatment. Liu *et al.* (1998) found a slight increase in SOD in patients receiving monotherapy with carbamazepine.

Yuksel *et al.* (2000) compared the influence of valproic acid and carbamazepine therapy on antioxidant enzyme activities, over two years of study, patients who received carbamazepine had greater SOD activity.

GPx is the most important antioxidant enzyme in protecting CNS cells. Niketic *et al.*, (1995) observed that GPx in the erythrocytes of patients receiving carbamazepine was lower. There is evidence that treatment with poly therapy has the effect of modifying the oxidant-antioxidant balance (SOBANIEC *et al.*, 2006).

Menon *et al.* (2014) analyzed the total antioxidant capacity (FRAP) of patients being treated with carbamazepine and their serum levels were considered significantly lower in patients compared to the control group. In contrast, epileptic children who received carbamazepine for 12 weeks experienced a significant increase in serum FRAP levels (TALARI, *et al.* 2019). Aghamohammadi *et al.*, (2011) and Shidfaret *et al.* (2009) also observed improvements in FRAP levels in their studies.

Serum levels of TGO, GGT and creatinine were elevated in patients who used chlorpromazine during hospitalization, which may indicate liver damage. Barbieri *et al.* (2010) reported case studies that relate the use of anticonvulsants to liver damage, indicating that drugs such as chlorpromazine, used in polytherapy, may be related to the increase in this enzyme and combined injuries. The patients in this study reported the use of alcohol concomitant with the use of cocaine, which may explain these findings.

Serum levels of MDA have been altered in patients with chlorpromazine therapy. MDA is a biomarker byproduct of lipid peroxidation and is involved in kidney damage. Studies by Tucci Júnior, *et al.* (2008). in animals treated with chlorpromazine, they showed no inhibition of lipid peroxidation. Renal protection against ischemia injury produced by chlorpromazine may be associated with drug dosage, since low dosages do not inhibit lipid peroxidation. Serum MDA levels were found to be altered in patients with chlorpromazine therapy in our study.

The use of risperidone by the patients in this study caused lower levels of SOD at hospital discharge. Studies carried out with patients undergoing treatment with risperidone for 12 weeks, resulted in a significant increase in SOD levels compared to the

control group. Low blood SOD levels have been correlated with improvement in symptoms during treatment (ZHANG *et al.*, 2012).

5 Conclusion

Although it was possible to find a significant increase in body weight, a more in-depth nutritional assessment that quantifies the improvement in the nutritional status of patients after the hospitalization period was not included in this study. The parameters of oxidative stress, after the treatment period, showed recovery from oxidative stress damage and increased antioxidant defenses, evidenced by the levels of SOD and FRAP.

Regarding the influence of the drugs used during the hospitalization period on the analyzed parameters, it can be seen that the parameters related to liver damage improved during hospitalization, but the interference of the use of multiple drugs cannot be excluded concurrently, as patients were not on monotherapy during hospitalization. There was also the interference of alcohol consumption by patients and the use of cigarettes during detoxification. Thus, these results suggest that drug rehabilitation treatment was effective in reducing oxidative damage represented by the reduction of biological markers, which are closely related to the severity of withdrawal symptoms.

References

- Abdalla, R.R. Madruga, C.S. Ribeiro, M. Pinsky, I; Caetano, R. Laranjeira, R. 2014. Prevalence of cocaine use in Brazil: data from the II brazilian national alcohol and drugs survey (BNADS). *Addict Behav.* 39(1); 297-301.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*; 105:121-7.
- Aghamohammadi, V. Gargari, B.P. Aliasgharzadeh, A. 2001. Effect of folic acid supplementation on homocysteine, serum total antioxidant capacity, and malondialdehyde in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr.* 30. 210–5.

Aksenov, M.Y.; Markesberry, W.R. 2001. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.*, v. 20, n. 302 (2-3), p. 141-145.

Almeida, P.P. De Araujo, G.M. Malta, S.M. Laranjeira, R.R. Marques, A.C. Bressan, R.A. 2017. Attention and memory déficits in crack-cocaine users persist over four weeks of abstinence. *J Subst Abuse Treat.* 81. 73-78.

Antunes, M. V. et al. 2008. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 44 (2) São Paulo.

Barbier, M.M. Silva, L.M.S. Mattos, A.C. Ferreira, M.C.F. 2010. Serious liver injury induced by anticonvulsants drugs. Case reports. *Rev Bras Clin Med.* São Paulo. nov-dez;8(6):542-4.

Bastos, F.I. Bertoni, N. 2014. Pesquisa nacional sobre o uso de crack: quem são os usuários de crack e/ou similares do Brasil? Quantos são nas capitais brasileiras? Rio de Janeiro: ICICT/FIOCRUZ.

Benzie, I.F.; Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry.* 239 (1). 70-76.

Cadet, J.L. Perumal, A.S. 1990. Chronic treatment with prolixine causes oxidative stress in rat brain. *Biol Psychiatry.* 28:738–740.

Caligasan, N.Y. Chun, W.J. Park, L.C.H. Uchida, K. Gibson, G.E. 1999. Oxidative Stress Is Associated with Region-Specific Neuronal Death During Thiamine Deficiency. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology.* 58(9). 946–958.

Casares-López, J.M., et al. 2014. Predictors of retention in a drug-free unit/substance abuse treatment in prison. *Int J Law Psychiatry* [Internet].

Cheng, Y.C. Ryan, K.A. Qadwai, S.A. Shah, J. Sparks, M.J. Wozniak, M.A. 2016. Cocaine use and risk of ischemic stroke in young adults. *Stroke.* 47(4). 918-922.

Correll Cu, Detraux J, De Lepeleire J, De Hert M. 2015. Effects of antipsychotics, antidepressants and mood stabilizers on risk for physical diseases in people with schizophrenia, depression and bipolar disorder. *World psychiatry*, 14: 119-136.

Devi, B.G. Chan, A. W. 1999. Effect of cocaine on cardiac biochemical functions. *J Cardiovasc Pharmacol*. 33(1):1-6.

Dries, S.S. et al. 2020. Evaluation of oxidative stress biomarkers and liver and renal functional parameters in patients during treatment a mental health unit to treat alcohol dependence. *Drug and Chemical Toxicology*. 22:1-7. doi: 10.1080/01480545.2020.1780251. Epub ahead of print. PMID: 32567384.

Dushay, K.M. Evans, S.K. Ghimire, S. Liu, J. 2016. Cocaine -induced diffuse alveolar hemorrhage: A case report and review of the literature. *R I Med J*. 99(8). 34-36.

EMCDDA, 2019. Annual report on the state of the drugs problem in Europe.

Evans D.; Horrobin, D.F.; Bennett, C.; Ranjekar, P.K.; Mahadik, S.P. 2003. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biological Psychiatry* 53, 56–64.

Fan, L. Sawbridge, D. George, V. Teng, L. Bailey, A. Kitchen, I. Li, J.M. 2009. Chronic cocaine-induced cardiac oxidative stress and mitogen-activated protein kinase activation: the role of Nox2 oxidase, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 328. 99–106.

Frustaci, A. Russo, M.A. Morgante, E. Scopelliti, F. Aquilano, K. Ciriolo, M.R. 2015. Oxidative myocardial damage in human cocaine-related cardiomyopathy, *Eur. J. Heart Fail* 17. 283–290.

Garcia, R.C.T. 2009. Efeitos neurodegenerativos da metiecgonidina e da cocaína em cultura celular primária de hipocampo. Dissertação para obtenção do Título de Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Gibson, G.E. Zhang, H. 2002. Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. *Neurochemistry International*. 40(6). 493-504.

Hirsch, G.E. et al. 2018. Evaluation of oxidative stress and brainderived neurotrophic factor levels related to crack-use detoxification. *Neurosci Lett.* 670:62–68.

Horn, R.C. Braun, C.C. Mori, N.C. Oliveira, C. Gelatti, G.T. Possenti, C.G.R. Heck, T.G. 2015. Avaliação dos níveis de estresse oxidativo em pacientes fumantes crônicos. *Revista Contexto & Saúde. Editora Unijuí.* 15(29). 97-103.

Jeste, D.V. Lohr, J.B. Manley, M. 1992. Study of neuropathological changes in the striatum following 4, 8 and 12 months of treatment with fluphenazine in rats. *Psychopharmacology.* 106:154–160.

Júnior, D. R. A. et al. 2005. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. *Jornal Brasileiro de Pneumologia.* 31(1). 60-68.

Kanani, P.M. Guse, P.A. Smith, W.M. Barnett, A. Ellinwood, E.H. 1998. Acute deleterious effects of cocaine on cardiac conduction, hemodynamics, and ventricular fibrillation threshold: effects of interaction with a selective dopamine D1 antagonist SCH 39166. *J. Cardiovasc Pharmacol.* 32(1). 42-48.

Khansari, N. Shakiba, Y. Mahmoudi, M. 2009. Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of agerelated diseases and cancer. *Recent Patents On Inflammation & Allergy Drug Discovery, Tehran, Iran,* 3. 73-80.

Kropp, S. et al. 2005. Oxidative stress during treatment with first- and second- generation antipsychotics. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 17:2, Spring

Lallès, J.P. 2010. Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. *Nutrition Reviews.* 68(6):323–332.

Li, H.C, Chen, Q.Z, Ma, Y, Zhou, J.F. 2006. Imbalanced free radicals and antioxidant defense systems in schizophrenia: a comparative study. *Journal of Zhejiang University. Science B* 7, 1981–986.

Liu, C.S. Wu, H.M. Kao, S.H. Wei, Y.H. 1998. Serum trace elements, glutathione, copper/zinc superoxide dismutase, and lipid peroxidation in epileptic patients with phenytoin or carbamazepine monotherapy. *Clin Neuropharmacol.* 21:62–64.

Mahadik, S.P. et al. 1998. Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. *Biol Psychiatry.* 43:674–679.

Mai, H.N. Chung, Y.H. Shin, E.J. Kim, D.J. Sharma, N. Lee, Y.J. Jeong, J.H. Nah, S.Y. Jang, C.G. Kim, H.C. 2019a. Glutathione peroxidase-1 overexpressing transgenic mice are protected from cocaine induced drug dependence. *Neurochem Int.* 124:264–273.

Mai, H.N. Nguyen, L.T.T. Shin, E.J. Kim, D.J. Jeong, J.H. Chung, Y.H. Lei, X.G. Sharma, N. Jang, C.G. Nabeshima, T. Kim, H.C. 2019b. Astrocytic mobilization of glutathione peroxidase-1 contributes to the protective potential against cocaine kindling behaviors in mice via activation of jak2/stat3 signaling. *Free Radic Biol Med.* 131:408–431.

Marwick Kf, Taylor M, Walker Sw. 2012. Antipsychotics and abnormal liver function tests: systematic review. *Clin Neuropharmacol* 35: 244-253.

Massardo, T. et al. 2015. Descripción de los hallazgos en el perfil lipídico y proteico de pacientes dependientes a cocaína, en abstinencia reciente. *Revista médica de Chile.* 143(6). 697–706.

McCormick, M. & NELSON, T. 2007. Cocaine-induced fatal acute eosinophilic pneumonia: a case report. *WMJ.* 106(2). 92-5.

Menon, B., et al. 2014. Low plasma antioxidant status in patients with epilepsy and the role of antiepileptic drugs on oxidative stress. *Annals of Indian Academy of Neurology,* 17 (4), 398–404.

Monteiro, C.F.S, Fé, L.C.M. Moreira, M.A.C. Albuquerque, I.E.M. Silva, M.G. Passaman, M.C. 2011. Sociodemographic profile and adhesion to treatment for alcohol dependents at CAPS-ad in Piauí state. *Esc Anna Nery Rev Enferm.* 15(1):90-5.

Murthy, J.N. Laev, H. Karpiak, S., et al. 1989. Enzymes of oxyradical metabolism after haloperidol treatment of rat. *Soc Neurosci.* 15:139.

Narvaez J. C. et al. 2013. Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. *Neuroscience letters.* v. 544, p. 80- 84.

Nascimento M.C. 2003. Medicamentos: ameaça ou apoio à saúde? vantagens e perigos do uso de produtos da indústria farmacêutica mais consumidos no Brasil: vitaminas, analgésicos, antibióticos e psicotrópicos. *Biblioteca virtual em saúde.* p. 200.

Niketic V, et al. 1995. Activities of antioxidant enzymes and formation of the glutathione adduct of hemoglobin (HbASSG) in epileptic patients with long-term antiepileptic therapy. *Farmacol.* 50:811–813.

Ojeda, M.L. Nogales, F. Jotty, K. Barrero, M.J. Murillo, M.L. Carreras.O. 2009. Dietary selenium plus folic acid as an antioxidant therapy for ethanol-exposed pups. *Developmental and Reproductive Toxicology.* 86 (6).

Oliveira Jr. H.P. 2018. Alterações neurocognitivas e morfométricas cerebrais associadas ao uso de crack. Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Doutor em Ciências. São Paulo.

Oliveira, I.V. 2017. Perfil nutricional e bioquímico de indivíduos em abstinência de crack e cocaína. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Alegre, Espírito Santo.

Parikh, N. Nonnemacher, Mr. Pirrone, V. Block, T. Mehta, A. Wigdahl, B. 2012. Substance abuse HIV-I and hepatitis. *Curr HIV res.* 10(7).557-571.

Pavlek, L.R. Dillard, J. Rogers, L.K. 2020. The role of oxidative stress in toxicities due to drugs of abuse. *Current Opinion in Toxicology.* 20-21:29–35.

Perdomo, M.E. Villota, N.E.R. Acevedo, H.C.O. 2006. Ictericia colestásica asociada al uso de haloperidol: reporte de un caso del Hospital Mental Nuestra Señora del Perpetuo Socorro. Revista Colombiana de Psiquiatría, vol. XXXV / No. 2.

Pernambuco, A. P. 2014. Impacto de um programa de educação em saúde sobre aspectos neuroimunocomportamentais de pacientes com diagnóstico de fibromialgia. 2014. 127 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Pickering, R. J. et al. 2018. Recent novel approaches to limit oxidative stress and inflammation in diabetic complications. Clinical & Translational Immunology, Australia. 7 (4). 1016-1036.

Pleban, P.A. et al. 1982. Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. Clin Chem.

Ranjekar, P.K., Hinge, A., Hegde, M.V., Ghate, M., Kale, A., Sitasawad, S., Wagh, U.V., Debsikdar, V.B., Mahadik, S.P. 2003. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. Psychiatry Research 121, 109–122.

Reis, T.N. Cople, C.S. 1998. Nutrition follow-up o cirrhotic patients with history of alcoholism. Rev. Nutr. 11 (2).

Schaller, K. Höller, H. 1974. Thiamine absorption in the rat. ii. intestinal alkaline phosphatase activity and thiamine absorption from rat small intestine in-vitro and in-vivo. Journal International de Vitaminologie et de Nutrition. 45(1):30-38.

Sharpe, P. 2001. Biochemical detection and monitoring of alcohol abuse and abstinence. Ann Clinical Biochem. n 6, p. 652-664.

Shidfar, F. Homayounfar, R. Fereshtehnejad, S.M. Kalani, A. 2009. Effect of folate supplementation on serum homocysteine and plasma total antioxidant capacity in hypercholesterolemic adults under lovastatin treatment: A double-blind randomized controlled clinical trial. Arch Med Res. 40. 380–6.

Sobaniec, M.D.W. Solowiej, E. Wojciech Kulak, W. Leszek Bockowski, L. Smigielska-Kuzia, J. Artemowicz, B. 2006. Evaluation of the influence of antiepileptic therapy on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in erythrocytes of children with epilepsy. *Journal of Child Neurology.* 21 (7).

Soccoll, K.L.S. Terra, M.G. Ribeiro, D.B. Teixeira, J.K.S. Siqueira, D.F. Mostardeiro, S.C.T. 2014. The routine of family relationships with a substance dependent individual. *Cogitare Enferm* [Internet].

Solaini, L. Solani, L. Gourgiotis, S. Salemis, N.S. Koukis, I. 2008. Bilateral pneumothorax, lung cavitations, and pleural empyema in a cocaine addict. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 56(12). 610-612.

Talari, H.R. Bahrami, M. Ardestani, A.T. Bahmani, F. Famili, P. Asemi, Z. 2019. Effects of Folate Supplementation on Carotid Intima-Media Thickness, Biomarkers of Inflammation, and Oxidative Stress in Carbamazepine-Treated Epileptic Children. *Int J Prev Med.* 10: 4.

Telli, E.M.E.P; Frigeri, M.; Mello, S.R. 2016. Evaluation of hepatic enzume activity in dependent, ex-dependent and nom-users of ethanol. *Rev, Brasileira de Análises Clínicas.*

Tessier, C. Nuss, P. Staneva, G. Wolf, C. 2008. Modification of membrane heterogeneity by antipsychotic drugs: an X-ray diffraction comparative study. *J. Colloid. Interface Sci.* 320, 469–475.

Tucci Junior, S. et al. 2008. Renal ischemia and reperfusion injury: influence of chorpromazine on renal function and lipid peroxidation. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol 23 (Supplement 1).*

UNODC. 2018. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report.* Vienna, Austria. United Nations publication.

UNODC. 2020. United Nations Office on Drugs and Crime: *World drug report.* Vienna, Austria: United Nations publication.

Vieira, J.R.S; Reis, A.M; Silva, A.V.S; Ito, M.S; Jaime, P. 2010. Avaliação da atividade enzimática de gama-glutamil- transferase em ex- dependentes de álcool. Revista Brasileira de Análises Clínicas. n 1, p.75-76.

Weber, J.E. Chudnofsky, C.R. Boczar, M. Boyer, E.W. Wilkerson, M.D. Hollander, J.E. 2000. Cocaine-associated chest pain: how common is myocardial infarction? Acad Emerg Med. 7(8). 873-877.

Willhelm, F.F., Escobar, M., Perry, I.D.S. 2013. Alterações na composição corporal e em parâmetros antropométricos de dependentes de crack internados em unidade de adição. J Bras Psiquiatr 62: 183-190.

Yuksel, A. Cengiz, M. Seven, M. Ulutin T. 2001. Changes in the antioxidant system in epileptic children receiving antiepileptic drugs: Two-year prospective studies. J Child Neurol. 16:603–606.

Yuksel, A. Cengiz, M. Seven, M. Ulutin, T. 2000. Erythrocyte glutathione peroxidase, superoxidase dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children valproate and carbamazepine monotherapy. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 11:73–81.

Zaparte, A. et al. 2014. Early abstinence of crack/cocaína-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. Psychopharmacology.; 232:1405-13.

Zhang, X.Y. et al. 2012. Effects of risperidone and haloperidol on superoxide dismutase and nitric oxide in schizophrenia. Neuropharmacology. 62 (5-6). 1928-1934.

Zimmermann U, Kraus T, Himmerich H, Schuld A, Pollmächer T. 2003. Epidemiology, implications and mechanisms underlying drug-induced weight gain in psychiatric patients. J Psychiatr Res 37: 193-220.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Drogas de abuso estão sendo frequentemente utilizadas, aumentando o número de estudos investigativos sobre seus mecanismos e a toxicidade associada ao seu consumo. O uso dessas substâncias revela o estresse oxidativo como uma característica comum dentre seus efeitos adversos. Além disso, a manutenção do estresse oxidativo associado a terapia medicamentosa indica um estado redox benéfico a recuperação do paciente.

Com base nos dados obtidos por este estudo, apresentados no Capítulo 1, os parâmetros analisados durante o período de tratamento, apresentaram recuperação dos danos do estresse oxidativo e aumento das defesas antioxidantes quando associados a terapia medicamentosa. Os parâmetros de EO correlacionados com danos hepáticos apresentaram melhora durante o tratamento.

Não foi possível excluir a interferência do consumo de álcool pelos pacientes e o uso de cigarro durante a desintoxicação, bem como o uso de múltiplos medicamentos durante o tratamento. Contudo, os resultados corroboram com a literatura encontrada e sugerem que o tratamento de reabilitação medicamentosa foi eficaz na diminuição do dano oxidativo representado pela redução dos marcadores biológicos, que estão intimamente relacionados à gravidade dos sintomas de abstinência.

Diante do cenário mundial afetado pela pandemia do coronavírus, durante a realização deste estudo, aspectos logísticos foram limitantes, dentre eles a disponibilidade de hospitais em receber estudantes realizadores de pesquisas com paciente internados, bem como a disponibilidade na entrega de materiais de laboratório e reagentes químicos. A pesquisa foi afetada também pela não disponibilidade de manutenção nos equipamentos necessários para a realização de dosagens de biomarcadores de perfil inflamatório.

Finalmente, o melhor entendimento das vias específicas impactadas por essas substâncias, bem como pesquisas futuras sobre a intervenção terapêutica para prevenir ou tratar a toxicidade, são necessárias. Estudos que incluam o perfil inflamatório destes pacientes e aqueles que, conforme possível, excluam interferências, precisam ser

realizados. A prática do uso de drogas de abuso tornou-se uma realidade da população, por isso a importância de estudos que visam melhorar os tratamentos para a abstinência e desintoxicação.

REFERÊNCIAS

ANSCHAU, V. Estresse oxidativo e parâmetros hematológicos como biomarcadores da infecção experimental com *trypanosoma evansi* em ratos wistar. Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. 2011.

Associação Médica Brasileira. Abuso e Dependência de Cocaína. Associação Brasileira de Psiquiatria. 2002.

BARBOSA, K.B.F; et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. Rev. Nutr. vol.23 no.4 Campinas July/Aug. 2010

CALDAS N. R. Avaliação da alexitimia em usuários de drogas: em centro de tratamento na cidade do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro (Dissertação de Mestrado em Saúde Pública - ENSP/FIOCRUZ), 1999.

CARVALHO, V.M. Pesquisa dos indicadores do uso de crack em amostras de urina de indivíduos submetidos a exame médico-legal. Dissertação (mestrado), Fac. Ciênc. Farm., USP, São Paulo. p.125. 2006.

CRUZ, R. A; GUEDES, M. C. S. Cocaína: aspectos toxicológicos e analíticos. Rev. Eletrônica FACP. n.4. 2013.

FERREIRA, A.L.A; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Rev. Assoc. Med. Bras. vol.43 n.1 São Paulo Jan./Mar. 1997

GAWIN, F.H., KLEBER, H.D. Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. Archives of General Psychiatry 43, 107–113. 1986.

GEORGE O & KOOB GF. Individual differences in prefrontal cortex function and the transition from drug use to drug dependence. Neuroscience and biobehavioral reviews. v. 35(2), p. 232-47. 2010.

GILBERT, H.F.; McLEAN, V.M. Molecular and cellular aspects of thiol-disulfide exchange. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1990; 63: 69-172.

GRASBON-FRODL, E.M. et al. Analysis of mitochondrial targeting sequence and coding region polymorphisms of the manganese superoxide dismutase gene in German Parkinson disease patients. *Biochemical and biophysical research communications*. v. 255(3), p. 749-752. 1999.

HANLON, C.A. BEVERIDGE, T.J.R. PORRINO, L.J. Recovering from cocaine: Insights from clinical and preclinical investigations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 37. 2037–2046. 2013.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. *Semin Hematol* 1989; 26: 277-85.

III Levantamento nacional sobre o uso de drogas pela população brasileira. ICICT/FIOCRUZ. 2017.

JOHANSON, C. E.; FISCHMAN, M.W. The pharmacology of cocaine related to its abuse. *Pharmacol. Rev. Bethesda*. v. 41, p. 3-52. 1989.

JULIEN, R. M. A primer of drug action: a concise, nontechnical guide to the actions, uses, and side effects of psychoactive drugs. 8º Ed. W.H. Freeman. 548p. New York. 1997.

KESSLER, F. H. P. Achados neuropsiquiátricos e neuroquímicos em dependentes de cocaína. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2003.

KILBEY, M.M. BRESLAU, N. ANDRESKI, P. Cocaine use and dependence in young adults: associated psychiatric disorders and personality traits. *Drug an Alcohol Dependence*. 29 (3). 289-290. 1992.

KLONER, R.A. HALE, S. Unraveling the complex effects of cocaine on the heart. *Circulation*. 87(3). 1046-7. 1993.

MARAJ, S., FIGUEREDO, V.M., LYNN, M.D. Cocaine and the heart. Clinical Cardiology. 33, 264–269. 2010

MELLO, A. C. F.; HOFFMAN, M.E.; MENEGHINI, R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. Biochem J 1983; 218: 273-5.

NARVAEZ J. C. et al. Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. Neuroscience letters. v. 544, p. 80- 84. 2013.

NASCIMENTO M.C. Medicamentos: ameaça ou apoio à saúde? Vieira e Lent, 2003.

PIANCA, T.G; et al. Differences in biomarkers of crack-cocaine adolescent users before/after abstinence. Drug and Alcohol Dependence. v. 177; p.207–213. 2017.

POMIERNY-CHAMIOLO, L. et al. Oxidative stress biomarkers in some rat brain structures and peripheral organs underwent cocaine. Neurotoxicity research. v. 23(1), p. 92-102. 2013.

RAUPP L & ADORNO R. Circuitos de uso de crack na região central da cidade de São Paulo. Ciência & Saúde Coletiva. v.16(5), p.2613-2622. 2011.

REZNICK, A.Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. Methods enzymol. 233: 357-363. 1994.

RIBEIRO M. et al. Perfil do usuário e história natural do consumo. In: Ribeiro M, Laranjeira R. (Org). O tratamento do usuário de crack. Porto Alegre: Artmed, 2012.

RIBEIRO, C. B. Efeitos do uso de drogas ilícitas na resposta inflamatória. 68 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

RICE-EVANS, C; BAYSAL, E. FLYNN, D; KONTOGHIORGHES, G. Iron-mediated free radical effects on erythrocytes: the role of desferrioxamine. Biochem Soc Trans 1986; 14: 368-9.

RICE-EVANS, C; BAYSAL, E. Iron-mediated oxidative stress in erythrocytes. *Biochem J* 1987; 244: 191-6.

SCHERER, J. N. Modificação dos valores de BDNF e TBARS em usuários de crack internados em um programa especializado. Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2014.

SHAN, X; AW, T.Y.; JONES, D.P. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 61-71.

SIQUEIRA, L.P. *et al.* Aspectos gerais, farmacológicos e toxicológicos da cocaína e seus efeitos na gestação. *Rev. Eletrônica de Farmácia*. V. VIII (2), p.75-87. 2011.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report*. Vienna, Austria. United Nations publication; 2014.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report*. Vienna, Austria. United Nations publication; 2018.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report*. Vienna, Austria. United Nations publication; 2019.

VOCCI, F.J. Can replacement therapy work in the treatment of cocaine dependence? And what are we replacing anyway? *Addiction*. 102, 1888–1889. 2007.

WINTERBOURN, C.C. Oxidative reactions of hemoglobin. *Methods Enzymol* 1990; 186: 264-72.

YONAMINE, M. A saliva como espécime biológico para monitorar o uso de álcool, anfetamina, metanfetamina, cocaína e maconha por motoristas profissionais. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas). Universidade de São Paulo. 2004.

ZALESKI, M. Síndrome de Dependência e de Abstinência de Cocaína. Associação Brasileira de Psiquiatria. 2016. Disponível em: <http://www.abpbrasil.org.br/departamentos/coordenadores/coordenador/noticias/?not=133&dep=62> Acessado em: 20/05/2019.

ZAPARTE, A; et al. Early abstinence of crack/cocaína-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology.*; 232:1405-13. 2014.

ANEXOS

Anexo I: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado a participar do projeto institucional intitulado: Avaliação do potencial inflamatório em pacientes internados para tratamento de dependência por álcool, cocaína e crack, sob responsabilidade da professora Dra. Magda Susana Perassolo. Os objetivos deste estudo são avaliar o perfil inflamatório, relacionando seus resultados com as análises de estresse oxidativo, em pacientes antes e após a internação hospitalar, para tratamento da dependência por álcool e cocaína/crack, correlacionando com sua evolução clínica.

Sua participação nesta pesquisa será voluntária e consistirá em responder ao questionário de avaliação das características gerais dos pacientes, ao questionário AUDIT (teste para avaliação do consumo de bebidas alcoólicas), realizar uma coleta de sangue para avaliação de parâmetros laboratoriais (interleucina, TBARS, proteína carbonilada e grupamento sulfidrila). Não haverá riscos relacionados à sua participação na pesquisa, apenas o desconforto da picada de sangue.

O pesquisador responsável e a Universidade Feevale envolvidas nas diferentes fases da pesquisa proporcionarão assistência imediata e integral aos participantes da pesquisa no que se refere às possíveis complicações e danos decorrentes. Os participantes da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não neste documento, têm direito à indenização, por parte do pesquisador, do patrocinador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa.

A sua participação nesta pesquisa estará contribuindo para: melhor conhecer os efeitos do álcool e da cocaína/crack no organismo, bem como seu perfil inflamatório.

Garantimos o sigilo de seus dados de identificação primando pela privacidade e por seu anonimato. Manteremos em arquivo, sob nossa guarda, por 5 anos, todos os dados e documentos da pesquisa. Após transcorrido esse período, os mesmos serão destruídos.

Os dados obtidos a partir desta pesquisa não serão usados para outros fins além dos previstos neste documento.

Você tem a liberdade de optar pela participação na pesquisa e retirar o consentimento a qualquer momento, sem a necessidade de comunicar-se com o(s) pesquisador(es).

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será rubricado em todas as folhas e assinado em duas vias, permanecendo uma com você e a outra deverá retornar ao pesquisador. Abaixo, você tem acesso ao telefone e endereço eletrônico institucional do pesquisador responsável, podendo esclarecer suas dúvidas sobre o projeto a qualquer momento no decorrer da pesquisa.

Nome do pesquisador responsável: Magda Susana Perassolo

Telefone institucional do pesquisador responsável: 3586-8800 ramal 8938 ou 9040

E-mail institucional do pesquisador responsável: magdaperassolo@feevale.br

Assinatura do pesquisador responsável

Local e data: _____, ____ de ____ 20 ____.

Declaro que li o TCLE: concordo com o que me foi exposto e aceito participar da pesquisa proposta.

Assinatura do participante da pesquisa

APROVADO PELO CEP/FEEVALE – TELEFONE: (51) 3586-8800 Ramal 9000

E-mail: cep@feevale.br

Anexo II: CARACTERÍSTICAS GERAIS DO PACIENTE

Nome: _____

Data: ____ / ____ / ____

Data de nascimento: ____ / ____ / ____ Idade: ____ anos Sexo: ()M ()F

Escolaridade: ()analfabeto ()fundamental incompl. () fundamental completo

()médio incompl. ()médio compl. ()superior incompl. ()superior compl.

()pós-grad

Qual a sua renda mensal familiar? _____

	SIM	NÃO	Quantidade	Última utilização	
Tabagismo				ex –fumante há _____ anos/meses	
Alcoolismo				ex-alcoólatra há _____ anos/meses	
Crack				ex-usuário há _____ anos/meses	
Cocaína				ex-usuário há _____ anos/meses	
Outras drogas					

Faz uso de vitaminas/antioxidantes ()sim ()não

Se utiliza, qual(is) _____

Demais patologias	Tempo diagnóstico

Uso de medicamentos antes da internação:

Número	Medicamento	Dose	Tempo de uso
1			
2			
3			

Uso de medicamentos durante a internação:

Número	Medicamento	Dose	Tempo de uso
1			
2			
3			

Principal motivo da internação: _____

Data da Internação: _____ / _____ / _____

Data da Alta Hospitalar: _____ / _____ / _____

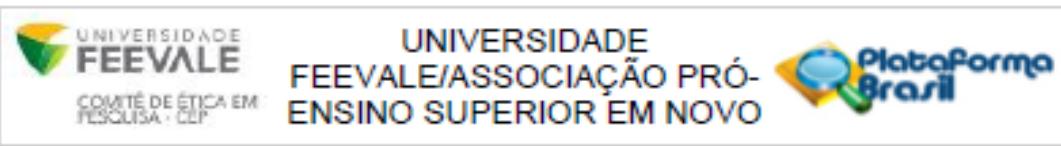
Número de dias: _____

Parâmetros fisiológicos	Internação	Alta
Peso		
Altura		
IMC		
Pressão arterial sit/ diast.		
Frequência cardíaca		
Frequência respiratória		
Temperatura corporal ax.		

Função Renal e Hepática	Internação	Alta
TGO		
TGP		
Fosfatase Alcalina		
Gama-GT		
Ureia		
Creatinina		

Perfil inflamatório	Internação	Alta
IL-2		
IL-4		
IL-6		
IL-10		
IL-17		
TBARS		
Proteína carbonilada		
Grupamento sulfidrila		

Anexo III:

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação do estresse oxidativo e de biomarcadores de exposição em pacientes Internados para tratamento de dependência por álcool, cocaína e crack

Pesquisador: MAGDA SUSANA PERASSOLO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 81406617.6.0000.5348

Instituição Proponente: ASSOCIACAO PRO ENSINO SUPERIOR EM NOVO HAMBURGO

Patrocinador Principal: ASSOCIACAO PRO ENSINO SUPERIOR EM NOVO HAMBURGO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.467.042

Apresentação do Projeto:

De acordo.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

De acordo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, e com as normas Internas do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Feevale,

Endereço: R8 239, nº 2755
Bairro: Vila Nova CEP: 93.525-075
UF: RS Município: NOVO HAMBURGO
Telefone: (51)3596-8800 Fax: (51)3596-8800 E-mail: raniel@feevale.br

Anexo IV: Certificados

CERTIFICADO

Concedemos ao trabalho

ESTRESSE OXIDATIVO EM USUÁRIOS INTERNADOS PARA TRATAMENTO POR DEPENDÊNCIA DE COCAÍNA/CRACK,

de autoria de

ISABELA LORINI FRANCISCATTO, BRUNA SCHERER SEIBERT, SAMUEL SELBACH DRIES, RAFAEL LINDEN
e orientação de**MAGDA SUSANA PERASSOLO, ANA LUIZA ZIULKOSKI,**

este certificado de apresentação no evento

SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO (SPG) - INOVAMUNDI 2019,

realizado no período de 21 a 26 de outubro de 2019.

Âmbito: Internacional

Promoção: Universidade Feevale - Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Organização: Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Novo Hamburgo, 06 de janeiro de 2019.


Dr. João Alcione Sganderla Figueiredo
Pró-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão**CERTIFICADO**

Concedemos ao trabalho

EFEITO DA DESINTOXICAÇÃO NO ESTRESSE OXIDATIVO DE USUÁRIOS DE ETANOL,

de autoria de

LETÍCIA MORAES, SAMUEL SELBACH DRIES, ISABELA LORINI FRANCISCATTO, MARÍLLIA MOTIN, BRUNA SCHERER SEIBERT
e orientação de**MAGDA SUSANA PERASSOLO,**

este certificado de apresentação no evento

FEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (FIC) - INOVAMUNDI 2020,

realizado no período de 17 a 24 de outubro de 2020.

Âmbito: Internacional

Promoção: Universidade Feevale - Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Organização: Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Novo Hamburgo, 22 de dezembro de 2020.


Dr. João Alcione Sganderla Figueiredo
Pró-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

CERTIFICADO

Concedemos ao trabalho
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ACERCA DOS EFEITOS DO USO DE COCAÍNA/CRACK NO PERÍODO GESTACIONAL,
de autoria de
ISABELA LORINI FRANCISCATTO
e orientação de
MAGDA SUSANA PERASSOLO, FERNANDA DOS SANTOS ZENAIDE,
este certificado de apresentação no evento
SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO (SPG) – INOVAMUNDI 2020,
realizado no período de 17 a 24 de outubro de 2020.

Âmbito: Internacional

Promoção: Universidade Feevale - Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Organização: Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Novo Hamburgo, 23 de dezembro de 2020.



Dr. João Alcione Sganderla Figueiredo
Pró-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

CERTIFICADO

Concedemos ao trabalho
AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES INTERNADOS PARA TRATAMENTO POR DEPENDÊNCIA DE COCAÍNA/CRACK,
de autoria de
ISABELA LORINI FRANCISCATTO, BRUNA SCHERER SEIBERT, MARÍLIA KUHN MOTIN, LETÍCIA MORAES
e orientação de
MAGDA SUSANA PERASSOLO, ANA LUIZA ZIULKOSKI,
este certificado de apresentação no evento
SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO (SPG) – INOVAMUNDI 2020,
realizado no período de 17 a 24 de outubro de 2020.

Âmbito: Internacional

Promoção: Universidade Feevale - Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Organização: Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Novo Hamburgo, 23 de dezembro de 2020.



Dr. João Alcione Sganderla Figueiredo
Pró-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

CERTIFICADO

Concedemos ao trabalho

**AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO EM PACIENTES INTERNADOS PARA TRATAMENTO
DE DEPENDÊNCIA COCAÍNA E CRACK,**

de autoria de

ISABELA LORINI FRANCISCATTO

e orientação de

MAGDA SUSANA PERASSOLO, ANALUIZA ZIULKOSKI,

este certificado de apresentação no evento

SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO (SPG) – INOVAMUNDI 2020,

realizado no período de 17 a 24 de outubro de 2020.

Âmbito: Internacional

Promoção: Universidade Feevale - Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Organização: Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão

Novo Hamburgo, 23 de dezembro de 2020.



Dr. João Alcione Sganderla Figueiredo
Pró-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação e Extensão