

## **A formação da linha de pesquisa**

### **Ação do etanol sobre a biologia (sistemas orgânicos) animal**

#### **(Action of ethanol on animal biology: organic systems)**

Meu núcleo temático da atividade de pesquisa, com desenvolvimento sistemático de trabalhos com objetos e metodologias comuns, envolveu desde minha formação acadêmica, 1985-1988, e na pós-graduação, 1989-1993, a ação do etanol sobre sistemas orgânicos de roedores. Focarei sobre as conclusões, tentando construir minha linha de pesquisa durante os mais de trinta anos com o apoio dos jovens iniciantes (iniciação científica), mestres, doutores e pós-doutores que colaboraram nessa trajetória. Essa obra tem o objetivo de contribuir na orientação e formação de cientistas que trabalham nos laboratórios universitários.

A reprodução é uma etapa de nossas vidas, sendo fenômeno biológico, mas também comportamental, apresentando múltiplos fatores de controle, principalmente neuroendócrinos. Durante o ciclo da vida, jovens e velhos são distintos e os adultos, com a produção de gametas masculinos e femininos, podem, se houver sucesso na fertilização e desenvolvimento, deixar descendentes que perpetuarão as espécies. A reprodução envolve estruturas e mecanismos gerais, porém há particularidades das espécies marcadas durante a evolução. Dentre os animais utilizados em pesquisa: 90% são roedores, ratos e camundongos, 5% outros animais e 1% primatas.

As glândulas sexuais acessórias permitem ao espermatozoide viabilidade para possibilitar o encontro com o óvulo. A próstata é

responsável por ampla variedade de elementos que participam desse processo. Nosso trabalho do lobo ventral da próstata de ratos com etanol crônico (Martinez *et al.*, 1993; 2001), permitiu concluir que as células epiteliais da próstata mostraram degeneração frente a ação do etanol. Há evidências que a geração de radicais de superóxidos esteja envolvida nos mecanismos de lesão às células epiteliais da próstata (Novelli *et al.*, 1997). Os danos celulares encontrados foram núcleos irregulares (picnóticos), cisternas do retículo endoplasmático granular (REG) dilatadas, lisossomos e diminuição dos microvilos na microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Martinez *et al.*, 2006), neoplasias intraepiteliais, estroma hipertrofiado e presença de células inflamatórias (Cândido *et al.*, 2007) e em camundongos C57Bl/6J atrofia do epitélio secretor (Cagnon *et al.*, 2001). O etanol aumenta o número de mastócitos totais e degranulados na próstata e epidídimo, podendo levar à inflamação (Mendes *et al.*, 2001). O etanol altera as concentrações de retinol plasmático proporcionalmente à quantidade consumida. Além disso, o elevado consumo de etanol aumenta a concentração do ácido retinóico trans (ATRA) no plasma e tecido da próstata. O consumo de etanol e o aumento do ATRA não foram associados à proliferação celular e à apoptose na próstata (Fontanelli *et al.*, 2013). O etanol e a testosterona modulam de forma diferente as citocinas no plasma e na próstata (Mendes *et al.*, 2014). O etanol modula a síntese e o catabolismo do ATRA na próstata de forma dependente da concentração (Fioruci-Fontanelli *et al.*, 2015).

A testosterona foi capaz de inverter os danos causados pelo consumo de etanol no microambiente da próstata e torna-se alvo a ser investigado para as doenças relacionadas com o etanol (Mendes *et al.*, 2015). A ingestão crônica de etanol prejudica o equilíbrio fisiológico da rotação da matriz extracelular da próstata, através da desregulação das metaloproteinases

(MMPs), o que pode contribuir para o desenvolvimento de doenças prostáticas. Além disso, como essas proteínas são componentes da secreção prostática, o impacto negativo da ingestão crônica de etanol na fertilidade pode também envolver a redução de MMPs e metaloproteinases denominadas TIMPs no líquido seminal (Fioruci-Fontanelli *et al.*, 2015).

As células epiteliais do lobo lateral da próstata apresentaram acúmulo de gotas de lipídeo, dilatação das cisternas do REG e vesículas de contorno irregular com conteúdo de baixa eletrodensidade (Martinez *et al.*, 1998), enquanto as do lobo dorsal atrofiam o epitélio (Garcia *et al.*, 1999). Quanto à glândula de coagulação (Cagnon *et al.*, 1996), as células epiteliais também mostraram degeneração frente à ação do etanol com aumento dos feixes de fibras colágenas, fibrose e atrofia do epitélio (Montico *et al.*, 2010). O etanol diminuiu o peso das vesículas seminais (Martinez *et al.*, 2001) e do testículo de ratos, recuperando após 240 dias de ausência da droga (Martinez *et al.*, 1997). A ultraestrutura do epitélio secretor da vesícula seminal (Martinez *et al.*, 2008) frente ao etanol mostrou-se semelhante aos ratos castrados. O etanol, além de provocar diminuição da testosterona, pode agir diretamente sobre o epitélio, semelhante à ação no fígado (Flickinger, 1974), glândula mamária (Vilaró *et al.*, 1987, 1989) e testículo (Anderson *et al.*, 1989). Há restabelecimento das alterações provocadas, desde que não ultrapasse o limite permitido ao tecido que pode variar (Martinez *et al.*, 1997).

O etanol alterou o peso do epidídimo e do testículo, atrofiou o epitélio da cauda do epidídimo e vacuolização e aumento das gotas de lipídeo nas células de Sertoli (Martinez *et al.*, 2000). O etanol modula os andrógenos, modificando o padrão da expressão de aquaporinas (AQP-1 e 9) no epidídimo (Teixeira *et al.*, 2000). Alterações das células germinativas testiculares incluíram gotas lipídicas, espaços intracelulares, vacúolos e vasos dilatados (Martinez *et al.*, 2009). Os achados mostraram que a

combinação de consumo de etanol e o exercício físico de resistência pode prevenir danos testiculares (Gonçalves *et al.*, 2000). O ducto deferente mostrou gotas lipídicas, núcleos apoptóticos e mitocôndrias com cristas lesadas (Rissato *et al.*, 2003).

Quando nosso foco se volta para a fêmea, o epitélio do endométrio do corno uterino se atrofiou com gotas de lipídeo intensas, cisternas do REG dilatadas e aumento das mitocôndrias no citoplasma nos alcoólicos (Martinez *et al.*, 1999; 2001). A ingestão crônica de etanol leva a alterações estruturais e moleculares no endométrio uterino, independentemente do consumo de baixas ou altas doses, promovendo distúrbios reprodutivos (Martinez *et al.*, 1999). Já a camada epitelial da tuba uterina mostrou acúmulo de gotas lipídicas e lisossomos, cisternas do REG dilatadas e vacuolização (Martinez *et al.*, 1999). Os ovários apresentaram aumento no número de corpos lúteos, folículos atrésicos, gotas lipídicas e vacuolização (Laura *et al.*, 2003) com duração do ciclo estral maior e persistência na fase de estro (Chuffa *et al.*, 2009).

Sugerimos que a melatonina é capaz de afetar a eficiência alimentar e, inversamente, proteger os ovários contra o estresse oxidativo decorrente do consumo de etanol (Chuffa *et al.*, 2011). O etanol e a melatonina exercem efeitos opostos sobre o estradiol e a progesterona e regulam de forma diferente a expressão dos receptores de esteroides sexuais nos tecidos reprodutivos femininos (Chuffa *et al.*, 2013). Concluimos que a melatonina reduz as massas ovarianas e a incidência de adenocarcinomas em ratos desprovidos de etanol (Chuffa *et al.*, 2013). Nossos resultados sugerem que a melatonina atenua na via de sinalização Her-2 em câncer de ovário de ratos que ingerem etanol, fornecendo contribuição eficaz para o desenvolvimento futuro de terapias colaborativas (Chuffa *et al.*, 2014; 2016). Os achados sugerem que a melatonina atenua na angiogênese em câncer de ovário no

modelo animal de consumo de etanol, proporcionando oportunidade terapêutica complementar para quimioterapia concorrente (Zonta *et al.*, 2017).

O epitélio da uretra mostrou gotas lipídicas e espaços intercelulares frente ao etanol (Pinheiro *et al.*, 2007). O epitélio de transição da bexiga urinária mostrou-se sensível ao etanol pelas alterações dos componentes da barreira urinária-sanguínea, aumento da inflamação e da descamação (Mello Jr. *et al.*, 1997).

O plexo coriódico do ventrículo lateral apresentou dilatação das cisternas do REG, aumento dos espaços intercelulares, núcleos picnóticos e vesículas de contorno irregular com conteúdo de baixa eletrodensidade (Tirapelli *et al.*, 1998).

As células epiteliais da mucosa palatina mostraram gotículas lipídicas, núcleos alterados, núcleos na camada córnea e mitocôndrias lesadas (Martinez *et al.*, 2011). A ingestão crônica de etanol provoca hiperplasia da mucosa palatina associada à perturbação da queratinização, o que pode aumentar a susceptibilidade do epitélio da mucosa ao efeito cancerígeno de agentes como o etanol (Martinez *et al.*, 2018).

Nossos resultados sugerem que os baixos cuidados maternos alteram a corticosterona e o 17 beta-estradiol, desequilibrando o ciclo estral e a foliculogênese e regulando diferentemente a expressão da ER- $\alpha$  e ER- $\beta$  nos ovários de ratos adultos (Martinez *et al.*, 2011). A separação materna alterou as células de Purkinje no cerebelo de ratos UCh, aumento das gotas lipídicas, redução do citoplasma celular nos núcleos elétrons densos e alterações na bainha de mielina no córtex cerebelar. Nossos dados demonstraram que o etanol induziu apoptose na Purkinje e nas células granulares do cerebelo (Oliveira *et al.*, 2014). O etanol induziu apoptose nas células da glia e

promoveu intensa mudança na bainha de mielina do cerebelo, o que pode causar perturbações funcionais (Martinez *et al.*, 2015).

Considerando nossos resultados, concluímos que o etanol predispõe ao processo inflamatório, enquanto a cafeína tem efeito neuro protetor sobre o tecido cerebelar (Rossetto *et al.*, 2019). A ingestão de cafeína e etanol pode produzir efeitos antagônicos com implicações de diferentes expressões de miRNAs que podem ter ações importantes sobre o sistema nervoso central. Embora a cafeína apresente efeitos neuro protetores significativos, a ingestão deve ser controlada, uma vez que não existe consenso em torno de limites e doses seguras para os seres humanos. A melhor compreensão do consumo crônico de etanol e cafeína em simultâneo está longe de estar estabelecida, fornecendo amplas direções nessa linha de investigação. Os resultados apresentados podem motivar novas análises com enfoque genético, procurando a susceptibilidade dos organismos à interação do etanol e da cafeína (Martinez *et al.*, 2019). A cafeína parece atenuar a inflamação induzida pelo etanol no cerebelo através da modulação A1 e A2a, desempenhando papel neuro protetor no contexto crônico do consumo de etanol (Rossetto *et al.*, 2021).

Houve interação da separação materna e etanol no fígado com aumento da massa hepática, vasos peritubulares, número de células estreladas, esteatose e morte celular, diminuição da necrose, diâmetros capilares sinusoidais e proliferação celular. Houve também diminuição do FSH, testosterona e 5  $\alpha$ -di-hidrotestosterona, e aumento da corticosterona e do colesterol. Conclui-se que a alteração na estrutura hepática é dependente da quantidade da ingestão de etanol. Além disso, a interação do estresse e drogas pode aumentar ou diminuir os seus efeitos no fígado ou indiretamente através dos eixos hipotalâmico-hipófise-adrenal e hipotalâmico-hipófise-gonadal (Rosa-Toledo *et al.*, 2015).

O elevado uso de etanol materno e paterno na pós-adolescência prejudica os parâmetros da descendência que não recebeu etanol, induzindo alterações no desenvolvimento e reprodução (Fioravante *et al.*, 2021). Concluímos que o uso baixo e elevado de etanol pós-púbere prejudica os parâmetros reprodutivos a longo prazo, mesmo após a retirada do etanol. Além disso, os efeitos estão relacionados com a dose (Fioravante *et al.*, 2022).

Pudemos observar que as comunicações das conclusões através das publicações em revistas especializadas em anos constituíram pontos que formaram a reta, linha do tempo, denominada linha de pesquisa da ação do etanol sobre a biologia (sistemas orgânicos) animal. Os temas dos artigos se relacionaram ao etanol e os investigadores formaram o grupo de pesquisa que permitiram alcançar as conclusões, verdades, que atingiram o público especializado, impactando as discussões e validando os resultados. A primeira comunicação surgiu em 1993 e a última em 2022, sendo 30 anos, possibilitando impacto junto à comunidade especializada através das revistas especializadas e das comunicações em congressos e afins.

\_\_\_\_\_1993\_\_\_\_\_.....\_\_\_\_\_2022\_\_\_\_...

Fig. 1. Linha de pesquisa da ação do etanol sobre a biologia animal. Vários pontos com comunicações que juntos determinam a linha (reta).

O grupo de pesquisa foi formado por alunos de graduação, que durante seu curso realizaram a iniciação científica, alunos dos cursos de mestrado e doutorado dos programas de pós-graduação e alunos de pós-doutorado que após a pós-graduação estiveram vinculados a linha de pesquisa. Importante

ressaltar que os projetos de pesquisa receberam, além do apoio estrutural da universidade, investimentos de agências de fomento federais e estaduais na forma de auxílios pesquisa e bolsas.

Dessa forma, essas são as peças fundamentais que possibilitam a criação das linhas de pesquisa, pessoal competente, projetos desafiadores, infraestrutura e investimentos adequados e liderança presente. Sempre haverá obstáculos na construção da linha, que em muitos momentos a tornarão tortuosos, porém com foco, disciplina, dedicação e confiança os objetivos serão alcançados. Sempre devemos nos lembrar que o aprendizado e o conhecimento nos mostram o aumento da nossa fronteira da ignorância, pois lidamos com as incertezas, ou seja, o desconhecido, que nos leva aos frequentes fracassos, motores de nosso crescimento contínuo. Com persistência seremos capazes de lidar com a subjetividade, o conceitual, o qualitativo versus objetividade, métricas e o quantitativo. Os métodos empregados na construção da linha de pesquisa têm por requisitos a validade (serem capazes de medir efetivamente o que se pretende medir), relevância (seus resultados devem ser significativos ao contexto), confiabilidade (precisão), replicabilidade (igualmente aplicáveis a situações congêneres) e robustez (representativos de um conjunto considerável de dados).

Esperamos ter colaborado na reflexão dos nossos alunos e cientistas na formação dessa crucial etapa da vida acadêmica.



## **Referências bibliográficas compiladas:**

Amorim, J.P., Chuffa, L.G., Teixeira, G.R., Mendes, L.O., Fioruci, B.A., Martins, A.O., Mello Jr, W., Anselmo-Franci, J.A., Pinheiro, P.F.F., Martinez, M., Martinez, F.E. Variations in maternal care alter corticosterone and 17 beta-estradiol levels, estrous cycle and folliculogenesis and stimulate the expression of estrogen receptors alpha and beta in the ovaries of UCh rats. **Reprod Biol Endocrinol.**, v.22, p.160, 2011.

Anderson, R.A., Phillips, J.F., Zaneveld, L.J.D. Chronic ethanol ingestion during puberty alters the transient increase in testicular 5 alpha-reductase in the Swiss-Webster mouse. **J. Androl.**, v.10, p.28-36, 1989.

Cagnon, V.H.A., Garcia, P.J., Guazzelli Filho, J., Martinez, F.E., Mello Jr., W., Martinez, M. Ultrastructural study of the lateral lobe of the prostate of Wistar rats submitted to experimental chronic alcohol ingestion. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.30, p.77-84, 1998.

Cagnon, V.H.A., Garcia, P.J., Martinez, F.E., Martinez, M., Padovani, C.R. Ultrastructural study of the coagulating gland of Wistar rats submitted to experimental chronic alcohol ingestion. **The Prostate**, v.28, p.341-346, 1996.

Cagnon, V.H.A., Tomazini, F.M., Garcia, P.J., Martinez, F.E., Martinez, M., Padovani, C.R. Structure and ultrastructure of the ventral prostate of isogenic mice (C57BL/6J) submitted to chronic alcohol ingestion. **Tissue & Cell**, v.33, p.354-360, 2001.

Cândido, E. M., Carvalho, C. A. F., Martinez, F.E., Cagnon, V. H. A. Experimental alcoholism and pathogenesis of prostatic diseases in UChB rats. **Cell Biology International**, v.31, p. 459-472, 2007.

Chuffa, L.G.A., Alves, M., Martinez, M., Camargo, I., Pinheiro, P.F.F., Domeniconi, R.F., Lupi Júnior, L., Martinez, F.E. Apoptosis is triggered by melatonin in an in vivo model of ovarian carcinoma. *Endocrine-Related Cancer*, v.23, p.65-76, 2016.

Chuffa, L.G.A., Amorim, J.P.A., Teixeira, G.R., Mendes, L.O., Fioruci, B.A., Pinheiro, P.F.F., Seiva, F.R.F., Novelli, E.L.B., Mello Júnior, W., Martinez, M., Almeida-Francia, C.C.D., Martinez, F.E. Long-term exogenous melatonin treatment modulates overall feed efficiency and protects ovarian tissue against injuries caused by ethanol-induced oxidative stress in adult UChB rats. ***Alcoholism: Clinical and Experimental Research***, v.35, p.1498-508, 2011.

Chuffa, L.G.A., Fioruci, B.A., Mendes, L.O., Fávaro, W.J., Pinheiro, P.F.F., Martinez, M. and Martinez, F.E. Characterization of chemically induced ovarian carcinomas in an ethanol-preferring rat model: influence of long-term melatonin treatment. ***PLoS One***, v.8(12): e81676, 2013.

Chuffa, L.G.A., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Ovarian structure and hormonal status of the UChA and UChB adult rats in response to ethanol. ***Maturitas***, v.62, p.21-9, 2009.

Chuffa, L.G.A., Seiva, F.R.F., Fávaro, W.J., Amorim, J.P.A., Teixeira, G.R., Mendes, L.O., Fioruci, B.A., Pinheiro, P.F.F., Martinez, M. and Martinez, F.E. Melatonin and ethanol intake exert opposite effects on circulating estradiol and progesterone and differentially regulate sex steroid receptors in the ovaries, oviducts, and uteri of adult rats. ***Reproductive Toxicology***, v.39, p.40-9, 2013.

Ferreira, G.M., Martinez, M., Camargo, I.C.C., Domeniconi, R.F., Pinheiro, P.F.F., Martinez, F.E., Chuffa, L.G.A. Melatonin Attenuates Her-2, p38

MAPK, p-AKT, and mTOR Levels in Ovarian Carcinomas of Ethanol-Preferring Rats. **J Cancer**, v.5, p.728-35, 2014.

Fioravante, V.C., Godoi, A.R., Camargo, V.M.B., Nascimento, R.S., Pinheiro P.F.F., Martinez, F.E. Parents ethanol use impairs ethanol-naive offspring development and reproduction. **Reproduction**, v.161, p. 195-204, 2021.

Fioravante, V.C., Godoi, A.R., Camargo, V.M.B., Pinheiro P.F.F., Martinez, M., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Low and high postpubertal ethanol use: damage on adulthood reproduction and offspring. **Reproduction and Fertility**, v.3, p.140-151, 2022.

Fioruci-Fontanelli, B.A., Chuffa, L.G., Mendes, L.O., Pinheiro, P.F.F., Jr., L.A., Felisbino, S.L., Martinez, F.E. Ethanol modulates the synthesis and catabolism of retinoic acid in the rat prostate. **Reprod toxicol.**, v.53, p.1-9, 2015.

Fioruci-Fontanelli, B.A., Chuffa, L.G., Mendes, L.O., Pinheiro, P.F., Delella, F.K., Kurokawa, C.S., Felisbino, S.L., Martinez, F.E. MMP-2 and MMP-9 activities and TIMP-1 and TIMP-2 expression in the prostatic tissue of two ethanol-preferring rat models. **Anal. Cell. Pathol.** doi: 10.1155/2015/954548, vol. 2015, Article ID 954548, 7 pages, 2015.

Flickinger, C.J. Synthesis, intracellular transport and release of secretory protein in the seminal vesicle of the rat, as studied by electron microscope radioautography. **Anat. Rec.**, v.180, p.407-426, 1974.

Fontanelli, B.A.F., Chuffa, L.G.A., Teixeira, G.R., Amorim, J.A.A., Mendes, L.O., Pinheiro, P.F.F., Kurokawa, C.S., Pereira, S, Fávoro, W.J., Martins, A.O., Mello Jr, W., Martinez, M., Rugolo Jr, A., Martinez, F.E. Chronic ethanol consumption alters all-trans-retinoic acid concentration and expression of their receptors on the prostate: a possible link between

alcoholism and prostate damage. **Alcohol Clin Exp Res.**, v.37, p.49-56, 2013.

Garcia, P.J., Cagnon, V.H.A., Mello Júnior, W., Martinez, M., Martinez, F.E. Ultrastructural observations of the dorsal lobe of the prostate of rats submitted to experimental chronic alcoholism. **Revista Chilena de Anatomia**, v.17, p.153-159, 1999.

Gonçalves, G.D., Vieira, N.A., Vieira, H.R., Valério, A.D., Siervoa, G.E.M.L., Pinheiro, P.F.F., Martinez, F.E., Guarnier, F.A., Teixeira, G.R., Fernandes., G.S.A. Role of Resistance Physical Exercise in Preventing Testicular Damage Caused by Chronic Ethanol Consumption in UChB. **Microscopy Research and Technique**, v.80, p. 378-386, 2017.

Laura, I.A., Martinez, M., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Ultrastructural and morphometric analysis on the ovary of Wistar rats after chronic ethanol ingestion. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.35, p.167-176, 2003.

Martinez, F.E., Garcia, P.J., Padovani, C.R., Cagnon, V.H.A. e Martinez, M. Ultrastructural study of the ventral lobe of the prostate of rats submitted to experimental chronic alcoholism. **The Prostate**, v.22, p.317-324, 1993.

Martinez, F.E., Garcia, P.J., Padovani, C.R., Cagnon, V.H.A. e Martinez, M. A morphometric ultrastructural study of the seminal vesicle of rats submitted to experimental chronic alcoholism. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.29, p.537-542, 1997.

Martinez, F.E., Martinez, M., Cagnon, V.H.A., Mello Jr., W., Padovani, C.R., Garcia, P.J. Effects of experimental chronic alcoholism on the seminal vesicle and testis weight of adult male rats (*Rattus norvegicus*). **Revista Chilena de Anatomía**, v.15, p.121-126, 1997.

Martinez, F.E., Martinez, M., Padovani, C.R., Bustos-Obregón, E. Morphology of testis and epididymis in an ethanol-drinking rat strain (UChA and UChB). **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.32, p.175-184, 2000.

Martinez, F.E., Martinez, M., Padovani, C.R., Bustos-Obregón, E. Morphology of the ventral lobe of the prostate and seminal vesicle in an ethanol-drinking rat strain (UChA and UChB). **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.33, p.99-106, 2001.

Martinez, M., Branco Jr., A.C., Cagnon, V.H.A., Mello, Jr., W., Garcia, P.J., Martinez, F.E. Ultrastructural changes on the epithelial cells of uterine tubes of Wistar rats after chronic ethanol ingestion. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.31, p.273-278, 1999.

Martinez, M., Garcia, P.J., Cagnon, V.H.A., Mello, Jr., W., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Effects of chronic experimental alcoholism on the epithelium of the uterine horns of rats (*Rattus norvegicus albinus*). **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.33, p.107-115, 2001.

Martinez, M., Macera, S., Assis, G.F., Pinheiro, P.F.F., Almeida, C.C.D., Tirapelli, L.F., Martins, O.A., Mello-Júnior, W., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Structural evaluation of the effects of chronic ethanol ingestion on the testis of *Calomys callosus*. **Tissue Cell**, v.41, p.199-205, 2009.

Martinez, M., Martinez, F.E., Garcia, P.J., Cagnon, V.H.A., Mello, Jr., W., Padovani, C.R. Morphometric analysis of the endometrial epithelium of rats (*Rattus norvegicus*) submitted to chronic experimental alcoholism. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.31, p.469-475, 1999.

Martinez, M., Mattos, E.C.T., Mello, Jr., W., Cagnon, V.H.A., Martinez, F.E. Morphology of the seminal vesicle of *Calomys callosus* submitted to

experimental chronic alcoholism. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v33, p.453-461, 2001.

Martinez, M., Milton, F.A., Oliveira, S.A., Reis, G.S., Pereira, S., Segatelli, T.M., Pinheiro, P.F.F., Almeida, C.C.D., Quitete, V.H.A.C., Júnior, W.M., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Morphological alterations on the prostate of *Calomys callosus* submitted to chronic ethanol ingestion. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.38, p.117-123, 2006.

Martinez, M., Milton, F.A., Pinheiro, P.F.F., Almeida-Francia, C.C.D., Cagnon-Quitete, V.H.A., Tirapelli, L.F., Padovani, C.R., Chuffa, L.G.A., Martinez, F.E. Chronic ethanol intake leads to structural and molecular alterations in the rat endometrium. **Alcohol**, v.52, p.55-61, 2016.

Martinez, M., Oliveira, S.A., Pinheiro, P.F.F., Almeida, C.C.D., Pereira, S., Martins, O.A., Mello-Júnior, W., Mendes, L.O., Chuffa, L.G.A., Tirapelli, L.F., Fávaro, W.J., Quitete, V.H.A., Martinez, F.E. IGFR-I expression and structural analysis of the hard palatine mucosa in an ethanol-drinking rat strain (UChA and UChB). **Tissue Cell**, v.43, p.101-107, 2011.

Martinez, M., Oliveira, S.A., Rossetto, I.M.U., Martinez, C.R.B., Chuffa, L. G. A., Martinez, F.E. Hard palatine epithelium hypertrophy in ethanol-drinking rat strains (UChA and UChB). **Trends in Developmental Biology**, v.11, p. 49-56, 2018.

Martinez, M., Reis, G.S., Pinheiro, P.F.F., Almeida, C.C.D., Quitete, V.H.A.C., Júnior, W.M., Pereira, S., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Evaluation of the ethanol intake on the *Calomys callosus* seminal vesicle structure. **Micron**, v.39, p.587-592, 2008.

Martinez, M., Rossetto, I.M.U., Arantes, R.M.S., Lizarte, S.N., Tirapelli, F.L.F., Tirapelli, D.P.C., Chuffa, L.G.A., Martinez, F. E. Serum miRNAs are

differentially altered by ethanol and caffeine consumption in rats. **Toxicol. Res.**, v.8, p.842-849, 2019.

Martinez, M., Sauce, R., Oliveira, S.A., Chuffa, L.G.A., Stefanini, M.A., Lizarte, F.S., Takase, L.F., Tirapelli, L.F., Martinez, F.E. Ethanol intake-induced apoptosis in glial cells and axonal disorders in the cerebellar white matter of UChA rats (voluntary ethanol consumers). **Tissue Cell.**, v.47, p.389-2015.

Mello Junior, W., Garcia, P.J., Cagnon, V.H.A., Martinez, M., Martinez, F.E. Morphologic changes in the vesical transition epithelium of alcoholic rats. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.29, p.393-399, 1997.

Mendes, L.O., Amorim, J.P., Teixeira, G.R., Chuffa, L.G., Fioruci, B.A., Pimentel, T.A., Mello Jr, W., Padovani, C.R., Pereira, S., Martinez, M., Pinheiro, P.F., Oliani, S.M., Martinez, F.E. Mast Cells and Ethanol Consumption: Interactions in the Prostate, Epididymis and Testis of UChB Rats. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v.66, p. 170-178, 2011.

Mendes, L.O., Scarano, W.R., Rochel-Maia, S.S. Fioruci-Fontaneli, B.A., Chuffa, L.G.A., Martinez, F.E. Testosterone therapy differently regulates the anti - and pro-inflammatory cytokines in the plasma and prostate of rats submitted to chronic ethanol consumption (UChB). **Am. J. Reprod Immunol.**, v.72, p.317-25, 2014.

Mendes, L.O., Scarano, W.R., Rochel-Maia, S.S. Fioruci-Fontaneli, B.A., Chuffa, L.G.A., Franci, J.A.A., Martinez, F.E. Androgen therapy reverses injuries caused by ethanol consumption in the prostate: testosterone as a possible target to ethanol-related disorders. **Life Sci.**, v.120, p.22-30, 2015.

Montico, F., Fávaro, W. J., Cândido, E. M., Martinez, M., Pinheiro, P. F. F., Martinez, F.E., Cagnon, V. H. A. Alcoholism and coagulating gland:

androgen and insulin like growth factor receptor features. **Tissue & Cell**, v.42, p.203-10, 2010.

Novelli, E.L.B., Rodrigues, N.L., Santos, C.X.C., Martinez, F.E., Novelli, J.L.V.B. Toxic effects of alcohol intake on prostate of rats. **The Prostate**, v. 31, p.37-41, 1997.

Oliveira, S.A., Chuffa, L.G.A., Fioruci, B.A., Lizarte Neto, F.S., Novais, P.C., Tirapelli, L.F., Oishi, J.C., Takase, L.F., Stefanini, M.A., Martinez, M., Martinez, F.E. Apoptosis in the Purkinje and Granular Cells of the Cerebellum Following Chronic Ethanol Intake. **The Cerebellum**, v.13, p.728-738, 2014.

Oliveira, S.A., Fioruci-Fontanelli, B.A., Stefanini, M.A., Chuffa, L.G.A., Teixeira, G.R., Lizarte, F.S., Tirapelli, L.F., Quitete, V.H.A., Natheus, S.M., Padovani, C.R., Martinez, M., Martinez, F.E. Interaction of maternal separation on UCh rat cerebellum. **Microsc Res Tech.**, v.77, p.44-51, 2014.

Pinheiro, P.F.F., Segatelli, T.M., Almeida, C.C.D., Martinez, M., Padovani, C.R., Franchi, M.R., Martinez, F.E. Morphologic changes in the urethral epithelium in an ethanol-drinking rat strain (UChA and UChB). **Micron**, v.38, p.734-46, 2007.

Rissato, J.H., Marjorie V. Ietsugu, M.V., Almeida, C.C.D.A., Pinheiro, P.F.F., Segatelli, T.M., Martinez, M., Padovani, C.R., Júnior, W.M., Quitete, V.H.A.C. and Martinez, F.E. Morphology of the vas deferens in an ethanol-drinking strain of rats (UChA and UChB). **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.35, p.331-341, 2003.

Rosa-Toledo, O., Almeida-Chuffa, L.G., Martinez, M., Pinheiro, P.F.F., Padovani, C.R., Martinez, F.E. Maternal separation on the ethanol-preferring adult rat liver structure. **Annals of Hepatology**, v.14, p.910-918, 2015.



Rossetto, I.M.U., Cagnon, V.H.A., Kido, L.A., Lizarte Neto, F.S., Tirapelli, F.L.F., Tirapelli, D.P.C., Chuffa, L.G.A., Martinez, F.E., Martinez, M. Caffeine consumption attenuates ethanol-induced inflammation through the regulation of adenosinergic receptors in the UChB rats cerebellum. **Toxicol. Res.**, v.10, p.835-849, 2021.

Teixeira, G.R., Chuffa, L.G.A., Martins, O.A., Kremer, R., Pinheiro, P.F.F., Mello Jr, W., Martinez, M., Martinez, F.E. and Domeniconi, R.F. The expression of aquaporins 1 and 9 in adult rat epididymis is perturbed by chronic exposure to ethanol. **Tissue & Cell**, v.44, p.47-53, 2012.

Tirapelli, L.F., Tamega, O.J., Martinez, F.E. Ultrastructural changes of the choroid plexus of the lateral ventricles of rats (*Rattus norvegicus*) submitted to experimental chronic alcoholism, followed by alcohol withdrawal. **Revista Chilena de Anatomía**, v.16, p.229-235, 1998.

Vilaró, S., Vinas, O., Remesar, X., Herrera, E. Effects of chronic ethanol consumption on lactational performance in rat: Mammary gland and milk composition and pup's growth and metabolism. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.27, p.333-339, 1987.

Vilaró, S., Vinas, O., Remesar, X. Altered ultrastructure of lactating rat mammary epithelial cells induced by chronic ethanol ingestion. **Alcohol. Clin. Exp. Res.**, v.13, p.128-136, 1989.

Zonta, Y.R., Martinez, M., Camargo, I.C.C., Domeniconi, R.F., Lupi Júnior, L.A., Pinheiro, P.F.F., Reiter, R.J., Martinez, F.E. and Chuffa, L.G.A. elatonin Reduces Angiogenesis in Serous Papillary Ovarian Carcinoma of Ethanol-Preferring Rats. **Int. J. Mol. Sci.**, v.18, p.763, 2017.