УДК [616.316:616.89-008.441.3]:616-092.9
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.4.13222

К. В. Тихонович[1], Т. Д. Криворучко[1], К. С. Непорада[1], С. М. Береговий[2]

Полтавський державний медичний університет[1]
Інститут біології та медицини Київського національного університету імені Тараса Шевченка[2]

КОРЕКЦІЯ НЕЙРОТОКСИЧНОСТІ ТА ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ТВАРИН ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ НЕЙРОПАТІЇ

Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної нейропатії

К. В. Тихонович[1], Т. Д. Криворучко[1], К. С. Непорада[1], С. М. Береговий[2]

Полтавський державний медичний університет[1]
Інститут біології та медицини Київського національного університету імені Тараса Шевченка[2]

Резюме. *Зловживання алкоголем та залежність від нього є однією із найбільших проблем охорони здоров'я у світі. Периферійна полінейропатія спостерігається приблизно у 46,3 % хронічних алкоголіків, проявляється як прогресуюча, переважно сенсорна нейропатія.*

Мета дослідження *– вивчити вплив алкогольної нейропатії на розвиток патологічних змін у слинних залозах щурів, а також обґрунтувати можливість корекції виявлених змін кокарнітом.*

Матеріали і методи. *Алкогольну нейропатію моделювали шляхом алкоголізації тварин зростаючою концентрацією етанолу протягом 72 діб (1–24 доби – 11,8 %; 25–48 – 23,6 %; 49–72 – 37 %). Експерименти проводили на 33 білих нелінійних щурах обох статей масою 180–220 г. Після підтвердження розвитку полінейропатії на 72 день експерименту вводили засіб «Кокарніт» (World Medicine) внутрішньом'язово протягом 9 діб із розрахунку 1 мг/кг, розчинений у 0,5 % лідокаїну гідрохлориду. В піднижньощелепних слинних залозах щурів визначали загальну протеолітичну активність, загальну антитриптичну активність, активність амілази, вміст ТБК-активних продуктів, вміст окисно-модифікованих білків та активність каталази.*

Результати. *Встановлено, що алкоголізація щурів спричиняла зростання у слинних залозах тварин вмісту ТБК-активних продуктів, окисно-модифікованих білків на тлі статистично не зміненої активності каталази, що свідчить про розвиток оксидативного стресу. За цих умов у слинних залозах щурів вірогідно зменшувалась амілолітична активність та не змінювався протеїназно-інгібіторний баланс. Кокарніт запобігає розвитку нейротоксичності у щурів, про що свідчить зростання порога больової чутливості. Введення засобу «Кокарніт» протягом 9 днів на тлі моделювання алкогольної нейропатії достовірно збільшувало активність амілази у слинних залозах тварин та запобігало розвитку кар-*

Correction of neurotoxicity and pathological changes in the salivary glands of animals in conditions of alcoholic neuropathy

K. V. Tykhonovych[1], T. D. Kryvoruchko[1], K. S. Neporada[1], S. M. Berehovyi[2]

Poltava State Medical University[1]
Institute of Biology and Medicine KNU named after T. Shevchenko[2]

e-mail: neporadaks@gmail.com

Summary. *Alcohol abuse and dependence is one of the biggest public health problems in the world. Peripheral polyneuropathy is observed in approximately 46.3 % of chronic alcoholics, manifesting as a progressive, mainly sensory neuropathy.*

The aim of the study *– to research the influence of alcoholic neuropathy on the development of pathological changes in the salivary glands of rats, as well as to substantiate the possibility of correction of the detected changes with Cocarnit.*

Materials and Methods. *Alcoholic neuropathy was modeled by alcoholization of animals with increasing ethanol concentration for 72 days (1–24 days – 11.8 %; 25–48 – 23.6 %; 49–72 days – 37 %). The experiments were performed on 33 white nonlinear rats of both sexes weighing 180–220 g. After confirming the development of polyneuropathy on the 72nd day of the experiment, Cocarnit (World Medicine) was administered intramuscularly for 9 days at 1 mg/kg dissolved in 0.5 % lidocaine hydrochloride. In the submandibular salivary glands of rats, total proteolytic activity, total antitryptic activity, amylase activity, content of TBA-active products, content of oxidatively modified proteins and catalase activity were determined.*

Results. *It was found that the alcoholization of rats caused an increase in the salivary glands of animals the content of TBA-active products, oxidatively modified proteins on the background of statistically unchanged catalase activity, which indicates the development of oxidative stress. Under these conditions, amylolytic activity probably decreased in the salivary glands of rats, and the proteinase-inhibitor balance did not change. Cocarnit prevents the development of neurotoxicity in rats, as evidenced by an increase in the threshold of pain sensitivity. Administration of Cocarnit for 9 days against the background of simulation of alcoholic neuropathy reliably increased the activity of amylase in the salivary glands of animals and prevented the*

©К. В. Тихонович та ін., 2022

бонільно-оксидативного стресу, про що свідчить достовірне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів, окисно-модифікованих білків, порівняно з тваринами, яким викликали алкоголізацію без корекції.

Висновки. *Алкоголізація тварин викликає розвиток алкогольної нейропатії, яка призводить до пригнічення синтезу амілази, спричиняє карбонільно-оксидативний стрес у слинних залозах тварин. Кокарніт запобігає розвитку нейротоксичності та пригнічує карбонільно-оксидативний стрес у піднижньощелепних слинних залозах і відновлює білоксинтетичну функцію.*

Ключові слова: алкогольна нейропатія; кокарніт; слинні залози; оксидативний стрес; амілаза.

development of carbonyl-oxidative stress, as evidenced by a significant decrease in the content of TBA-active products, oxidatively modified proteins compared to animals that were induced alcoholism without correction .

Conclusions. *Alcoholization of animals causes the development of alcoholic neuropathy, which leads to inhibition of amylase synthesis, causes carbonyl-oxidative stress in salivary glands of animals. Cocarnit prevents the development of neurotoxicity and suppresses carbonyl-oxidative stress in the submandibular salivary glands and restores protein synthetic function.*

Key words: alcoholic neuropathy; Cocarnit; salivary glands; oxidative stress; amylase.

ВСТУП

Зловживання алкоголем та залежність від нього є однією із найбільших проблем охорони здоров'я у світі [1]. Тривале вживання алкоголю призводить до численних дисфункцій периферійної та центральної нервової системи [2], порушуючи функцію нейронів і глії, включаючи загибель нейронів, міграцію і диференціацію гліальних клітин [3]. Периферійну полінейропатію спостерігають приблизно у 46,3 % хронічних алкоголіків, проявляється як прогресуюча, переважно сенсорна нейропатія [4].

Основним ушкоджувальним фактором шкідливого впливу гострого та хронічного вживання алкоголю є ацетальдегід – токсичний реакційноздатний продукт, на який перетворюється етанол під впливом алкогольдегідрогенази [5]. Експериментальні дослідження на тваринах показали, що етанол збільшував утворення активних форм кисню та оксиду азоту, зменшував вміст глутатіону та знижував активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і каталази, пригнічував експресію деяких генів, а також посилив активність альдозоредуктази [6].

Унаслідок надмірного вживання алкоголю порушується окиснювальний баланс у ротовій порожнині, що відображається у зниженні антиоксидантної здатності та у збільшенні окисного ушкодження макромолекул [7].

T. Julian та ін. стверджують, що дисфункція печінки та недостатнє харчування, зокрема дефіцит тіаміну, можуть являти собою додаткові фактори ризику або, можливо, самостійно викликати нейропатію, яка накладається на нейропатію, спричинену нейротоксичною дією алкоголю [4].

Дефіцит вітаміну B_{12} пов'язують із розвитком значної неврологічної патології, включаючи периферійну нейропатію. Клінічні випробування окремо метилкобаламіну або вітаміну B_{12} у поєднанні з іншими вітамінами групи В показали, що загальне клінічне полегшення симптомів нейропатії було більш вираженим, ніж дані електрофізіологічного дослідження [8]. Нейротропні вітаміни групи В: тіамін, піридоксин і кобаламін сприяють регенерації нервів за рахунок активації енергетичних процесів, синтезу нейромедіаторів та безпосередньої участі їх у ремієлінізації та підтримці мієлінових оболонок [9].

Метою дослідження було вивчити вплив алкогольної нейропатії на розвиток патологічних змін у слинних залозах щурів, а також з'ясувати можливість корекції виявлених змін кокарнітом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні дослідження були виконані на 33 білих нелінійних щурах обох статей масою тіла (200±20) г. Алкогольну нейропатію у щурів моделювали шляхом ендогастрального введення етанолу за допомогою зонда протягом 72 діб різної концентрації (1–24 доби – 11,8 %; 25–48 – 23,6 %; 49–72 – 37 %) [10], розвиток якої підтверджували вимірюючи больовий поріг за допомогою тензоалгометричного тесту Randall-Selitto [11]. Середнє значення порогу больової чутливості (ПБЧ), визначене перед початком моделювання нейропатії, брали за 100 %. ПБЧ у щурів вимірювали перед початком моделювання патології та після 24, 48, 72 діб вживання алкоголю. З метою корекції виявлених змін щурам протягом 9 діб внутрішньом'язово вводили засіб «Кокарніт» (World Medicine) (1 мг/кг) [12], який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату. З експерименту тварин виводили шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом.

При проведенні експериментів дотримувались нормативи Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 р., Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, які ухвалені Першим національним конгресом України з біоетики.

Об'єктами дослідження були підщелепні слинні залози щурів, у гомогенаті яких визначали активність α-амілази (W. T. Caraway, 1959), каталази (М. А. Королюк, 1988), загальну протеолітичну актив-

ISSN 2706-6282(print)
ISSN 2706-6290(online)

ність (А. М. Уголев, 1969) та загальну антитриптичну активність (К. Н. Веремеенко, 1988), вміст молекул середньої маси (Н. І. Габрієлян, 1983), ТБК-активних продуктів (І. Д. Стальна, Т. Г. Гарішвілі, 1977) й окисно-модифікованих білків (Е. Е. Дубініна, 1995).

Для аналізу отриманих результатів були використані методи варіаційної статистики, зокрема застосовували непараметричний метод – тест Мана – Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Ми встановили за допомогою тензоалгометричного тесту Randall-Selitto, що у щурів контрольної і дослідної груп на початку моделювання нейропатії ПБЧ становив (100±10,8) %. Моніторинг ПБЧ упродовж 72 діб експерименту в щурів контрольної групи не зазнавав статистично достовірних змін, а у тварин дослідної групи, яким упродовж 72 днів вводили етанол різної концентрації: ПБЧ на 24 добу експерименту вірогідно не змінювався, а на 48 добу – зростав на 45,4 % ($p<0,05$) та на 72 – на 62,9 % ($p<0,05$) відносно початкового значення та такого в тварин інтактної групи. Щурам, яким вводили засіб «Кокарніт» упродовж 9 діб після моделювання алкогольної нейропатії ПБЧ, був меншим на (108,2±2,4) % ($p<0,001$), порівняно з групою тварин, яким моделювали алкогольну нейропатію без корекції та не відрізнявся від рівня ПБЧ у контрольних тварин. Таким чином, засіб «Кокарніт» відновлював ПБЧ до рівня інтактних щурів за тестом Randall-Selitto.

Аналізуючи зміни протеїназно-інгібіторного потенціалу піднижньощелепних слинних залоз тварин за умов алкогольної нейропатії, ми встановили, що загальна протеолітична та антитриптична активності вірогідно не змінюється порівняно з цими показниками у контролі (табл.). Отже, алкоголізація

Таблиця. Біохімічні показники слинних залоз тварин за умов алкогольної нейропатії та корекції засобом «Кокарніт»

Біохімічний показник	Перша група. Інтактні	Друга група. Алкогольна нейропатія	Третя група. Алкогольна нейропатія плюс кокарніт	Четверта група. Інтактні плюс кокарніт	Статистичний показник
Загальна протеолітична активність, мкг/г·хв	3,33±0,06 (n=9)	3,11±0,42 (n=5)	2,97±0,21 (n=5)	3,37±0,13 (n=8)	p_{1-2} >0,05 p_{1-3} >0,05 p_{2-3} >0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} >0,05
Загальна антитриптична активність, г/кг	32,64±1,74 (n=9)	36,25±5,38 (n=5)	55,00±3,64 (n=5)	32,81±1,96 (n=8)	p_{1-2} >0,05 p_{1-3} <0,05 p_{2-3} >0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} <0,05
Активність α-амілази, мг/с·л	38,8±4,67 (n=10)	22,83±1,78 (n=5)	31,97±3,26 (n=5)	39,76±2,93 (n=7)	p_{1-2} <0,05 p_{1-3} >0,05 p_{2-3} <0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} >0,05
Вміст ТБК-реактантів, мкмоль/г	4,25±0,72 (n=15)	5,87±0,47 (n=5)	4,38±0,30 (n=5)	4,27±0,36 (n=8)	p_{1-2} <0,05 p_{1-3} >0,05 p_{2-3} <0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} >0,05
Вміст молекул середньої маси, ум. од.	0,294±0,003 (n=8)	0,390±0,021 (n=5)	0,296±0,005 (n=5)	0,295±0,006 (n=8)	p_{1-2} <0,05 p_{1-3} >0,05 p_{2-3} <0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} >0,05
Уміст ОМБ, ум. од.	0,34±0,02 (n=10)	1,20±0,14 (n=5)	0,57±0,11 (n=5)	0,24±0,03 (n=8)	p_{1-2} <0,05 p_{1-3} >0,05 p_{2-3} <0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} >0,05
Активність каталази, мккат/г·хв	0,74±0,034 (n=10)	0,68±0,06 (n=6)	0,72±0,096 (n=5)	0,73±0,014 (n= 8)	p_{1-2} >0,05 p_{1-3} >0,05 p_{2-3} >0,05 p_{1-4} >0,05 p_{3-4} >0,05

тварин не впливає на зміну протеїназно-інгібіторного балансу слинних залоз.

Активність амілази у слинних залозах щурів за умов тривалого введення зростаючої концентрації етилового спирту вірогідно в 1,7 раза зменшилась порівняно з контрольними тваринами. Отже, за умов алкоголізації тварин білоксинтетична функція слинних залоз пригнічується.

Швидкість секреції слини та активність амілази вірогідно зменшувались за умов розвитку діабетичної нейропатії [13].

Введення кокарніту протягом 9 діб на тлі моделювання алкогольної нейропатії достовірно збільшувало активність амілази у слинних залозах тварин, порівняно з щурами, яким вводили етиловий спирт без корекції (табл.). Таким чином, метаболічна корекція кокарнітом запобігала нейротоксичності та пригніченню білоксинтетичної функції слинних залоз щурів.

Загальновідомо, що провідним механізмом нейротоксичності алкоголізації тварин є розвиток дисбалансу про- та антиоксидантної систем. Ми встановили, що за умов алкогольної нейропатії у слинних залозах вірогідно зростає вміст ТБК-активних продуктів у 1,4 раза, вміст окисно-модифікованих протеїнів – у 3,5 раза на тлі статистично не зміненої активності каталази порівняно з цими показниками у контрольних тварин.

R. O. Ferreira та ін. довели, що зловживання етанолу вагітними щурами спричиняє зниженню загального білка, амілази, антиоксидантного захисту та підвищенню пероксидного окиснення ліпідів у слинні 40-денного потомства щурів [14].

Введення кокарніту за умов моделювання алкогольної нейропатії запобігало розвитку оксидативного стресу в слинних залозах щурів, про що свідчить достовірне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів, окисно-модифікованих білків, порівняно з тваринами, яким викликали алкоголізацію без корекції.

Точні механізми, які лежать в основі порушення нервової системи через зловживання алкоголем, недостатньо зрозумілі, однак нейрозапалення, оксидативний стрес і порушення нейтрансмітерної системи можуть відігравати певну роль, стверджують L. M. P. Fernandes та ін. [15].

ВИСНОВКИ

Алкоголізація тварин викликає розвиток алкогольної нейропатії, що призводить до пригнічення синтезу амілази, спричиняє карбонільно-оксидативний стрес у слинних залозах тварин. Кокарніт запобігає розвитку нейротоксичності, про що свідчить зростання порогу больової чутливості та пригнічує карбонільно-оксидативний стрес у піднижньощелепних слинних залозах і відновлює білоксинтетичну функцію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Organization W. H. Global status report on alcohol and health 2018 / W. H. Organization. – World Health Organization. – Geneva : World Health Organization, 2018. – 450 p.

2. Fouarge E. Conséquences neurologiques centrales et périphériques de l'alcoolisme [Neurological consequences of alcoholism] / E. Fouarge, P. Maquet // Rev. Med Liege. – 2019. – Vol. 74, No. 5–6. – P. 310–313. French. PMID: 31206272. French. PMID: 31206272.

3. De la Monte S. M. Human alcohol-related neuropathology [Electronic resource] / Suzanne M. de la Monte, Jillian J. Kril // Acta Neuropathologica. – 2013. – Vol. 127, No. 1. – P. 71–90. DOI: 10.1007/s00401-013-1233-3.

4. Alcohol-related peripheral neuropathy: a systematic review and meta-analysis [Electronic resource] / Thomas Julian [et al.] // Journal of Neurology. – 2018. – Vol. 266, No. 12. – P. 2907–2919. DOI: 10.1007/s00415-018-9123-1.

5. Eriksson C. J. P. The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (Update 2000) [Electronic resource] / C. J. Peter Eriksson // Alcoholism: Clinical and Experimental Research. – 2001. – Vol. 25, s1. – P. 15S–32S. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2001.tb02369.x.

6. Oridonin attenuates the effects of chronic alcohol consumption inducing Oxidative, Glycative and Inflammatory Injury in the Mouse Liver [Electronic resource] / SHENG-LEI YAN [et al.] // In Vivo. – 2021. – Vol. 35, No. 4. – P. 2141–2149. DOI: 10.21873/invivo.12484.

7. Zięba S. Ethanol- and cigarette smoke-related alternations in oral redox Homeostasis [Electronic resource] / Sara Zięba, Mateusz Maciejczyk, Anna Zalewska // Frontiers in Physiology. – 2022. – Vol. 12. DOI: 10.3389/fphys.2021.793028.

8. Chopra K. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities [Electronic resource] / Kanwaljit Chopra, Vinod Tiwari // British Journal of Clinical Pharmacology. – 2012. – Vol. 73, No. 3. – P. 348–362. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x.

9. Baltrusch S. The Role of Neurotropic B Vitamins in Nerve Regeneration [Electronic resource] / Simone Baltrusch // BioMed Research International. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1–9. DOI: 10.1155/2021/9968228.

10. Experimental alcohol-pelated peripheral neuropathy: Role of insulin/IGF Resistance [Electronic resource] / Van Anh Nguyen [et al.] // Nutrients. – 2012. – Vol. 4, No. 8. – P. 1042–1057. DOI: 10.3390/nu4081042.

11. A method for measurement of analgesic activity on inflammed tissue [Electronic resource] / L. O. Randall, J. J. Selitto // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. – 1957. – Vol. 111, No. 4. – P. 409–419.

12. Definition of optimum scheme of cocarnit injection for rats with polyneuropathy following diabetis induced by tenzoalogometric method [Electronic resource] / N. Nikitina [et al.] // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Problems of Physiological Func-

ISSN 2706-6282(print)
ISSN 2706-6290(online)

tions Regulation. – 2017. – Vol. 23, No. 2. – P. 37–42. DOI: 10.17721/2616_6410.2017.23.37-42

13. Parotid salivary secretion in diabetic autonomic neuropathy [Electronic resource] / P. G. Newrick [et al.] // Journal of Diabetic Complications. – 1991. – Vol. 5, No. 1. – P. 35–37. DOI: 10.1016/0891-6632(91)90008-d.

14. Ethanol binge drinking during pregnancy and its effects on salivary glands of offspring rats: oxidative stress, morphometric changes and salivary function impairments [Electronic resource] / Railson O. Ferreira [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2021. – Vol. 133. – P. 110979. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110979.

15. Ethanol [Electronic resource] / L. M. P. Fernandes [et al.] // Addictive Substances and Neurological Disease. – [S. l.], 2017. – P. 201–215.
DOI: 10.1016/b978-0-12-805373-7.00020-7.

REFERENCES

1. WHO. Global Status Report on Alcohol Health 2018. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2018.

2. Fouarge E, Maquet P. Conséquences neurologiques centrales et périphériques de l'alcoolisme [Neurological consequences of alcoholism]. Rev Med Liege. 2019 May;74(5-6): 310-3. PMID: 31206272.

3. de la Monte SM, Kril JJ. Human alcohol-related neuropathology. Acta Neuropathol. 2014 Jan;127(1): 71-90. DOI: 10.1007/s00401-013-1233-3.

4. Julian T, Glascow N, Syeed R, Zis P. Alcohol-related peripheral neuropathy: a systematic review and meta-analysis. J Neurol. 2019;266(12): 2907-19.
DOI: 10.1007/s00415-018-9123-1.

5. Eriksson CJ. The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (update 2000). Alcohol Clin Exp Res. 2001;25(5 Suppl ISBRA): 15S-32S.
DOI: 10.1097/00000374-200105051-00005.

6. Yan SL, Huang CS, Mong MC, Yin MC. Oridonin attenuates the effects of chronic alcohol consumption inducing oxidative, glycative and inflammatory injury in the mouse liver. In vivo. 2021;35(4): 2141-9.
DOI: 10.21873/invivo.12484.

7. Zięba S, Maciejczyk M, Zalewska A. Ethanol- and Cigarette Smoke-Related Alternations in Oral Redox Homeostasis. Front Physiol. 2022;12: 793028.
DOI: 10.3389/fphys.2021.793028.

8. Chopra K, Tiwari V. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities. Br J Clin Pharmacol. 2012;73(3): 348-62.
DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x.

9. Baltrusch S. The role of neurotropic B vitamins in nerve regeneration. Biomed Res Int. 2021;2021: 9968228. DOI: 10.1155/2021/9968228.

10. Nguyen VA, Le T, Tong M, Mellion M, Gilchrist J, de la Monte SM. Experimental alcohol-related peripheral neuropathy: Role of insulin/IGF resistance. Nutrients [Інтернет]. 17 серп. 2012 [цитовано 20 верес. 2022];4(8):1042-57. DOI: 10.3390/nu4081042.

11. Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflammed tissue. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1957;111:409–419.

12. Nikitina N, Beregovyi S, Stepanova L, Kabanov O. Definition of optimum scheme of cocarnit injection for rats with polyneuropathy following diabetis induced by tenzoalogometric method. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Problems of Physiological Functions Regulation [Інтернет]. 2017;23(2): 37-42. DOI: 10.17721/2616_6410.2017.23.37-42.

13. Newrick PG, Bowman C, Green D, O'Brien IA, Porter SR, Scully C, Corrall RJ. Parotid salivary secretion in diabetic autonomic neuropathy. J Diabet Complications. 1991 Jan-Mar;5(1):35-7. DOI: 10.1016/0891-6632(91)90008-d.

14. Ferreira RO, Aragão WAB, Bittencourt LO, Fernandes LPM, Balbinot KM, Alves-Junior SM, Pinheiro JJV, Maia CDSF, Crespo-Lopez ME, Lima RR. Ethanol binge drinking during pregnancy and its effects on salivary glands of offspring rats: oxidative stress, morphometric changes and salivary function impairments. Biomed Pharmacother. 2021;133: 110979. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110979.

15. Fernandes LMP, Fontes de Andrade E, Monteiro MC, Cartágenes SC, Lima RR, Prediger RD, Maia CSF, Chapter 20 – ethanol: Neurotoxicity and brain disorders, Editor(s): Ronald Ross Watson, Sherma Zibadi, Addictive Substances and Neurological Disease, Academic Press; 2017. DOI: 10.1016/B978-0-12-805373-7.00020-7.