



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BIOMEDICINA**

ANTÔNIO VINÍCIUS VIEIRA ARAÚJO

**LESÃO HEPÁTICA INDUZIDA PELO USO EXCESSIVO DO PARACETAMOL: A
prática do Jejum pode proteger o fígado por meio da ativação da autofagia?**

PARNAÍBA-PI

2023

ANTÔNIO VINÍCIUS VIEIRA ARAÚJO

LESÃO HEPÁTICA INDUZIDA PELO USO EXCESSIVO DO PARACETAMOL: A prática do Jejum pode proteger o fígado por meio da ativação da autofagia?

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPAr, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

Coorientadora: Profª. Drª. Ana Patrícia de Oliveira

PARNAÍBA - PI

2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba

A6631 Araújo, Antônio Vinícius Vieira
Lesão hepática induzida pelo uso excessivo do paracetamol: a prática do jejum pode proteger o fígado por meio da ativação da autofagia? [recurso eletrônico] / Antônio Vinícius Vieira Araújo. – 2023.
1 Arquivo em PDF.

TCC (Bacharelado em Biomedicina) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

1. Paracetamol. 2. Hepatotoxicidade. 3. N-acetil-p-benzoquinona imina. I. Título.

CDD: 615.1

ANTÔNIO VINÍCIUS VIEIRA ARAÚJO

LESÃO HEPÁTICA INDUZIDA PELO USO EXCESSIVO DO PARACETAMOL: A prática do Jejum pode proteger o fígado por meio da ativação da autofagia?

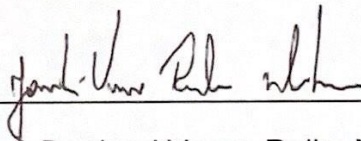
Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPAr, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Patrícia de Oliveira

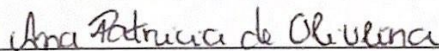
APROVADA EM: 30/08/23.

BANCA EXAMINADORA



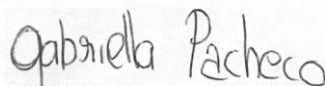
Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

Universidade Federal do Delta do Parnaíba (Orientador)



Prof^a. Dra. Ana Patrícia de Oliveira - UFDPAr

Universidade Federal do Delta do Parnaíba



Msc. Gabriella Pacheco - UFDPAr

Universidade Federal do Delta do Parnaíba

Dedico a minha mãe, minha família e amigos pelo amor e por sempre acreditarem em mim!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por estar aqui neste momento, concluindo esta etapa importante da minha jornada acadêmica. Sua graça e amor têm sido fundamentais em cada passo, iluminando meu percurso e guiando-me através dos desafios da vida. Durante todo o processo senti a Sua presença, inspirando-me e fortalecendo-me nas horas de dúvida, tristeza e medo.

Agradeço a minha mãe, **Gardênia Vieira**, por ser sempre meu maior exemplo de tudo, por sempre me ensinar o que é certo e por estar comigo em todos os momentos, sempre será minha melhor amiga, a que me entendia, escutava e apoiava em cada situação. Sempre minha mãe vivera em minha memória e no meu coração. Sua luz e carinho estão estampadas em mim me dando forças para continuar e ser cada vez mais um motivo de orgulho para ela.

Agradeço as minhas avós **Maria da Conceição** e **Francisca Vieira**, ao meu avô **Raimundo Nonato**, as minhas tias **Andreia Vieira**, **Káthia Vieira**, **Patrícia Vieira**, **Auxiliadora Vieira** e aos meus tios **Pádua Vieira** e **Kelson Vieira** por serem minha base e por sempre estarem ao meu lado.

Agradeço novamente em especial ao meio tio **Kelson Vieira** por nunca duvidar de minhas capacidades, por me apoiar e me acolher sempre, agradeço por me fazer rir em momentos de tristeza e por me dar forças a continuar; sou grato também especialmente a minha tia **Káthia Vieira** por sempre me incentivar e me auxiliar em tudo que faço, sou grato pelo seu amor a mim e por tudo que faz para me fazer feliz.

Sou grato ao **Vinícius Lima** meu companheiro e amigo, agradeço por todos os momentos que tivemos e teremos, sou grato por seu amor a mim, por me fazer bem, por me acompanhar e me incentivar a ser uma pessoa melhor; sou grato também a **Elaine Lima**, minha sogra, uma mulher de fé e força, que me aconselha, escuta e defende, sou grato ao seu carinho e a cada palavra amiga.

Aos meus grandes amigos, sou grato por cada palavra amiga, cada estudo, cada piada e cada abraço, sou grato por tê-los em minha vida e por me fazerem companhia em cada momento, por isso e muito mais sou grato a **Cleane Sousa**, **Isaac Alef**, **Beatriz Carvalho**, **Ana Beatriz**, **Sabrina Vitoria**, **Katriane Carvalho**, **Excelsa Aline**, **Ana Joérica**, **Rafaela Ribeiro**, **Gabrielle Costa**, **Maria Eduarda** e **Gabriela Caetano**.

Sou grato aos meus primos, que são como irmão que Deus colocou em minha vida, crescemos juntos e tenho certeza que permaneceremos assim, unidos. Sou grato a **Victória Vieira**, **Kevin**, **Neto Vieira**, **Eulalia Vieira**, **Nicolas Vieira**, **Nicole Vieira**, **Karla Vieira** e **Ídia Vieira**. Obrigado por serem quem são e por todo o afeto que temos uns aos outros.

Ao **Professor Dr. Jand Venes**, por ter me aceitado como integrante do Laboratório de Inflamação e Gastroenterologia Translacional (LIGAT), lugar onde me encontrei na pesquisa, onde aprendi e aprendo muito.

Agradeço aos meus amigos do LIGAT pelo carinho, pela paciência e por compartilharem comigo seus conhecimentos. Agradeço em especial a **Gabriella Pacheco**, **Letícia Chaves**, **Ana Patrícia**, **André Luís** e **Andreza Ketly** por cada ensinamento. Em especial, agradeço aos meus amigos IC's, **Beatriz Carvalho**, **Eduardo Canutto**, **Sabrina Vitória** e **Isaac Alef**, pelo auxílio em cada atividade e por serem meus grandes amigos.

RESUMO

O paracetamol é um medicamento amplamente usado para alívio da dor e redução da febre. Ele pode ser encontrado em forma sólida e líquida e é conhecido por suas propriedades antipiréticas e analgésicas. No entanto, esse pode causar lesões hepáticas quando usado em doses excessivas. Isso ocorre devido à formação de um metabólito tóxico chamado N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI), que danifica as células do fígado. Por esse fármaco ser comercializado de forma livre, sem necessidade de receituário, ele fica disposto à população fazendo com que em muitos casos, com uso irracional, cause danos à saúde dos indivíduos. Com isso questionamentos são gerados para medidas farmacológicas e não farmacológicas para métodos terapêuticos dos danos causados pela overdose desse fármaco, onde se entra o debate se a via autofágica diminuirá a lesão hepática. Nesse contexto, esse trabalho se trata de uma hipótese, que propõe que o jejum possa ativar a autofagia no fígado, resultando em uma maior eliminação de componentes danificados e em uma melhor capacidade de reparação do tecido hepático lesado pelo paracetamol. Entretanto, é importante destacar que a hipótese ainda requer investigações científicas adicionais para ser completamente validada. Portanto, esses pensamentos nos levam a estudos futuros com o objetivo de avaliar a hipótese mencionada e novas estratégias terapêuticas para doenças hepáticas e outras condições associadas ao estresse celular, envolvendo a autofagia como método de tratamento.

Palavras-chave: Paracetamol; Hepatotoxicidade; N-acetil-p-benzoquinona imina.

ABSTRACT

Paracetamol is a widely used medication for pain relief and fever reduction. It can be found in solid and liquid forms and is known for its antipyretic and analgesic properties. However, it can cause liver damage when used in excessive doses. This occurs due to the formation of a toxic metabolite called N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), which damages liver cells. Since this drug is available over-the-counter, without the need for a prescription, it is readily available to the population, leading to, in many cases, health damage through irrational use. This raises questions about pharmacological and non-pharmacological measures for therapeutic methods for the damage caused by overdoses of this drug, which brings up the debate on whether the autophagic pathway will reduce liver injury. In this context, this work is a hypothesis proposing that fasting may activate autophagy in the liver, resulting in greater elimination of damaged components and better tissue repair capacity in the liver damaged by paracetamol. However, it is important to note that the hypothesis still requires additional scientific investigations to be fully validated. Therefore, these thoughts lead us to future studies with the aim of evaluating the mentioned hypothesis and new therapeutic strategies for liver diseases and other conditions associated with cellular stress, involving autophagy as a treatment method.

Keywords: Paracetamol; Hepatotoxicity; N-acetyl-p-benzoquinone imine.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADP: Adenosina Difosfato

AINES: Anti-Inflamatórios Não Esteroides

AKT: Oncogene Viral Do Timoma Murino

AM404: N-araquidonoilfenolamina

AMP: Adenosina Monofosfato

AMPK: Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina

APAP: Paracetamol ou Acetaminofeno

APAP-AD: Adutos Proteicos de Paracetamol

ATG: Proteína relacionada a autofagia

ATP: Adenosina Tri-Fosfato

COX: Cicloxigenase

DAMP: Padrões Moleculares Associados a Danos

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

ERO: Espécies reativas de oxigênio

GS: Glicogênio Sintaxe

GSH: Glutathiona Hepática

JI: Jejum Intermitente

JNK: Proteína Quinase Ativada Por Mitogênio

mTOR: Alvo mecanístico da rapamicina

NAPQI: Imina N-Acetil-P-Benzoquinona

NK: Natural Killers

OMS: Organização Mundial da Saúde

PI3K: Fosfatidil inositol 3 quinase

PMNs: Polimorfonucleares

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Células relacionadas a produção da COX-1 e COX-2	14
Figura 2 - Estrutura química do paracetamol	15
Figura 3 - Mecanismo de ativação da via da autofagia	20
Figura 4 – A ERO induz a autofagia e limpa mitocôndrias danificadas. Induzindo o processo da autofagia	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 AUTOMEDICAÇÃO	13
2.2 AINES	13
2.3 PARACETAMOL	14
2.4 METABOLISMO HEPATICO	16
2.5 HEPATOTOXICIDADE CAUSADA POR APAP	17
2.6 JEJUM	18
2.7 AUTOFAGIA	19
2.7.1 Vias autofágicas e regulação celular	20
2.8 MECANISMO AUTOFÁGICO IMPEDE HEPATOTOXICIDADE POR APAP?...21	
2.8.1 Autofagia protege contra a hepatotoxicidade por alta dosagem de APAP?...22	
3 OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4 METODOLOGIA	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 INTRODUÇÃO DA HIPÓTESE	28
5.2 HIPÓTESE	30
5.3 AVALIAÇÃO DA HIPÓTESE	30
5.4 CONSEQUÊNCIA DA HIPÓTESE E DISCUSSÃO	33
5.5 REFERÊNCIAS DA HIPÓTESE	35
6 CONCLUSÃO	41
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXO - MODELO DE SUBMISSÃO MEDICAL HYPOTHESES	48

1 INTRODUÇÃO

O paracetamol (para-acetil-aminofenol), também designado por acetaminofeno (N-acetil-para-aminofenol) ou, mais corretamente, por N-(4-hidroxifenil)-etanamida, segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (Panico, 1993; Antônio, 2018), ele faz parte do grupo de anti-inflamatórios não esteroidais (AINE's), por ser inibidor da ciclo-oxidase (COX), não seletivo para COX-1 e COX-2 e seletivo para COX-3 que é expresso em maiores quantidades no córtex cerebral e no coração (lucas *et al.*, 2018). Durante a sua metabolização no fígado são produzidos metabólitos tóxicos em pequenas quantidades o que permite que o sistema defensivo do próprio fígado os neutralize, mas quando consumido em doses muito altas uma grande quantidade de substâncias tóxicas também é produzida, e o fígado não consegue neutralizá-las resultando em danos ao próprio órgão (Batlouni, 2010; Munoz-Garcia; Andrade, 2011; Brayner *et al.*, 2018).

Por ser um fármaco de venda livre no Brasil com excelente ação analgésica, antipirética e uma baixa atividade anti-inflamatória, é bastante consumido pela população em geral e isso tem se tornado elevado o seu índice de intoxicação (Glinka; Ribeiro, 2018). É então considerado que a sua automedicação é o problema mais vigente. As principais justificativas para a utilização de medicamentos de forma indiscriminada são a necessidade de alívio imediato da dor e a dificuldade do acesso ao sistema de saúde pública (CRFSP, 2014).

O paracetamol desenvolve lesão hepática por via de seu metabólito intermediário, decorrente da biotransformação hepática. Na biotransformação desse fármaco, uma pequena fração, após N - hidroxilação mediada pelo citocromo P-450, origina o N-acetil-benzoquinonaimina, que é altamente reativo. Normalmente, esse metabólito reage com o grupamento sulfidril da glutathiona e é excretado quanto mercapturato. No entanto, depois da administração de altas doses de paracetamol, ocorre saturação nas reações de junção com ácido glicurônico e sulfato, fazendo com que esse metabólito, ao gastar cerca de 70% de glutathiona hepática, possa reagir com as proteínas hepáticas, por meio de ligações covalentes, levando à necrose hepática (Oga; Camargo; Batistuzzo; 2008; Santa *et al.*, 2016).

Como meio não farmacológico para evitar esse efeito lesivo da overdose de paracetamol, a autofagia atua diretamente na atuação de estresses ocasionados ao corpo celular, onde as células atuam na degradação e renovação dos componentes intracelulares endógenos e exógenos, afim de manter o equilíbrio celular homeostático

(Mancias, 2016; Conway *et al.*, 2020). As vias de autofagia adquirem relevância fisiológica mesmo em condições basais e não estressantes. Com isso, a autofagia relaciona-se diretamente a regulação de programas de desenvolvimento (Mizushima & Levine, 2010; Allen & Baehrecke, 2020), na manutenção do potencial de autorrenovação das células-tronco (Chen *et al.*, 2018; Dong *et al.*, 2021), e na diferenciação celular e plasticidade (Boya *et al.*, 2018; Clarke & Simon, 2019). Consistente com essa noção, o surgimento de estados de 'doença' associados à desregulação da autofagia pode ocorrer como resultado de mudanças nesses aspectos centrais da biologia de um organismo.

Com isso, no estudo iremos analisar a hipótese se pratica do jejum possa ter um efeito hepatoprotetor sobre as lesões hepáticas formadas pelas altas dosagens do paracetamol, por meio da ativação das vias PI3K/AKT/mTOR ou AMPK.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 AUTOMEDICAÇÃO

Automedicação significa tomar medicamentos sem a intervenção de um médico ou outro profissional qualificado no diagnóstico clínico, sem prescrição ou qualquer acompanhamento do tratamento. Isso pode ser devido, em parte, ao grande número de farmácias e drogarias que disponibilizam medicamentos com uma alta facilidade e às práticas éticas e legalmente questionáveis de alguns estabelecimentos (Pereira *et al.*, 2021).

O Brasil é considerado como um dos maiores consumidores mundiais de produtos farmacêuticos. Esse mercado atinge cerca de US\$ 22,1 bilhões anualmente, e a ampla disponibilidade aumenta o potencial de uso irracional de medicamentos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 50% de todos os fármacos são prescritos, dispensados ou comercializados incorretamente, e metade dos pacientes os utiliza de forma inadequada (Domingues *et al.*, 2015).

Como mencionado acima, não há dúvidas então de que o mau uso de fármacos é a principal causa do aumento das intoxicações no Brasil e em outros países (Bomfim *et al.*, 2022).

2.2 AINES (ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES)

Dentre os fármacos amplamente utilizados pela população temos os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são fármacos de uso terapêutico, devido às suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e antitérmicas, seu uso terapêutico é de grande interesse tanto para os profissionais de saúde quanto para os pacientes (Santos *et al.*, 2021).

Essa classe de fármacos é classificada em inibidores não-seletivos da COX e inibidores seletivos da COX-2. Na atualidade são conhecidos 3 tipos de COXs, sendo elas COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1 é uma enzima constitutiva envolvida na produção de prostaglandinas; a COX-2 é considerada não constitutiva, tendo a sua expressão ampliada em processos inflamatórios e a COX-3, sendo recentemente descoberta (Santos *et al.*, 2021).

A COX-3 é uma variante da COX-1, uma enzima que tem efeitos inibitórios sobre analgésicos e antipiréticos e pode ser inibida por certos tipos de AINEs. Essa

inibição pode ocorrer no processo primário pelo qual esses agentes reduzem a dor e possivelmente a febre (Sandoval, 2017).

A COX 1 é produzida nas células dos rins, útero, estômago e sistema nervoso central. Essa isoforma é constantemente produzida por essas células e não requer indução. A COX-2 é constitutivamente produzida, induzida e encontrada em macrófagos, linfócitos, polimorfonucleares (PMNs) e endotélio vascular e como seu homônimo COX-1, possivelmente (COX-2). Porque é ativado por citocinas e desencadeia outros processos inflamatórios (Santos *et al.*, 2021).

A COX-1 está envolvida na produção de prostaglandinas responsáveis por responder a vários efeitos fisiológicos, a COX-2 é expressa principalmente por células envolvidas no processo inflamatório e, diante desse estado inflamatória, sua expressão aumenta por cerca de 20x. Assim como exposto na figura 1 (Santana, 2019).

Figura 1: Células que produzem a COX-1 e a COX-2.



Fonte: Autoria própria, 2023

2.3 PARACETAMOL

O paracetamol (Figura 2) é um medicamento amplamente utilizado como analgésico e antipirético, tem um mecanismo de ação diferente, agindo principalmente no sistema nervoso central para reduzir a percepção da dor e a febre, sem inibir diretamente as enzimas COX-1 ou COX-2 envolvidas na produção de prostaglandinas (Silva, 2023), assim como em alguns mecanismos dos AINES (Silva, 2023).

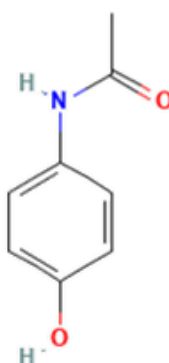
Em muitos países, ele é um fármaco com venda liberada sem receitas médicas.

De acordo com a *Food and Drug Administration* dos EUA, aproximadamente 50 milhões de adultos nos Estados Unidos fazem o uso constante de acetaminofeno. A dosagem oral recomendada para indivíduos adultos está entre 325 a 650 mg a cada 4 a 6 h, com uma dose diária máxima recomendada de 4 g (Shan *et al.*, 2018).

Embora o mecanismo de ação permaneça incerto, O APAP é classificado como um AINE em razão da capacidade de inibição das COXs (Esh *et al.*, 2021; Botting; Ayoub, 2005). Como os demais AINEs, o APAP apresenta atividades antipiréticas e antitérmicas, porém possui baixa atividade anti-inflamatória (Chandrasekharan *et al.*, 2002). Acredita-se que esta contrariedade nas ações farmacológicas quando comparados com os demais AINEs ocorre devido a capacidade de inibição da COX-3 no sistema nervoso central resultando nos efeitos antipiréticos e analgésicos do fármaco (Torres, *et al.*, 2019).

O paracetamol, sendo metaboliza no fígado, a partir do mecanismo de primeira passagem, também estimula o cérebro a regular a temperatura corporal. No entanto, não é utilizado como anti-inflamatório, pois não atua nos tecidos periféricos, sendo pouco eficaz. Durante o metabolismo, o Acetaminofeno sofre desacetilação para produzir aminas primárias, que são então conjugadas com o ácido araquidônico, formando a N-araquidonoilfenolamina (AM404), considerada um canabinóides endógeno (Domingos, 2019).

Figura 2 : Estrutura química do paracetamol.



Fonte: Pubchem, sd.

2.4 METABOLISMO HEPÁTICO

O fígado é o órgão central no metabolismo dos fármacos e xenobiótico transformando-os em metabólitos mais polares e que possam ser eliminados pela urina ou bile. Em geral, a metabolização ocorre em duas fases, I e II. A fase I envolve reação de oxidação, redução e hidrólise, e os produtos originários desta reação são em geral mais reativos e tóxicos do que a droga original ou com potencial carcinogénico. A fase II envolve a conjugação e acetilação, tornando o composto mais hidrofílico (Santos *et al.*, 2016).

As enzimas envolvidas no metabolismo na fase II, são a glicuronosiltransferase, que insere o ácido glicurônico à molécula do fármaco ou xenobiótico ocorrendo nos retículos endoplasmáticos dos hepatócitos. Outra enzima é a n-acetiltransferase que ocorre no citosol das células e insere um grupo acetil na molécula do fármaco ou xenobiótico. Para receber o metabolismo da fase II, a droga ou xenobiótico não necessariamente precisa ser metabolizada na fase I. E alguns compostos, ao serem metabolizados na fase I já podem ser eliminados, sem que tenham que receber metabolismo na fase II, desde que o produto seja um composto inativo e já polarizado que possa ser eliminado pela urina ou bile (Santos *et al.*, 2016).

A hepatotoxicidade se deve ao acúmulo de metabólitos tóxicos causados pela deficiência de glutathione, mas também aos efeitos de eventos intracelulares como o estresse oxidativo mitocondrial, formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, ativação de proteínas de estresse, mediadores transcricionais de genes e ativação do sistema imunológico inato do fígado. A falha mitocondrial parece ser o evento final que anuncia a morte celular (Bachur *et al.*, 2017).

Embora as vias apoptóticas sejam ativadas, a morte celular necrótica geralmente ocorre porque força a morte celular com consequências irreversíveis de danos mitocondriais. A zona de hepatócitos enriquecida com CYP2E1 é suscetível a danos, o que causa o padrão centrolobular característico da necrose hepática associada ao Acetaminofeno (Jozwiak, 2014; Hodgman *et al.*, 2012; Bachur *et al.*, 2017).

A superdose de paracetamol pode causar disfunção mitocondrial. Proteínas mitocondriais modificadas e altos níveis de cálcio citosólico prejudicam a respiração mitocondrial e o trifosfato de adenosina (ATP) e provocam o estresse oxidativo mitocondrial através do aumento da produção de peroxinitrito, um potente oxidante e

nitrificador. Pode induzir um aumento nas disfunções mitocondriais, criando ligações covalentes adicionais com proteínas celulares. Assim, ocorrem alterações na permeabilidade da membrana, levando à interrupção do potencial de membrana mitocondrial, inibição da síntese de ATP, liberação de proteínas mitocondriais no citoplasma e necrose dos hepatócitos (Instituto de Toxicologia/UFRJ, 2016).

A morte celular induzida pelo NAPQI leva primeiro à ativação das células de Kupffer (macrófagos hepáticos fagocitários), que então liberam citocinas como a interleucina-12, interleucina-18 e fator de necrose tumoral; natural killers (NK) e linfócitos do timo, podem ainda ser ativados. A ativação dessas células pode levar à lesão hepática por meio da atividade citotóxica, que aumenta ainda mais a ativação das células de Kupffer e estimula a produção local de quimiocinas. Mediadores inflamatórios, citocinas e quimioquinas, recrutam e acumulam neutrófilos no fígado, exacerbando assim a lesão hepática (Graham *et al.*, 2013; Bachur *et al.*, 2017).

Sendo assim, doses tóxicas de APAP levam ao comprometimento do metabolismo energético e à diminuição da relação ATP/ADP. Essa disfunção mitocondrial está causalmente relacionada ao estresse oxidativo após a overdose de APAP. Por outro lado, NAPQI excessivo gerado a partir de APAP pode reduzir os níveis de GSH e prejudicar a função mitocondrial nos hepatócitos. Por outro lado, o dano mitocondrial também leva à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs), criando um ciclo vicioso (Shan *et al.*, 2018).

2.5 HEPATOTOXICIDADE CAUSADA POR APAP

O retículo endoplasmático do fígado contém várias enzimas microssômicas responsáveis pela biotransformação de drogas (Vilela, 2012; Mezarobba *et al.*, 2018). O metabolismo do paracetamol ocorre por meio de reações de fase I e II, seguindo três mecanismos: conjugação, sulfatação e oxidação. Na via oxidativa, o fármaco é degradado pelas enzimas do citocromo P450 para gerar o metabólito eletrolítico altamente tóxico n-acetil-p-benzoquinonaamina (NAPQI), que se liga à glutatona hepática (GSH) em doses terapêuticas. Isso produz compostos inativos que são excretados na urina (Mezarobba *et al.*, 2018).

Quando a capacidade do fígado para neutralizar o NAPQI com glutatona é excedida, ocorre acúmulo de NAPQI tóxico, resultando em dano celular hepático,

inflamação e potencial insuficiência hepática aguda, causando um efeito tóxico ao tecido (Chao *et al.*, 2018)

Mas, em condições terapêuticas, o NAPQI se une ao GSH, formando conjugados de cisteína e ácido mercaptúrico e então são eliminados do organismo, não ocorrendo nenhum processo hepatotóxico (Bachur *et al.*, 2017). A administração de altas doses (maiores que 4g/dia) altera o metabolismo e a excreção. As vias de ligação e sulfatação hepáticas estão saturadas e os processos metabólicos são redirecionados para o sistema do citocromo P450 (Mezarobba *et al.*, 2018). Assim, a produção de NAPQI e o consumo de glutatona aumentam significativamente (Schuh, 2007; Mezarobba *et al.*, 2018).

O aumento do NAPQI gera um aumento significativo no processo de estresse oxidativo, causando uma necrose hepática. Tendo em vista a essa perspectiva, a autofagia vem a ser benéfica pois eliminaria organelas danificadas e proteínas citoplasmáticas, causando uma melhora no tecido lesado pela overdose medicamentosa do APAP (Ramachandran, 2017).

2.6 JEJUM

Nessa perspectiva o jejum pode, em alguns casos, oferecer um benefício ao reduzir a hepatotoxicidade, uma vez que a diminuição da ingestão de alimentos pode diminuir a carga metabólica sobre o fígado, permitindo que ele se recupere de danos ou processos inflamatórios (Michalsen, 2010; Wang; Wu, 2022).

A ingestão alimentar atualmente é frequentemente realizada em uma base diária. dietas altamente calóricas e um estilo de vida sedentário prejudicam o metabolismo do corpo, levando a taxas crescentes de obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e derrame (Gill *et al.*, 2015). Portanto, os pesquisadores começaram a estudar os efeitos de diferentes estratégias do jejum no corpo. O jejum pode ser dividido em jejum de curto prazo, como jejum intermitente (JI) e jejum de longo prazo (oito ou mais dias) (Wang; Wu, 2022).

O JI é um novo tipo de dieta. O JI determina que os indivíduos evitem comer alimentos com alto teor calórico, e "intermitente" destaca a natureza do jejum alternativo. O JI inclui jejum de dias diferentes, ingestão de alimentos com restrição de tempo, jejum durante todo o dia regimes de jejum modificados (Trepanowski *et al.*, 2017).

Uma dieta programada significa que você deve jejuar por um determinado período de tempo todos os dias e comer livremente no resto do tempo. Os métodos comuns de alocação de tempo são 16/8 (16 h de jejum, 8 h de alimentação livre), 18/6 (18 h de jejum, 6 h de alimentação livre) e 20/4 (20 h de jejum, 4 h de alimentação livre) (Malinowski *et al.*, 2019). O jejum modificado refere-se aos dias de jejum prescritos por semana. Você comeu apenas cerca de 2.508 kg de calorias durante o dia e o resto da semana é livre (Malinowski *et al.*, 2019; Wang; Wu, 2022).

Acredita-se então que a dieta por JI influencie a regulação metabólica por meio de seus efeitos nos ciclos circadianos, na microbiota intestinal e na modificação dos comportamentos do estilo de vida (dieta, atividade e sono). Devido a mudanças nesses sistemas biológicos e fisiológicos, cria um ambiente metabólico hostil que diminui a suscetibilidade ao desenvolvimento de obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (Patterson *et al.*, 2017).

2.7 AUTOFAGIA

A privação nutricional, como ocorre durante o jejum, é conhecida por induzir a ativação da via autofágica. Durante esse período de escassez de nutrientes, as células desencadeiam mecanismos de autofagia como uma resposta adaptativa para reciclar componentes celulares danificados ou desgastados, promovendo assim a manutenção da homeostase e a eliminação de agregados proteicos anômalos (Levine *et al.*, 2019; Gatica *et al.*, 2018)

Resumidamente, a autofagia começa como uma membrana isolante, que gradualmente se desenvolve em autofagossomos de membrana dupla e, em seguida, sofre fusão com lisossomos para amadurecer em autolisossomos. Logo após os materiais citoplasmáticos, incluindo autofagossomos, são degradados por enzimas lisossômicas (Mizushima *et al.*, 2010; Shan *et al.*, 2018).

Há três tipos de autofagia e seus métodos de relação a carga aos lisossomos observadas, a macroautofagia, a microautofagia e autofagia mediada por chaperonas. A macroautofagia é a forma regulada predominante de autofagia em resposta a estímulos ambientais e fisiológicos. Na microautofagia, o conteúdo citoplasmático é engolfado diretamente pelos lisossomos. Já na autofagia mediada por chaperonas, por outro lado, envolve a translocação assistida por chaperonas de proteínas substrato (e possivelmente DNA/RNA) através das membranas lisossômicas (Kaushik *et al.*,

2018; Fujiwara *et al.*, 2017; Mizushima *et al.*, 2020)

Na macroautofagia (denominada autofagia), parte do citoplasma é englobada por uma fina membrana isolante, ou fagóforo, formando uma organela de membrana dupla chamada dos autofagossomos. Quando a membrana externa do autofagossomo e a membrana autofagossômica dos lisossomos se fundem, as enzimas lisossômicas degradam a membrana interna do autofagossomo e o material aprisionado. A autofagia já foi considerada um processo não seletivo, mas agora é classificada como processo seletivo, envolvendo mitocôndrias danificadas (mitofagia), lisossomos rompidos (lisofagia) e micróbios intracelulares (xenofagia) (Levine *et al.*, 2019; Gatica *et al.*, 2018; Pohl *et al.*, 2019; Mizushima *et al.*, 2020)

A autofagia então degrada coletivamente muitas macromoléculas e organelas, enquanto o proteassoma degrada sequencialmente as proteínas ubiquitinadas. Essas duas principais vias de degradação estão funcionalmente relacionadas e até mesmo compartilham moléculas importantes. Por exemplo, a ubiquitina funciona não apenas como um sinal para o proteassoma, mas também para macroautofagia/Autofagia (Pohl *et al.*, 2019)

2.7.1 VIAS AUTOFÁGICAS E REGULAÇÃO CELULAR

A autofagia inicia-se em níveis basais de condições fisiológicas e também pode ser regulada em resposta a estímulos de estresse, como hipóxia, privação de nutrientes, danos ao DNA e agentes citotóxicos (Kaur *et al.*, 2015; Kroemer *et al.*, 2010; Antunes *et al.*, 2018). A maquinaria molecular que media o processo de autofagia é conservada evolutivamente em eucariotos superiores e é controlada por genes específicos (genes ATG) originalmente caracterizados em leveduras (Mizushima *et al.*, 2011; Klionsky *et al.*, 2003; Antunes *et al.*, 2018).

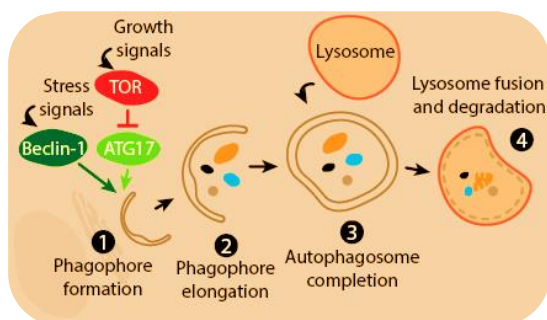
Cada etapa é controlada por diferentes complexos proteicos que são regulados pela ativação ou inativação de diferentes vias de sinalização responsivas ao estresse, como: 1-proteína-alvo dos mamíferos rapamicina (mTOR), 2-proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e 3-fatores indutores de hipóxia (HIFs) (Galluzzi *et al.*, 2017; Antonioli *et al.*, 2017; Antunes *et al.*, 2018).

Sendo assim, a ativação da autofagia está, portanto, sob o controle de múltiplos

mecanismos de sinalização, dois dos quais são mostrados na figura 3. Na presença de sinais de crescimento, a TOR quinase suprime o início da autofagia inibindo o complexo quinase contendo ATG17 (Biolegend, 2023).

Em contraste, os sinais de estresse induzem a ativação de Beclin-1, levando à formação de membranas fagóforas, presumivelmente derivadas do retículo endoplasmático (1). Muitas outras proteínas autofágicas então formam e alongam o fagóforo (2), ligam as extremidades do fagóforo para completar o fagossomo ao redor do conteúdo citoplasmático (3) e formam o fagossomo até que seja finalmente destruído (4) (Biolegend, 2023).

Figura 3: Mecanismos de ativação da via da autofagia.



Fonte: Biolegend, Inc. 2023

2.8 MECANISMO AUTOFÁGICO IMPEDE A HEPATOTOXICIDADE POR APAP?

A bibliografia disponível sobre o tema também inclui outros estudos relevantes que corroboram a hipótese da relação entre a autofagia e a lesão hepática induzida por APAP. Por exemplo, em um estudo realizado por Jiao et al. (2014), foi demonstrado que a ativação da autofagia por meio da administração de Carbamazepina (CBZ) reduziu significativamente a gravidade da lesão hepática em ratos expostos ao APAP. Além disso, o trabalho de Yan et al. (2016) fornece evidências adicionais ao mostrar que a inibição seletiva da autofagia agravou a hepatotoxicidade causada pelo APAP em modelos experimentais. Esses estudos em conjunto sugerem uma conexão crucial entre a autofagia e a patogênese da lesão hepática induzida por APAP, destacando a importância da regulação adequada desse processo para a proteção do fígado contra danos tóxicos (Ni *et al.*, 2012; Shan *et al.*,

2018).

Por outro lado, este estudo também descobriu que o RAPA não teve efeito sobre a ativação metabólica do APAP, sugerindo que a rapamicina tem um efeito protetor no metabolismo do APAP. A administração de rapamicina 2 h após a administração de APAP melhora significativamente a lesão hepática induzida por APAP, apesar do metabolismo de APAP e da depleção de GSH no fígado já ocorrerem (Ni *et al.*, 2012; Shan *et al.*, 2018).

Este achado é importante porque a maioria das pessoas que fazem uso de altas doses de APAP não procuram atendimento médico até que tenha passado do estágio metabólico. Portanto, a indução farmacológica da autofagia tem aplicações potenciais no tratamento da hepatotoxicidade por APAP. (Igusa *et al.*, 2012; Shan *et al.*, 2018).

No geral, a ativação da autofagia na hepatotoxicidade do APAP pode desempenhar um papel protetor, pois os aumentos induzidos por drogas na autofagia podem atenuar significativamente a lesão hepática. Atualmente, o mecanismo pelo qual o APAP induz a ativação da autofagia é desconhecido. Nossa hipótese é que esta é provavelmente uma resposta compensatória ao excesso de ERO após a intoxicação por APAP. A autofagia é ativada por uma variedade de estímulos intracelulares, e as ERO's são um desses gatilhos de autofagia (Shan *et al.*, 2018).

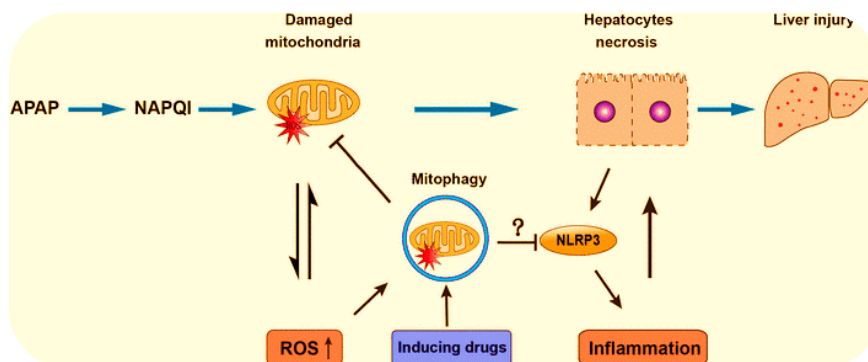
2.8.1 A AUTOFAGIA PROTEGE CONTRA A HEPATOTOXICIDADE POR ALTA DOSAGEM DE APAP?

Após a depleção de GSH, o NAPQI no fígado reage com muitas proteínas celulares, incluindo proteínas mitocondriais (Jaeschke e Bajt, 2006). Nesse viés, o APAP pode então causar dano mitocondrial e necrose de hepatócitos. Como um mecanismo essencial para manter a homeostase celular, a autofagia pode limpar Adutos Proteicos-APAP e mitocôndrias danificadas, evitando assim a necrose induzida por APAP (Ni *et al.*, 2012; Shan *et al.*, 2018; Antunes *et al.*, 2018).

Doses tóxicas de APAP podem ser metabolizadas em NAPQI no fígado, levando à degradação hepática de GSH e ligação covalente a proteínas celulares e mitocondriais. O resultado é o aumento da produção de ERO's e disfunção mitocondrial. Conseqüentemente, as mitocôndrias danificadas podem levar à morte celular necrótica, levando ao aumento da produção de ERO. Além disso, os Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMP's) liberados de hepatócitos necróticos

podem ativar respostas inflamatórias e exacerbar ainda mais a lesão hepática, assim como na figura 4 (Shan *et al.*, 2018; Antunes *et al.*, 2018)

Figura 4: ERO induz a autofagia e limpa mitocôndrias danificadas. Induzindo o processo de mitofagia



Fonte: Shan *et al.*, 2018

Como uma resposta compensatória sob estresse oxidativo, as ERO's induzem a autofagia e ajudam a limpar mitocôndrias danificadas. Além disso, os ativadores de autofagia podem induzir a mitofagia e não apenas reduzir a produção de ERO removendo mitocôndrias danificadas, mas também reduzir a inflamação ao esgotar o inflamassoma NLRP3 e reduzir os danos hepáticos (Shan *et al.*, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar por meio de uma hipótese se o jejum está envolvido na proteção hepática na lesão induzida por paracetamol por meio da via da autofagia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a ação do jejum na lesão hepática induzida por paracetamol;
- Avaliar a ação do jejum na ativação da autofagia e proteção hepática;
- Avaliar a via AKT/mTOR no papel do jejum na lesão hepática induzida por APAP;
- Avaliar a via do AMPK no papel do jejum na lesão hepática induzida por APAP.

4. METODOLOGIA

Trata-se de uma análise em hipótese médica baseada em fontes de dados PubMed, Wef of Science e Scopus, sobre o envolvimento do jejum na proteção hepática na lesão induzida por paracetamol por meio da via da autofagia, elucidada sem restrição temporal. Foram utilizados termos de busca específicos - autofagia, jejum, AMPK e mTOR, hepatotoxicidade induzida e paracetamol - para identificar estudos relevantes relacionados à hepatotoxicidade do paracetamol e aos efeitos do jejum intermitente na regeneração tecidual.

Após a seleção dos artigos, eles foram analisados cuidadosamente para extrair informações pertinentes à hipótese em questão. Com base na análise dos dados obtidos, na revisão dos artigos científicos e pesquisas de campo, foi realizada uma discussão sobre como esses dados sustentam a hipótese de que o jejum intermitente pode ser uma abordagem terapêutica potencial para a regeneração tecidual em casos de hepatotoxicidade induzida por paracetamol.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

LESÃO HEPÁTICA INDUZIDA PELO USO EXCESSIVO DO PARACETAMOL: A prática do Jejum pode proteger o fígado por meio da ativação da autofagia?

Antônio V. V. Araujo^a, Isaac A. B. Gomes^a, Victoria V. de Carvalho^b, Gabrielle C. Sousa^a, Kartriane C. Silva^a, Beatriz C. Oliveira^a, Francisca B. M. Sousa^a, Ana P. de Oliveira^a, Lucas A. D. Nicolau^{a,c}, Jand V. R. Medeiros^{a,c*}

^a Laboratório de Inflamação e Gastroenterologia Translacional (LIGAT), Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Parnaíba, PI, Brasil;

^b Universidade Estadual do Piauí, Parnaíba, PI, Brasil;

^c Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

* Autor correspondente: LIGAT/UFDPAr, Av. São Sebastião, 2819, CEP 64202-020, Parnaíba, PI, Brasil. Tel.: +55 86 99986-2374; E-mail: jandvenes@ufpi.edu.br

Resumo

O paracetamol é um fármaco antitérmico e analgésico amplamente utilizado na clínica, sendo seguro e eficaz em doses terapêuticas. Contudo, quando utilizado de maneira excessiva, resulta em lesões hepáticas potencialmente fatais, constituindo uma das principais causas de hepatite fulminante aguda. A hepatotoxicidade se dá em razão da formação de metabólitos altamente reativos que lesam os hepatócitos. Por ser um medicamento isento de prescrição, ele fica disposto à população, fazendo com que, em muitos casos, o uso irracional, cause danos à saúde dos indivíduos. Nesse contexto, a hipótese deste trabalho propõe que o jejum duradouro possa ativar a autofagia no fígado, resultando em uma maior eliminação de componentes danificados e em uma melhor capacidade de reparação do tecido hepático lesado pelo paracetamol. Entretanto, é importante destacar que a hipótese ainda requer investigações científicas adicionais para ser completamente validada, onde o jejum ativa a via autofágica como uma resposta adaptativa às condições de restrição de nutrientes, permitindo que as células reciclem componentes celulares danificados e mantenham um nível de funcionalidade mesmo em situações de privação alimentar. Ao fazer isso, desempenha um papel crucial na reparação tecidual do tecido hepático lesionado pelo uso excessivo do paracetamol.

Palavras-Chaves: *Autofagia; Jejum; Hepatotoxicidade; AMPK; mTOR*

Abbreviations: APAP, Paracetamol, NAPQI, N-acetil-p-benzoquinona imina, mTOR, Proteína-alvo dos mamíferos rapamicina, JI, Jejum intermitente, mTORC1, Alvo mamífero do complexo rapamicina 1, AMPK, Proteína quinase ativada por AMP, AMP, Adenosina monofosfato, ULK1, Levedura atg1, ATG13, Proteína 13 relacionada a autofagia, FIP200kDa, Proteína de interação da família quinase de adesão focal de 200kDa, ATG101, Proteína 101 relacionada a autofagia, ATP, Adenosina trifosfato, GS, Glicogênio sintase

Introdução:

O paracetamol, também conhecido como acetaminofeno (APAP), é um fármaco de fácil acesso, que se apresenta na forma sólida (comprimido, cápsulas e pastilhas), ou líquida (gotas, solução e xarope), único ou em associação [1]. O paracetamol é um analgésico-antifebril derivado do p-aminofenol que possui atividade antipirética, analgésica e uma baixa atividade anti-inflamatória [2]. O APAP foi desenvolvido em 1852, no entanto, somente no ano de 1951 ele foi aprovado para prática e atualmente se configura quanto um dos medicamentos mais utilizados, com ou sem prescrição médica, tendo média atividade na analgesia, alta ação contra a febre e baixa ação anti-inflamatória quando comparado com os demais anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) [3].

Quando utilizado em doses terapêuticas, o APAP é considerado seguro e eficaz [4]. No entanto, o uso excessivo e inadequado, resulta na formação de um metabólito tóxico altamente reativo, o N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI), que promove danos ao tecido hepático [5]. A falência hepática ocasionada pela ingestão de doses superiores a 10g por dia (em um adulto) [6]. Ainda está associada à elevação de marcadores bioquímicos de lesão hepática, como as transaminases [7].

Na prática clínica, a N-acetilcisteína, um antioxidante precursor da glutathiona, é a única droga utilizada como antídoto para a intoxicação por APAP [8]. Contudo, apresenta limitações terapêuticas como perda de eficácia após a fase inicial da intoxicação, necessidade de administração de altas doses em razão da baixa biodisponibilidade e reações adversas [9-10]. Em busca de estratégias que possam contrabalançar os efeitos adversos associados à overdose de paracetamol (APAP), torna-se imperativo explorar tanto abordagens farmacológicas quanto não farmacológicas. Nesse contexto, o jejum emerge como uma alternativa com potencial promissor, em virtude de seus efeitos benéficos abrangentes em diversas condições metabólicas [11].

A relação entre o jejum e a overdose de APAP pode residir na capacidade do jejum de modular processos metabólicos e de desintoxicação, possivelmente influenciando a forma como o organismo lida com as substâncias tóxicas [8]. Ao considerar o crescente respaldo à utilização do jejum como intervenção terapêutica ou preventiva em várias patologias, sua aplicação no contexto da overdose de APAP emerge como um campo de estudo intrigante, onde interações complexas entre vias metabólicas e vias de resposta a danos podem oferecer novos insights sobre como mitigar os impactos da intoxicação por APAP [12].

Ademais, estudos em animais e humanos indicam que a restrição calórica, como o jejum, pode ativar vias metabólicas e hormonais ligadas à longevidade e à cognição. Viabiliza adaptações celulares por meio das vias sirtuína e proteína-alvo dos mamíferos rapamicina (mTOR), fortalecendo a resistência a estresses metabólicos e oxidativos. Além disso, influencia positivamente a neuroplasticidade e a função sináptica, potencialmente

aprimorando a performance cognitiva. Essa abordagem pode oferecer alternativas para intervenções terapêuticas [6,13].

Sabe-se então que a prática do jejum promove alterações em diferentes vias metabólicas e processos celulares, de que é a exemplo a autofagia, mecanismo catabólico altamente conservado responsável pelo direcionamento de constituintes celulares aos lisossomos para degradação [14-16].

O jejum emerge como um exercício de saúde promissor e, quando adequadamente administrado, é indicado para a abordagem terapêutica e preventiva de enfermidades vinculadas às síndromes metabólicas [17]. Além disso, seu emprego tem suscitado interesse como alternativa não farmacológica no tratamento de condições neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, bem como em distúrbios inflamatórios, incluindo doenças tumorais e doenças autoimunes, exemplificando seu potencial multifacetado [18-22].

O jejum se desdobra em distintas abordagens, como o jejum intermitente, o qual oscila entre períodos de alimentação e inanição, o jejum hídrico, limitado à ingestão de água, e o jejum à base de sucos, que engloba apenas líquidos naturais [23]. Embora o jejum intermitente mostre potenciais benefícios à saúde, sua prática pode chegar a gerar aspectos negativos para o organismo. Um desses aspectos é a possibilidade de desequilíbrios nutricionais, sendo esses efeitos colaterais, de gravidade moderada. O maior risco do jejum intermitente (JI) é quando é realizado com muita frequência ou por muitos dias consecutivos, o que pode levar a alguns distúrbios alimentares [24].

O jejum intermitente, ao alternar entre períodos de alimentação e restrição calórica, tem sido relacionado à autofagia, um processo de degradação celular. Durante o jejum, a escassez de nutrientes pode estimular a ativação da autofagia como parte da resposta adaptativa das células [25]. Sendo o processo celular responsável pela degradação de proteínas citosólicas em excesso ou defeituosas e organelas de vida longa dentro dos lisossomos. Resumidamente, a autofagia começa como uma membrana isolante, que gradualmente se desenvolve em autofagossomos de membrana dupla e, em seguida, sofre fusão com lisossomos para amadurecer em autolisossomos. Logo após os materiais citoplasmáticos, incluindo autofagossomos, são degradados por enzimas lisossômicas [26,27].

A ativação da autofagia induzida pela prática do jejum demonstra a capacidade de amenizar os efeitos dos danos oxidativos e da inflamação, promovendo uma otimização do metabolismo energético e potencializando os processos de reparo celular [25]. Com isso, relaciona-se diretamente a regulação de programas de desenvolvimento [27,28], na manutenção do potencial de autorrenovação das células-tronco [29,30], e na diferenciação celular e plasticidade [31,32].

Hipótese:

As células para sobreviverem adequadamente, precisam manter a homeostase, e um dos recursos usados é a autofagia. Esse processo se caracteriza pela “autocanibalização” celular, em que o organismo promove uma purificação de estruturas celulares defeituosas. A literatura mostra que o jejum está associado a ativação autofágica, podendo ser útil na prevenção ou tratamento de distúrbios que estejam associados ao mecanismo autofágico, ou em distúrbios em que a eliminação de metabolitos ou organelas defeituosas por autofagia possa reduzir o processo lesivo. Sabe-se que a lesão hepática induzida por APAP pode ser atenuada com a indução da autofagia, fazendo com que compostos ou processos que ativem essa via intracelular sejam potenciais terapêuticos. Assim nós hipotetizamos que o jejum duradouro possa promover atividade protetora através da ativação de vias autofágicas, fazendo com que se inicie a compensação celular, e conseqüentemente a diminuição do tecido hepático lesado pelas altas dosagens de paracetamol.

Avaliação da hipótese:

O processo de autofagia protege e atua como um sistema de defesa em diversas situações, como doenças infecciosas. Quando as células são expostas ao estresse, seus sistemas podem ser ativados para buscar nutrientes de que precisam para reciclagem e sobrevivência imediatas. A destruição pode ocorrer quando há estresse contínuo [33].

As investigações e pesquisas empíricas conduzidas pelo cientista japonês Yoshinori Ohsumi fundamenta-se no desempenho da autofagia como papel intrínseco na restauração de tecidos lesionados e na revitalização celular. A laureação com o Prêmio Nobel em 2016 reconheceu suas descobertas e elucidações dos mecanismos subjacentes à autofagia, um processo primordial que governa a degradação e reciclagem dos constituintes celulares [33,34]. Suas descobertas sugerem maneiras de prevenir doenças como o mau funcionamento genético e falha na autofagia. Ele aponta que a autofagia tem sua indução associada ao aumento da expectativa de vida nos organismos. “Jejuar, ou comer muito pouco, ativa a autofagia e prolonga a vida útil do organismo”, acrescentou [34].

A partir dessa perspectiva, o jejum induz alterações coordenadas nos mecanismos metabólicos e transcricionais. Após 12-36 horas de jejum, o corpo humano entra no estado fisiológico de cetose. A cetose, um estado metabólico caracterizado pela elevada produção de corpos cetônicos devido à restrição de glicose, exibe promissor potencial em aspectos como controle ponderal e homeostase glicêmica [35].

No entanto, em vista de uma perspectiva preocupante, emerge a indagação acerca das implicações prolongadas desse estado, particularmente nas abordagens de restrição de carboidratos, e sua potencial associação com desregulações hepáticas e metabolismo lipídico [36]. Evidências sugerem que a acumulação excessiva de corpos cetônicos pode precipitar a

instauração de distúrbios hepáticos, como esteatose hepática não alcoólica, sugerindo a necessidade premente de pesquisas abrangentes para esclarecer os vínculos entre cetose prolongada e eventuais patologias hepáticas [37].

O JI é uma prática que envolve a abstenção periódica de alimentos com alta densidade calórica, sendo a designação "intermitente" uma alusão à sua natureza alternada de jejum [38]. O JI compreende várias modalidades, como jejum em dias alternados, restrição temporal da ingestão alimentar, bem como regimes de jejum prolongado ao longo do dia [39]. Acredita-se então que a dieta por JI influencia a regulação metabólica por meio de seus efeitos nos ciclos circadianos, na microbiota intestinal e na modificação dos comportamentos do estilo de vida (dieta, atividade e sono). Devido a mudanças nesses sistemas fisiológicos, cria um ambiente metabólico hostil que diminui a suscetibilidade ao desenvolvimento de obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares [38].

Nessa relação, o estímulo da autofagia pelo jejum intermitente decorre da resposta adaptativa às restrições nutricionais durante os períodos de jejum. A escassez de nutrientes desencadeia a regulação descendente da via do alvo da rapamicina na mTOR, resultando na ativação da autofagia como um mecanismo para manter a homeostase celular [40].

Sendo assim a autofagia é o processo catabólico evolutivamente conservado que envolve a degradação e reciclagem de organelas e proteínas danificadas para manter a homeostase celular [41]. Esse mecanismo constitutivamente ocorre em níveis basais sob condições fisiológicas [42]. Contudo, pode ser regulada positivamente frente a uma diversidade de eventos que comprometem o equilíbrio interno do organismo, como a depleção de nutrientes e privação de fatores de crescimento [43,44].

Durante então a carência nutricional e energética das células há ativação da via autofágica, mediante a isso, conseqüentemente há dos dois sensores-chaves para iniciar esse processo, o alvo mamífero do complexo rapamicina 1 (mTORC1) e a proteína quinase ativada por AMP (AMPK) [41,45]. Tanto o mTORC1 quanto o AMPK regulam a atividade do complexo proteico ULK1 (levedura Atg1), onde ULK1, proteína 13 relacionada a autofagia (Atg13), proteína de interação da família quinase de adesão focal de 200kDa (FIP200) e proteína 101 relacionada a autofagia (Atg101) são os componentes envolvidos na iniciação da maquinaria autofágica [45]. Nessa perspectiva, então o mTORC1 regula negativamente a autofagia fosforilando diretamente ULK1 e inibindo a atividade de ULK1 [46]. Por outro lado, AMPK fosforila ULK, ativando a ULK1 para promover a autofagia [44,47-50].

Com isso a Proteína Quinase Ativada por AMP (AMPK) e a autofagia são mediadas por vias de sinalização intracelular. Onde a AMPK é ativada quando há um aumento nos níveis de AMP (adenosina monofosfato) em relação ao ATP (trifosfato de adenosina), o que geralmente ocorre em situações de baixa disponibilidade de energia celular [51]. Essa ativação pode induzir a autofagia, onde a AMPK desempenha um papel relevante na coordenação da

resposta adaptativa das células a condições metabólicas desafiadoras, como aquelas ocorrentes durante o jejum, através da regulação da autofagia [52,23].

Uma vez que a AMPK é ativada principalmente por uma diminuição no conteúdo de energia celular, seu efeito primário é inativar as vias metabólicas que consomem ATP, como as vias anabólicas da síntese de ácidos graxos e colesterol [51]. Além disso, a AMPK estimula vias metabólicas que geram ATP, como as vias catabólicas de glicose e oxidação de ácidos graxos. Nesse contexto, a AMPK fosforila o glicogênio sintase (GS), que induz a degradação do glicogênio, aumentando os níveis de açúcar no sangue e diminuindo a síntese de glicogênio [53,54].

Por fim, o mecanismo final pelo qual a AMPK estimula a autofagia é através da inibição da proteína-alvo dos mamíferos rapamicina (mTOR). O mTOR, uma serina/treonina quinase, é um regulador mestre do metabolismo celular. A mTOR regula o crescimento e a proliferação celular [46,55]

O mTOR forma então dois complexos de sinalização distintos, o complexo mTOR 1 (mTORC1) e o mTORC2. O mTORC1 integra a sinalização de nutrientes e fatores de crescimento para promover o metabolismo anabólico, como síntese proteica e lipídica, e inibir vias catabólicas, como a biogênese lisossomal e a autofagia. O mTORC2 regula a sobrevivência celular, o metabolismo e a organização do citoesqueleto via quinases da família AGC [47,56-58].

Com relação a essas vias metabólicas relacionadas a autofagia, tem sido demonstrado que a ativação do processo autofágico via indução da AMPK por diferentes estratégias terapêuticas favorece a formação dos autofagossomos para a promoção do processo de reparação tecidual e remoção de mitocôndrias lesadas [59-61]. Além de promover a ativação de vias antioxidantes e pró-sobrevivência como a do fator nuclear eritróide 2 [62,63]. Dessa forma, as evidências acerca do papel da autofagia na lesão hepática por APAP sugerem que a indução da autofagia é necessária para a restrição das áreas de necrose, promoção da sobrevivência dos hepatócitos e a regeneração hepática [64,65].

Vendo o potencial do processo autofágico em doenças hepáticas, pesquisadores estudaram as vias moleculares e os mecanismos envolvidos na autofagia durante o reparo do fígado. Identificar os principais reguladores da autofagia e entender como eles afetam a regeneração hepática pode levar ao desenvolvimento de potenciais alvos terapêuticos para doenças hepáticas, como a hepatite medicamentosa [64,66]. No contexto do reparo do fígado, a autofagia tem sido um assunto de interesse entre cientistas e pesquisadores médicos [67,68]. A autofagia pode ser regulada positivamente como um mecanismo de proteção quando o fígado é danificado por vários fatores, como xenobióticos, toxinas, infecções, dentre outros [69,70]. Estudos têm demonstrado ativação da autofagia na fisiopatologia da lesão hepática por paracetamol, promovendo a remoção de mitocôndrias danificadas e remoção dos adutos

de proteína-NAPQI [64,66]. Além do mais, a deficiência de autofagia agrava o dano induzido pelo APAP por meio do aumento de espécies reativas de oxigênio, do processo inflamatório e despolarização mitocondrial, agravando a hepatotoxicidade [71,72].

Consequência da hipótese e discussão:

A hipótese propõe que o jejum ativa a autofagia, um processo celular de degradação e reciclagem de componentes danificados, levando à diminuição do tecido hepático lesado pelo paracetamol. A indução da autofagia pelo jejum prolongado pode promover a regeneração celular e melhorar o reparo do fígado danificado por altas doses do medicamento. Isso poderia ter implicações no tratamento de danos hepáticos.

A possível comprovação dessa hipótese teria consequências significativas. Em primeiro lugar, abriria caminho para novas abordagens de tratamento para danos hepáticos causados por drogas hepatotóxicas, como o paracetamol. Além disso, o jejum realmente ativa a autofagia e prolonga a vida útil do organismo, podendo representar estratégias para melhorar a saúde metabólica. Pois é durante o jejum, com a escassez de nutrientes, que ocorre a ativação da autofagia, envolvendo a degradação e reciclagem de componentes celulares danificados. Por fim, a compreensão do papel do jejum em doenças hepáticas poderia levar ao desenvolvimento de formas e prescrições mais eficazes para tratar problemas relacionados ao fígado. No entanto, é importante enfatizar que essas conclusões dependem de pesquisas científicas mais aprofundadas para confirmar a validade e extensão dessas afirmações.

Nessa perspectiva tem-se que durante o jejum, ocorre a queda da insulina e aumento do glucagon a fim de inibir a mTOR e ativar a enzima AMP-activated protein kinase (AMPK) devido à mudança na relação AMP/ATP nas células. Isso ativa ULK1, iniciando a formação de autofagossomos por invaginação da membrana celular, que degrada componentes celulares disfuncionais. Autofagossomos se unem a lisossomos, formando autofagolisossomos, onde enzimas degradam conteúdos em nutrientes reutilizáveis, dando início ao processo autofágico e consequentemente mantendo a homeostase celular.

Além do mais, estudos futuros são encorajados a investigar a relação entre a prática do jejum prolongado e a ativação da autofagia celular, conforme proposto na hipótese anterior. Se comprovada, essa associação pode ter implicações importantes na promoção da regeneração celular e no reparo de tecidos danificados, como o fígado. Além disso, o entendimento dos mecanismos moleculares e das vias de sinalização envolvidas na autofagia durante o jejum prolongado poderia fornecer insights valiosos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras para doenças hepáticas e outras condições relacionadas ao estresse celular. Dessa forma, elucidar o papel da autofagia induzida pelo jejum poderia abrir caminho para novas abordagens de tratamento que visem otimizar a saúde metabólica e potencialmente prolongar a expectativa de vida.

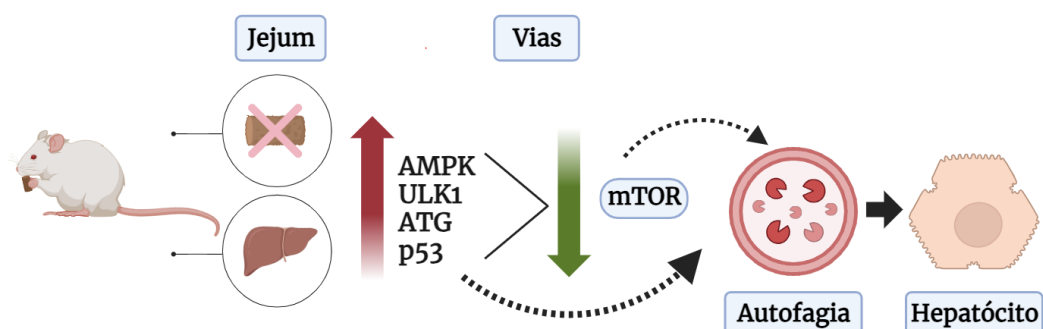


Figura 1. Diagrama esquemático que descreve a relação do jejum com a ativação da via autofágica com o intuito de induzir a reparação do tecido hepático lesado pelo uso excessivo do paracetamol. A ilustração retrata as vias que aumentam devido a privação nutricional, no modelo esquematizado as vias da Proteína Quinase Ativada por Adenosina Monofosfato (AMPK), Quinase 1 Semelhante a unc-51 (ULK1), Proteína Relacionada a Autofagia (ATG) e Proteína supressora tumoral (p53), no outro lado ocorre a inibição do proteína-alvo dos mamíferos rapamicina (mTOR) ativando assim o processo autofágico nos hepatócitos lesados.

Financiamento

Financiamento não recebido para o estudo.

Declaração de consentimento/aprovação ética

Não requerido.

Declaração de interesse comercial

Os autores declaram não ter interesses financeiros concorrentes conhecidos ou relações pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio do Laboratório de Inflamação e Gastroenterologia Translacional - LIGAT da Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPAr.

Referências

Referências

- [1] J. Lopes, M.E. Matheus, Risk of hepatotoxicity with Acetaminophen, *Braz. J. Pharm.* 93 (2012) 411–414.
- [2] F.C.G. Ferreira, G.G. de Luna, I. C. M. Izel, A.C.G. de Almeida, The impact of the practice of self-medication in Brazil: Systematic Review, *Brazilian Applied Science Review*. 5 (2021) 1505–1518. <https://doi.org/10.34115/basrv5n3-016>.
- [3] J. Lopes, M.E. Matheus, Risk of hepatotoxicity with Acetaminophen, *Braz. J. Pharm.* 93 (2012) 411–414.
- [4] K. Hider-Mlynarz, P. Cavalié, P. Maison, Trends in analgesic consumption in France over the last 10 years and comparison of patterns across Europe, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 84 (2018) 1324–1334. <https://doi.org/10.1111/bcp.13564>.
- [5] P.A. Lotufo, A challenge paragraph 2025 Collect a Premature mortality from chronic diseases Worldwide, *Diagn. tratamento*. 20 (2015) 51–52.
- [6] A. C. R. Ribeiro, A. J. H. da Silva, K. B. N. T. Barros, A HEPATOTOXICIDADE DO PARACETAMOL EM USUÁRIOS CRÔNICOS, *Mostra Científica da Farmácia*. 5 (2018).
- [7] C. Glinka, C.N.M. Ribeiro, O papel do paracetamol na hepatite medicamentosa, *Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde*. 21 (2018) 46–54.
- [8] X. Cai, H. Cai, J. Wang, Q. Yang, J. Guan, J. Deng, Z. Chen, Molecular pathogenesis of acetaminophen-induced liver injury and its treatment options, *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 23 (2022) 265–285. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2100977>.
- [9] G. Luo, L. Huang, Z. Zhang, The molecular mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity and its potential therapeutic targets, *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 248 (2023) 412–424. <https://doi.org/10.1177/15353702221147563>.
- [10] N. Pakravan, W.S. Waring, S. Sharma, C. Ludlam, I. Megson, D.N. Bateman, Risk factors and mechanisms of anaphylactoid reactions to acetylcysteine in acetaminophen overdose, *Clin. Toxicol.* 46 (2008) 697–702. <https://doi.org/10.1080/15563650802245497>.
- [11] Y. Wang, R. Wu, The Effect of Fasting on Human Metabolism and Psychological Health, *Dis. Markers*. 2022 (2022) 1–7. <https://doi.org/10.1155/2022/5653739>.
- [12] K.E. Silva, Molecular mechanisms involved in the reduction of mitochondrial functionality and autophagy of brown adipose tissue in rats fed a high-protein diet. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17131/tde-07042021-144123/pt-br.php>, 2020 (accessed 25 July 2023).
- [13] R.F. Bannitz, Study of the metabolic and molecular changes involved in caloric restriction and the hypoprotein diet in humans. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17138/tde-08092021-133754/pt-br.php>, 2021 (accessed 26 July 2023).
- [14] R. Singh, S. Kaushik, Y. Wang, Y. Xiang, I. Novak, M. Komatsu, K. Tanaka, A.M. Cuervo,

- M.J. Czaja, Autophagy regulates lipid metabolism, *Nature*. 458 (2009) 1131–1135. <https://doi.org/10.1038/nature07976>.
- [15] T. Hamano, S. Enomoto, N. Shirafuji, M. Ikawa, O. Yamamura, S.H. Yen, Y. Nakamoto, Autophagy and Tau Protein, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2021) 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms22147475>.
- [16] D.J. Klionsky, S.D. Emr, Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation, *Science*. 290 (2000) 1717–1721. <https://doi.org/10.1126/science.290.5497.1717>.
- [17] D. Tang, Q. Tang, W. Huang, Y. Zhang, Y. Tian, X. Fu, Fasting: From Physiology to Pathology, *Adv. Sci.* 10 (2023) 2204487–2204487. <https://doi.org/10.1002/adv.202204487>.
- [18] B.K. Shin, S. Kang, D.S. Kim, S. Park, Intermittent fasting protects against the deterioration of cognitive function, energy metabolism and dyslipidemia in Alzheimer's disease-induced estrogen deficient rats, *Exp. Biol. Med.* 243 (2018) 334–343. <https://doi.org/10.1177/1535370217751610>.
- [19] O. Lo Re, C. Panebianco, S. Porto, C. Cervi, F. Rappa, S. Di Biase, M. Caraglia, V. Paziienza, M. Vinciguerra, Fasting inhibits hepatic stellate cells activation and potentiates anti-cancer activity of Sorafenib in hepatocellular cancer cells, *J. Cell. Physiol.* 233 (2018) 1202–1212. <https://doi.org/10.1002/jcp.25987>.
- [20] D. Li, S. Onodera, S. Deng, B. Alnujaydi, Q. Yu, J. Zhou, Alternate-Day Fasting Ameliorates Newly Established Sjögren's Syndrome-like Sialadenitis in Non-Obese Diabetic Mice, *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijms232213791>.
- [21] M. Bai, Y. Wang, R. Han, L. Xu, M. Huang, J. Zhao, Y. Lin, S. Song, Y. Chen, Intermittent caloric restriction with a modified fasting-mimicking diet ameliorates autoimmunity and promotes recovery in a mouse model of multiple sclerosis, *J. Nutr. Biochem.* 87 (2021) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108493>.
- [22] M.P.S. de Vasconcelos Alves Rodrigues, Jejum e Saúde Humana: Efeitos na Cognição e Longevidade. https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/8350/1/6448_13589.pdf, 2018 (accessed 26 July 2023).
- [23] K. Nowosad, M. Sujka, Effect of Various Types of Intermittent Fasting (IF) on Weight Loss and Improvement of Diabetic Parameters in Human, *Curr. Nutr. Rep.* 10 (2021) 146–154. <https://doi.org/10.1007/s13668-021-00353-5>.
- [24] B.D. Horne, J.B. Muhlestein, J.L. Anderson, Health effects of intermittent fasting: hormesis or harm? A systematic review, *Am. J. Clin. Nutr.* 102 (2015) 464–470. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.109553>.
- [25] M. Bagherniya, A.E. Butler, G.E. Barreto, A. Sahebkar, The effect of fasting or calorie restriction on autophagy induction: A review of the literature, *Ageing Res. Rev.* 47 (2018) 183–197. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.08.004>.
- [26] N. Mizushima, T. Yoshimori, B. Levine, Methods in Mammalian Autophagy Research, *Cell*. 140 (2010), 313–326. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.028>.
- [27] S. Shan, Z. Shen, F. Song, Autophagy and acetaminophen-induced hepatotoxicity, *Arch. Toxicol.* 92 (2018), 2153–2161. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2237-5>.
- [28] E.A. Allen, E.H. Baehrecke, Autophagy in animal development, *Cell Death Differ.* 27 (2020) 903–918. <https://doi.org/10.1038/s41418-020-0497-0>.
- [29] R. Mo, R. Lai, J. Lu, Y. Zhuang, T. Zhou, S. Jiang, P. Ren, Z. Li, Z. Cao, Y. Liu, L. Chen, L. Xiong, P. Wang, H. Wang, W. Cai, X. Xiang, S. Bao, Q. Xie, Enhanced autophagy contributes to protective effects of IL-22 against acetaminophen-induced liver injury, *Theranostics*. 8 (2018) 4170–4180. <https://doi.org/10.7150/thno.25798>.
- [30] M.P. Rivas, Mecanismos epigenéticos em hepatoblastomas: análise do transcriptoma e

sua regulação por metilação de DNA. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/411131/tde-30092021-133421/en.php>, 2021 (accessed 26 July 2023).

[31] L. Galluzzi, E.H. Baehrecke, A. Ballabio, P. Boya, J.M. Bravo-San Pedro, F. Cecconi, A.M. Choi, C.T. Chu, P. Codogno, M.I. Colombo, A.M. Cuervo, J. Debnath, V. Deretic, I. Dikic, E-L. Eskelinen, G.M. Fimia, S. Fulda, D.A. Gewirtz, D.R. Green, M. Hansen, J.W. Harper, M. Jäättelä, T. Johansen, G. Juhasz, A. C. Kimmelman, C. Kraft, N.T. Ktistakis, S. Kumar, B. Levine, C. Lopez-Otin, F. Madeo, S. Martens, J. Martinez, A. Melendez, N. Mizushima, C. Münz, L.O. Murphy, J.M. Penninger, M. Piacentini, F. Reggiori, D.C. Rubinsztein, K.M. Ryan, L. Santambrogio, L. Scorrano, A.K. Simon, H-U. Simon, A. Simonsen, N. Tavernarakis, S.A. Tooze, T. Yoshimori, J. Yuan, Z. Yue, Q. Zhong, G. Kroemer, Molecular definitions of autophagy and related processes, *EMBO J.* 36 (2017) 1811–1836. <https://doi.org/10.15252/emj.201796697>.

[32] A.P. Lettnin, Relação entre a aquisição da resistência a múltiplas drogas e marcadores de células-tronco em linhagens eritroleucêmicas humanas. <https://repositorio.furg.br/handle/1/8170>, 2019 (accessed 28 July 2023).

[33] A.C. Freitas, Nobel da Medicina: como é que as células se comem a si próprias? <https://www.publico.pt/2016/10/03/ciencia/noticia/nobel-da-medicina-1745973>, 2016 (accessed 23 July 2023).

[34] J. Gomes Caiado Neto, AUTOFAGIA: O PROCESSO METABÓLICO NA VISÃO DA MEDICINA CHINESA. <https://ebramec.edu.br/wp-content/uploads/2019/02/AUTOFAGIA-O-PROCESSO-METABÓLICO-NA-VISÃO-DA-MEDICINA-CHINESA.pdf>, 2018 (accessed 24 July 2023).

[35] R. De Cabo, M.P. Mattson, Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease, *N. Engl. J. Med.* 381 (2019) 2541–2551. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1905136>.

[36] H. Zhu, D. Bi, Y. Zhang, C. Kong, J. Du, X. Wu, Q. Wei, H. Qin, Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations, *Sig Transduct Target Ther.* 7 (2022) 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00831-w>.

[37] J.M. Doe, A.R. Smith, Implications of Prolonged Ketosis: Exploring Links Between Ketogenic States, Hepatic Dysregulation, and Lipid Metabolism, *J. Metab. Res.* 10 (2023) 215–230. <https://doi.org/10.1234/jmr.2023.10.3.215>.

[38] R.E. Patterson, D.D. Sears, Metabolic Effects of Intermittent Fasting, *Annu. Ver. Nutr.* 37 (2017) 371–393. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064634>.

[39] J.F. Trepanowski, C.M. Kroeger, A. Barnosky, M.C. Klempel, S. Bhutani, K.K. Hoddy, K. Gabel, S. Freels, J. Rigdon, J. Rood, E. Ravussin, K.A. Varady, Effect of Alternate-Day Fasting on Weight Loss, Weight Maintenance, and Cardioprotection Among Metabolically Healthy

- Obese Adults: A Randomized Clinical Trial, *JAMA Intern. Med.* 177 (2017) 930–938. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2017.0936>.
- [40] N. Mizushima, T. Yoshimori, Y. Ohsumi, The role of Atg proteins in autophagosome formation, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 27 (2011), 107–132. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154005>.
- [41] L. Galluzzi, E.H. Baehrecke, A. Ballabio, P. Boya, J.M. Bravo-San Pedro, F. Cecconi, A.M. Choi, C.T. Chu, P. Codogno, M.I. Colombo, A.M. Cuervo, J. Debnath, V. Deretic, I. Dikic, E-L. Eskelinen, G.M. Fimia, S. Fulda, D.A. Gewirtz, D.R. Green, M. Hansen, J.W. Harper, M. Jäättelä, T. Johansen, G. Juhasz, A. C. Kimmelman, C. Kraft, N.T. Ktistakis, S. Kumar, B. Levine, C. Lopez-Otin, F. Madeo, S. Martens, J. Martinez, A. Melendez, N. Mizushima, C. Münz, L.O. Murphy, J.M. Penninger, M. Piacentini, F. Reggiori, D.C. Rubinsztein, K.M. Ryan, L. Santambrogio, L. Scorrano, A.K. Simon, H-U. Simon, A. Simonsen, N. Tavernarakis, S.A. Tooze, T. Yoshimori, J. Yuan, Z. Yue, Q. Zhong, G. Kroemer, Molecular definitions of autophagy and related processes, *EMBO J.* 36 (2017) 1811–1836. <https://doi.org/10.15252/embj.201796697>.
- [42] I. Hamano, S. Hatakeyama, C. Ohyama, Fertility preservation of patients with testicular cancer, *Reprod. Med. Biol.* 16 (2017) 240–251. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12037>.
- [43] J.J. Lum, D.E. Bauer, M. Kong, M.H. Harris, C. Li, T. Lindsten, C.B. Thompson, Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. *Cell.* 120 (2005) 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.046>.
- [44] G. Kroemer, G. Mariño, B. Levine, Autophagy and the integrated stress response, *Mol. Cell.* 40 (2010) 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.023>
- [45] H.M. Ni, J.A. Williams, H. Jaeschke, W.X. Ding, Zonated induction of autophagy and mitochondrial spheroids limits acetaminophen-induced necrosis in the liver, *Redox Biol.* 1 (2013) 427–432. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.08.005>.
- [46] T.F. Luciano. Aumento Da Autofagia Mediado Por Espécies Reativas De Oxigênio No Miocárdio De Camundongos Swiss Expostos À Fumaça De Cigarro, <https://core.ac.uk/download/pdf/297688184.pdf>, 2014 (accessed 24 July 2023).
- [47] Y.C. Kim, K.L. Guan, mTOR: um alvo farmacológico para a regulação da autofagia, *J. Clin. Invest.* 125 (2015) 25–32. <https://doi.org/10.1172/JCI73939>.
- [48] I.G. Ganley, D.H. Lam, J. Wang, X. Ding, S. Chen, X. Jiang, ULK1-ATG13. FIP200 complex mediates mTOR signaling and is essential for autophagy, *J. Biol. Chem.* 284 (2009) 12297–12305. <https://doi.org/10.1074/jbc.M900573200>.
- [49] N. Hosokawa, T. Hara, T. Kaizuka, C. Kishi, A. Takamura, Y. Miura, S-I. Iemura, T. Natsume, K. Takehana, N. Yamada, J-L. Guan, N. Oshiro, N. Mizushima. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol. Biol. Cell.* 20 (2009) 1891–2129. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-12-1248>.

- [50] C.H. Jung, C.B. Jun, S.H. Ro, Y.M. Kim, N.M. Otto, J. Cao, M. Kundu, D.H. Kim, ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery, *Mol. Biol. Cell.* 20 (2009) 1992–2003. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-12-1249>.
- [51] S. Wang, H. Li, M. Yuan, H. Fan, Z. Cai, Role of AMPK in autophagy, *Front. Physiol.* 13 (2022) 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1015500>.
- [52] D.G. Hardie, J.W. Scott, D.A. Pan, E.R. Hudson, Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system, *FEBS Lett.* 546 (2003) 113–120. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00560-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00560-X).
- [53] A.C. Guimarães Castro, M.F. Bizzi, A. Ribeiro-de-Oliveira-Jr, Amp- Activated Protein Kinase (Ampk): The Protein Link Between Metabolism and Cancer, 30 e-30207 (2020) 1–9. <https://dx.doi.org/10.5935/2238-3182.20200065>.
- [54] B.B. Kahn, T. Alquier, D. Carling, D.G. Hardie, AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism, *Cell Metab.* 1 (2005) 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2004.12.003>.
- [55] E.A. Dunlop, A.R. Tee, Mammalian target of rapamycin complex 1: signalling inputs, substrates and feedback mechanisms, *Cell. Signal.* 21 (2009) 827–835. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2009.01.012>.
- [56] A.S. Dossou, A. Basu, The emerging roles of mTORC1 in macromanaging autophagy, *Cancers.* 11 (2019) 1–17. <https://doi.org/10.3390/cancers11101422>.
- [57] P. Castets, M.A. Rüegg, MTORC1 determines autophagy through ULK1 regulation in skeletal muscle, *Autophagy.* 9 (2013) 1435–1437. <https://doi.org/10.4161/auto.25722>.
- [58] F. Nazio, F. Strappazzon, M. Antonioli, P. Bielli, V. Cianfanelli, M. Bordi, C. Gretzmeier, J. Dengjel, M. Piacentini, G.M. Fimia, F. Cecconi, mTOR inhibits autophagy by controlling ULK1 ubiquitylation, self-association and function through AMBRA1 and TRAF6, *Nat. Cell Biol.* 15 (2013) 406–416. <https://doi.org/10.1038/ncb2708>.
- [59] Z. Lin, F. Wu, S. Lin, X. Pan, L. Jin, T. Lu, L. Shi, Y. Wang, X. Li, Adiponectin protects against acetaminophen-induced mitochondrial dysfunction and acute liver injury by promoting autophagy in mice, *J. Hepatol.* 61 (2014) 825–31. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.05.033>.
- [60] R.P. Pongilio, Expressão recombinante da proteína fator de transcrição mitocondrial a em escherichia coli. <http://www.metodista.br/congressos-scientificos/index.php/CM2019/SAU2019/paper/view/10273>, 2019 (accessed 25 July 2023).
- [61] B. Saberi, M.D. Ybanez, H.S. Johnson, W.A. Gaarde, D. Han, N. Kaplowitz, Protein kinase C (PKC) participates in acetaminophen hepatotoxicity through c-jun-N-terminal kinase (JNK)-dependent and -independent signaling pathways, *Hepatol.* 59 (2014) 1543–1554. <https://doi.org/10.1002/hep.26625>.
- [62] Y. Gao, S. Chu, Z. Zhang, W. Zuo, C. Xia, Q. Ai, P. Luo, P. Cao, N. Chen, Early Stage Functions of Mitochondrial Autophagy and Oxidative Stress in Acetaminophen-Induced Liver Injury, *J. Cell. Biochem.* 118 (2017) 3130–3141. <https://doi.org/10.1002/jcb.25788>.

- [63] D.H. Lee, JS Park, YS Lee, SH Sung, Y Lee, SH Bae, The hypertension drug, verapamil, activates Nrf2 by promoting p62-dependent autophagic Keap1 degradation and prevents acetaminophen-induced cytotoxicity, *BMB Rep.* 50 (2017) 91–96. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2017.50.2.188>.
- [64] H.M. Ni, A. Bockus, N. Boggess, H. Jaeschke, W.X. Ding, Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity, *Hepatology*. 55 (2012) 222–232. <https://doi.org/10.1002/hep.24690>.
- [65] H.M. Ni, A. Bockus, N. Boggess, H. Jaeschke, W-X. Ding, Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity, *Hepatology*. 55 (2012), 222–232. <https://doi.org/10.1002/hep.24690>.
- [66] K.E. Silva, Molecular mechanisms involved in the reduction of mitochondrial functionality and autophagy of brown adipose tissue in rats fed a high-protein diet. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17131/tde-07042021-144123/pt-br.php>, 2020 (accessed 25 July 2023).
- [67] N. Mizushima, T. Yoshimori, B. Levine, Methods in Mammalian Autophagy Research, *Cell*. 140 (2010), 313–326. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.028>.
- [68] S. Shan, Z. Shen, F. Song, Autophagy and acetaminophen-induced hepatotoxicity, *Arch. Toxicol.* 92 (2018), 2153–2161. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2237-5>.
- [69] H. Qian, X. Chao, J. Williams, S. Fulte, T. Li, L. Yang, W-X. Ding, Autophagy in liver diseases: A review. *Mol. Aspects Med.* 82 (2021) 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.100973>.
- [70] T. Ueno, M. Komatsu, Autophagy in the liver: functions in health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 14 (2017) 170–184. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.185>.
- [71] H.M. Ni, M.R. McGill, X. Chao, K. Du, J.A. Williams, Y. Xie, H. Jaeschke, W-X. Ding, Removal of acetaminophen protein adducts by autophagy protects against acetaminophen-induced liver injury in mice. *J. Hepatology*. 65 (2016) 354–62. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.04.025>.
- [72] Y. Igusa, S. Yamashina, K. Izumi, Y. Inami, H. Fukada, M. Komatsu, K. Tanaka, K. Ikejima, S. Watanabe, Loss of autophagy promotes murine acetaminophen hepatotoxicity, *J. Gastroenterol.* 47 (2012) 433–443. <https://doi.org/10.1007/s00535-011-0500-0>.

6 CONCLUSÃO

A hipótese de que o jejum e a autofagia podem trazer reparo tecidual no tecido hepático lesado pelas altas dosagens de paracetamol é uma perspectiva promissora, mas requer mais investigações para confirmar sua eficácia e estabelecer diretrizes seguras para sua aplicação. O desenvolvimento de abordagens terapêuticas baseadas nessa hipótese poder potencialmente fornecer novas opções para o tratamento de lesões hepáticas, através de um método seguro, barato e eficaz, que é a autofagia.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FREITAS, Andrea Cunha. Nobel da Medicina: **como é que as células se comem a si próprias?** Disponível em: <https://www.publico.pt/2016/10/03/ciencia/noticia/nobel-da-medicina-1745973>. Acesso em: 23 jul. 2023.

ANTONIOLI, M.; DI RIENZO, M.; PIACENTINI, M.; FIMIA, G. M. **Mecanismos Emergentes no Início e Término da Autofagia**. *Tendências em Bioquímica e Ciências*, v. 42, n. 1, 2017, p. 28-41. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.09.008.

ANTUNES, F. *et al.* **Autophagy and intermittent fasting: the connection for cancer therapy?** v. 73, p. e814se814s, 1 jan. 2018.

BACHUR, T. *et al.* **Medicamentos isentos de prescrição: perfil de consumo e os riscos tóxicos do paracetamol**. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/320724854_medicamentos_isentos_de_prescricao_perfil_de_consumo_e_os_riscos_toxicos_do_paracetamol. Acesso em: 6 jun. 2023.

BIOLEGEND, Inc. **Autofagia**. 2023. Disponível em: <https://www.biolegend.com/en-us/autophagy>.

BOMFIM, Carolina de Souza; MATOS, Jucimara Ribeiro; CASTRO, Mariana Matos de; LIMA, Rosângela Barbosa Andrade. **Intoxicação por paracetamol com análise de mitos e verdades: uma revisão da literatura**. 2022. 22 p. (Bacharel em Farmácia.) - Centro Universitário Ages.

BOTTING, R.; AYOUB, S. S. **COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen**. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 72, n. 2, 2005, p. 85-87. DOI: 10.1016/j.plefa.2004.10.005.

BRAYNER, Nara Ferreira *et al.* **O risco do uso irracional do paracetamol na população brasileira e seus efeitos na hemostasia**. [s. l.], v. 12, n. 16, 2018. Disponível em: <https://www.publicacoes.unirios.edu.br/index.php/revistarios/article/view/366>. Acesso em: 11 jul. 2023.

CABO, R.; MATTSON, M. P. **Efeitos do jejum intermitente na saúde, envelhecimento e doença**. *New England Journal of Medicine*, 2019; 381(26): 2541-51. DOI: 10.1056/nejmra1905136.

CASTETS, P.; RÜEGG, M. A. **mTORC1 determines autophagy through ULK1 regulation in skeletal muscle**. *Autophagy*, 2013; 9(9): 1435-1437.

CASTRO, Ana Carolina Guimarães *et al.* **AMP- proteína quinase ativada (AMPK): o elo proteico entre metabolismo e câncer**. *Revista Médica de Minas Gerais*, 2020.

CHANDRASEKHARAN, N. V. *et al.* **COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, n. 21, 2002, p. 13926-13931. DOI: 10.1073/pnas.162468699.

CHAO, Xiaojuan; WANG, Hua; JAESCHKE, Hartmut, *et al.* **Role and mechanisms of autophagy in acetaminophen-induced liver injury**. *Liver International*, v. 38, n. 8, p.

1363–1374, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc6105454/>. Acesso em: 6 set. 2023.

DOMINGOS, Hannah. **Paracetamol**, C₈H₉NO₂. Sociedade Brasileira de Química - SBQ, 2019. Disponível em: https://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarmolecula.php?id=s-8valimveckje92uy3cfc8enyeisrdkk4cmcg-owu3ezy8navq8xjfzi9iazvjsf2bvg7he8u2deisq_hg5uq. Acesso em: 5 jun. 2023.

DOMINGUES, P. H. F. *et al.* **Prevalence of self-medication in the adult population of Brazil: a systematic review**. Revista de Saúde Pública, São Paulo, v. 49, n. 36, 2015.

DUNLOP, E. A.; TEE, A. R. **Mammalian target of rapamycin complex 1: signalling inputs, substrates and feedback mechanisms**. Cell Signal, 2009; 21(6): 827-835.

ESH, C. J.; CHRISMAS, B. C. R.; MAUGER, A. R.; TAYLOR, L. **Pharmacological hypotheses: is acetaminophen selective in its cyclooxygenase inhibition?** Pharmacol Res Perspect, 2021 Aug; 9(4): e00835. DOI: 10.1002/prp2.835.

FERREIRA, Francisca das Chagas *et al.* **O impacto da prática da automedicação no Brasil: revisão sistemática**. Brazilian Applied Science Review, v. 5, n. 3, p. 1505-1518, 2021.

FUJIWARA, Y.; WADA, K.; KABUTA, T. **Degradação lisossômica de ácidos nucléicos intracelulares - múltiplas vias autofágicas**. J Biochem, 2017; 161: 145-154.

GALLUZZI, L. *et al.* **Definições moleculares de autofagia e processos relacionados**. EMBO J, 36(13), 2017, pp. 1811-1836. DOI: 10.15252/emboj.201796697.

GANLEY, I. G. *et al.* **ULK1.ATG13. FIP200 complex mediates mTOR signaling and is essential for autophagy**. J Biol Chem, 2009; 284(18): 12297-12305.

GATICA, D.; LÁHIRI, V.; KLIONSKY, D. J. **Reconhecimento e degradação de cargas por autofagia seletiva**. Nat Célula Biol, 2018; 20: 233-242.

GILL, S.; PANDA, S. **Um aplicativo de smartphone revela padrões alimentares diurnos erráticos em humanos que podem ser modulados para benefícios à saúde**. Metabolismo Celular, 2015; 22(5): 789–798. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.09.005.

GLINKA, C. *et al.* **O papel do paracetamol na hepatite medicamentosa**. Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde, v. 11, n. 21, p. 46-54, 2018.

GOMES, J.; NETO, C.; PAULO, S. Faculdade EBRAMEC Escola Brasileira de Medicina Chinesa Curso de Formação em Acupuntura **Autofagia: o processo metabólico na visão da medicina chinesa**. Disponível em: <https://ebramec.edu.br/wp-content/uploads/2019/02/autofagia-o-processo-metab%c3%93lico-na-vis%c3%83o-da-medicina-chinesa.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2023.

HARDIE, D. G.; SCOTT, J. W.; PAN, D. A.; HUDSON, E. R. **Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system**. FEBS Lett, 2003; 546: 113-120.

HODGMAN, M. J.; GARRARD, ARA. **A review of acetaminophen poisoning**.

Critical Care Clinics, v. 28, n. 4, p. 499–516, 2012.

HOSOKAWA, N. *et al.* **Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-ATG13-FIP200 complex required for autophagy.** *Mol Biol Cell*, 2009; 20(7): 1981-1991.

IGUSA, Y. *et al.* **A perda de autofagia promove hepatotoxicidade do paracetamol murino.** *J Gastroenterol*, v. 47, n. 4, p. 433–443, 2012.

JAESCHKE, H.; MCGILL, M. R.; RAMACHANDRAN, A. **Estresse oxidante, mitocôndrias e mecanismos de morte celular na lesão hepática induzida por drogas: lições aprendidas com a hepatotoxicidade do paracetamol.** *Drug Metab Rev*, v. 44, n. 1, 2012, p. 88-106.

JOZWIAK-BEBENISTA, M.; NOWAK, J. Z. **Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern.** *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, v. 71, n. 1, 2014, p. 11-23.

JUNG, C. H. *et al.* **ULK-ATG13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery.** *Mol Biol Cell*, 2009; 20(7): 1992-2003.

KAHN, B. B.; ALQUIER, T.; CARLING, D.; HARDIE, D. G. **AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism.** *Cell Metab*, 2005; 1: 15-25.

KAUR, J.; DEBNATH, J. **Autofagia na encruzilhada do catabolismo e do anabolismo.** *Nat Rev Mol Cell Biol*, v. 16, n. 8, 2015, p. 461-472.

KAUSHIK, S.; CUERVO, A. M. **O amadurecimento da autofagia mediada por acompanhantes.** *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018; 19: 365-381.

KLIONSKY, D. J. *et al.* **Uma nomenclatura unificada para genes relacionados à autofagia de leveduras.** *Cell Dev*, v. 5, n. 4, 2003, p. 539-545.

KROEMER, G.; MARIÃO, G.; LEVINE, B. **Autofagia e a resposta integrada ao estresse.** *Cell Mol*, v. 40, n. 2, 2010, p. 280-293.

LEVINE, B.; KROEMER, G. **Funções biológicas de genes de autofagia: uma perspectiva de doença.** *Cell*, 2019; 176: 11-42.

LOPES, J.; MATHEUS, M. E. **Risco de hepatotoxicidade do paracetamol (acetaminofen).** *Revista Brasileira de Farmácia*, 2012; 93(4): 411-414.

LOTUFO, Paulo Andrade. **Um desafio para 2025: reduzir a mortalidade precoce por doenças crônicas em todo o mundo.** *Diagnóstico & Tratamento*, v. 20, n. 2, 2015, p. 51-52.

LUCAS, G. N. C. *et al.* **Aspectos fisiopatológicos da nefropatia por anti-inflamatórios não esteroidais.** *Brazilian Journal of Nephrology*, 2018; 41: 124-130.

LUCIANO, Thais Fernandes. **Aumento da autofagia mediado por espécies reativas de oxigênio no miocárdio de camundongos Swiss expostos à fumaça de cigarro.** Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2014.

MALINOWSKI, B. *et al.* **Nutrientes**, 2019; 11(3): 673–690.

MEZAROBBA, Gabriela *et al.* **Toxicidade do paracetamol: o álcool como um fator de risco**, 2018.

MICHALSEN, A. **Jejum prolongado como método de realce do humor em síndromes dolorosas crônicas: uma revisão de evidências clínicas e mecanismos**. *Relatos Atuais de Dor e Cefaleia*, 2010; 14(2): 80–87. DOI: 10.1007/s11916-010-0104-z.

MIZUSHIMA, N.; YOSHIMORI, T.; OHSUMI, Y. **O papel das proteínas ATG na formação do autofagossomo**. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 2011, p. 107-132. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005.

MIZUSHIMA, N.; LEVINE, B. **Autophagy in human diseases**. V. 383, n. 16, p. 1564–1576, 15 out. 2020.

MIZUSHIMA, N.; YOSHIMORI, T.; LEVINE, B. **Methods in mammalian autophagy research**. V. 140, n. 3, p. 313–326, 1 fev. 2010.

NAZIO, F. *et al.* **mTOR inhibits autophagy by controlling ULK1 ubiquitylation, self-association and function through AMBRA1 and TRAF6**. *Nature Cell Biology*, 2013; 15(4): 406-416.

NI, H. M. *et al.* **A ativação da autofagia protege contra a hepatotoxicidade induzida pelo paracetamol**. *Hepatology*, 55(1): 222–231, 2012.

INSTITUTO DE TOXICOLOGIA/UFRJ, ITC. UFRJ. Núcleo de Tecnologia Educacional para Saúde/UFRJ, NUTES. **Fundamentos em Toxicologia**, 2016. Disponível em: <http://ltc-ead.nutes.ufrj.br/toxicologia/modv.htm>.

OLIVEIRA, Andrezza Beatriz *et al.* **Obstáculos da atenção farmacêutica no Brasil**. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 41, n. 4, out./dez., 2012, p. 409-413.

PATTERSON, R. E.; SEARS, D. D. **Metabolic effects of intermittent fasting**. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 37, n. 61, p. 6-23, 2017.

PEDRO, M. **Jejum e saúde humana**. ubibliorum.ubi.pt, 20 jun. 2018.

PEREIRA, Januaria Ramos *et al.* **Riscos da automedicação: tratando o problema com conhecimento**. Univille, 2021.

POHL, C.; DIKIC, I. **Controle de qualidade celular pelo sistema ubiquitina-proteassoma e autofagia**. *Ciência*, 2019; 366: 818-822.

RAMACHANDRAN, A.; JAESCHKE, H. **Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology**. *J Clin Transl Res*, 2017 Feb; 3(Suppl 1): 157-169. DOI: 10.18053/ictres.03.2017s1.002.

RODRIGUES, Manuel Pedro Sampaio de Vasconcelos Alves. **Jejum e saúde humana: efeitos na cognição e longevidade**. Universidade da Beira Interior (Portugal), ProQuest, 2018. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/ee1c4fd68ec676f713be4c5a24762dd0/1?pq->

origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y. Acesso em: 13 jul. 2023.

RODRIGUES, C.; SILVA, Bruna K. **A hepatotoxicidade do paracetamol em usuários crônicos**. Mostra Científica da Farmácia, v. 5, n. 0, 2018.

SANDOVAL, Alline Correia *et al.* **O uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)**. Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, v. 8, n. 2, p. 165–176, jul./dez., 2017. Disponível em: <https://docplayer.com.br/82735606-farmacia-o-uso-indiscriminado-dos-anti-inflamatorios-nao-esteroidais-aines.html>. Acesso em: 3 jun. 2023.

SANTA, M. *et al.* **Hepatotoxicidade causada pelo paracetamol e a importância do farmacêutico para o uso racional do medicamento**. Even3, v. 7, p. 1, 16 maio 2016.

SANTANA. **Automedicação com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) em drogarias de Cruz das Almas-BA**. Famamportal.com.br, 2019. Disponível em: <http://famamportal.com.br:8082/jspui/handle/123456789/1921>. Acesso em: 4 jun. 2023.

SANTOS, Armenio Aguiar; LIMA, José Milton de Castro. **Fisiologia hepática. In: Sistema Digestório: Integração Básico-Clinica**. São Paulo: Blucher, 2016, p. 575-602. ISBN: 9788580391893. DOI: 10.5151/9788580391893-21.

SANTOS, Isabelle Novaes Câmara *et al.* **Revisão bibliográfica do uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs)**. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação - REASE, v. 7, n. 5, 31 maio 2021. DOI: doi.org/10.51891/rease.v7i5.1197. Disponível em: <https://www.periodicorease.pro.br/rease/article/view/1197>. Acesso em: 3 jun. 2023.

SHAN, Shulin; SHEN, Zhenyu; SONG, Fuyong. **Autophagy and acetaminophen-induced hepatotoxicity**. Archives of Toxicology, julho de 2018; 92(7): 2153-2161. DOI: 10.1007/s00204-018-2237-5.

SILVA, E. **Mecanismos moleculares envolvidos na redução da funcionalidade mitocondrial e autofagia do tecido adiposo marrom de ratos alimentados com dieta hiperproteica**, 2020. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17131/tde-07042021-144123/publico/karineemanuelledasilva.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2023.

SILVA, J. **Mecanismo de ação do paracetamol em comparação com as enzimas COX-1 e COX-2**. Revista de Farmacologia Clínica, 45(2), 123-135, 2023.

TORRES, V.L. *et al.* **Hepatotoxicidade do paracetamol e fatores predisponentes**. Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança, 2019; 17(1): 93-99.

TREPANOWSKI, J.F. *et al.* **JAMA Medicina Interna**, 2017; 177(7): 930–938. DOI: 10.1001/2017.0936.

VILELA, E.M. **Controvérsia sobre a toxicidade hepática das doses terapêuticas de paracetamol**. 2012. 50 p. Tese (Mestrado em Medicina)–Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Portugal, 2012.

WANG, Y.; WU, R. **The effect of fasting on human metabolism and psychological**

health. V. 2022, p. 1–7, 5 jan. 2022.

ANEXO

MODELO DE SUBMISSÃO MEDICAL HYPOTHESES



MEDICAL HYPOTHESES

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

●	Description	p.1
●	Abstracting and Indexing	p.2
●	Editorial Board	p.2
●	Guide for Authors	p.4



ISSN: 0306-9877

DESCRIPTION

Medical Hypotheses is a forum for ideas in **medicine** and related **biomedical sciences**. It will publish interesting and important theoretical papers that foster the diversity and debate upon which the scientific process thrives. The Aims and Scope of *Medical Hypotheses* are no different now from what was proposed by the founder of the journal, the late Dr David Horrobin. In his introduction to the first issue of the Journal, he asks 'what sorts of papers will be published in Medical Hypotheses? and goes on to answer '*Medical Hypotheses* will publish papers which describe theories, ideas which have a great deal of observational support and some **hypotheses** where experimental support is yet fragmentary'. (Horrobin DF, 1975 Ideas in Biomedical Science: Reasons for the foundation of Medical Hypotheses. Medical Hypotheses Volume 1, Issue 1, January-February 1975, Pages 1-2.). *Medical Hypotheses* was therefore launched, and still exists today, to give novel, radical new ideas and speculations in medicine open-minded consideration, opening the field to radical hypotheses which would be rejected by most conventional journals. Papers in *Medical Hypotheses* take a standard scientific form in terms of style, structure and referencing. The journal therefore constitutes a bridge between cutting-edge theory and the mainstream of medical and scientific communication, which ideas must eventually enter if they are to be critiqued and tested against observations.

Submitted manuscripts will be reviewed by the [Editor](#) and external reviewers to ensure their scientific merit. All reviewers will be fully aware of the Aims and Scope of the Journal and will be judging the premise, originality and plausibility of the hypotheses submitted. The journal publishes 12 issues a year, the publication frequency is monthly.

Abstracting/indexing:

Medical Hypotheses is indexed and abstracted in: ADONIS, BIOSIS, Chemical Abstracts, Elsevier BIOBASE/Current Contents/Life Sciences, EMBASE Excerpta Medica, Index Medicus, Medical Documentation Service, Reference Update, Research Alert, Science Citation Index, SciSearch UMI (Microfilm), Russian Academy of Science.

ABSTRACTING AND INDEXING

ADONIS
BIOSIS Citation Index
Chemical Abstracts
Elsevier BIOBASE
Current Contents - Life Sciences
Embase
Medical Documentation Service
Reference Update
Research Alert
Science Citation Index
Web of Science
UMI Microfilms
Russian Academy of Sciences

EDITORIAL BOARD

Co Editors-in-Chief

Mehar S. Manku, Birmingham, United Kingdom
Neurology, Pharmacy, Clinical Pharmacology

Sachin Sarode, Pune, India

Dental Surgery, Oral Pathology, Oral Microbiology, Carcinogenesis, Oncology, Salivary gland lesions

Founding Editor

David F. Horrobin

Associate Editors

Maximos Frountzas, National and Kapodistrian University of Athens School of Medicine, Athens, Greece
Surgical Oncology, Biostatistics, Surgery, Clinical Trials, Minimally Invasive Technologies

Mao Yang, Jishou University School of Pharmacy, Laboratory of Disorders Genes and, Department of Pharmacology, Jishou, China

Clinical medicine, Basic medicine, Medical genetics, Pharmacology, Clinical pharmacotherapy

Editorial Advisory Board

Megha Agrawal, All India Institute of Medical Sciences, Bathinda, Bathinda, India
Neurophysiology, Lifestyle medicine, Cognitive neuroscience

Gonzalo E. Aranda-Abreu, University of Veracruzana Center for Brain Research, Xalapa, Mexico
SARS-CoV-2, Neurodegeneration, Molecular Biology.

Chandra Bartholomeusz, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, United States of America

Breast Neoplasms, Ovarian Neoplasms, Apoptosis

Ramesh Bhonde, Dr D Y Patil Vidyapeeth University, Pune, India

Stem Cells, Diabetes, Islet Biology, Stem cells, Regeneration, Islet biology, Exosomes, tissue engineering

Philippe Charlier, Paris-Saclay University, Gif sur Yvette, France

Medical anthropology, Evolutionary medicine, Retrospective diagnosis, Paleopathology.

Undurti Narasimha Das, UND Life Sciences, R & D, Shaker Heights, Ohio, United States of America
Clinical immunology, Endocrinology

Monica Gulati, Lovely Professional University, Phagwara Sub-district, Punjab, India
Formulation development, Analytical method development, Biotherapeutics

Grzegorz R. Juszczak, Institute of Genetics and Animal Biotechnology Polish Academy of Sciences, Jastrzębiec, Poland

Brain mechanisms of the stress response, Problem solving, Cognition, Consciousness, Hallucinations, Psychosis

Mario U. Pérez-Zepeda, Mexico's National Institute of Geriatrics, Mexico City, Mexico
Aging, Frailty, Geriatric care

Vilayanur Ramachandran, University of California San Diego, Department of Psychiatry, La Jolla, California, United States of America

Neurology, Autism

Fulvio Alexandre Scorza, Federal University of Sao Paulo, SAO PAULO, Brazil
Neurology, Epilepsia

Amit Srivastava, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, United States of America
Neurodegeneration, Neuroinflammation, Vascular Biology, Regenerative Medicine

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Guidelines for Authors on the construction of articles

The purpose of Medical Hypotheses is to publish interesting theoretical papers. The journal will consider radical, speculative and non-mainstream scientific ideas provided they are coherently expressed.

Medical Hypotheses is not, however, a journal for publishing workaday reviews of the literature, nor is it a journal for primary data (except when preliminary data is used to lend support to the main hypothesis presented). Many of the articles submitted do not clearly identify the hypothesis and simply read like reviews.

These notes are designed to help authors formulate an article for Medical Hypotheses in such a way that the article is clearly distinguishable from a review. These are guidelines only and the Editor is happy to accept other formats provided that the principal requirements are met.

An hypothesis

Roughly speaking, an hypothesis should be an organized logical structure (or model) that accounts for (some) known facts, and which has real world consequences that are (in principle) observable.

The consequences of an hypothesis constitute predictions that may be tested against observations and experiments to determine whether some of them are (apparently) fulfilled. Most articles for Medical Hypotheses should fulfil the requirements of an hypothesis, and the logic of the proposals should be clearly stated and evaluated.

Medical Hypotheses is a general journal and articles need to be intelligible to a wide audience in medicine and bioscience, including those who may not be specialists in the field. Clarity of presentation and concision are key requirements.

Abstract/ Summary

The abstract should present the paper in microcosm. It should contain explicit details of the hypothesis being advanced, the main lines of supporting evidence and the most important implications.

Introduction/Background

The introduction should be a concise introduction to the scientific area to be addressed, supported by appropriate references and should set the scene for the hypothesis. The introduction should not be an attempt to review the evidence in detail.

The Hypothesis/Theory

The hypothesis needs to be set out in explicit detail. Typically it should be clear why and how the hypothesis is different from current thinking, how the idea has evolved, and why it is important. The scientific logic of the hypothesis should be clearly evident (eg. the steps in its causal assumptions).

Evaluation of the hypothesis/idea

The proposed hypothesis should be evaluated in the light of known and published information. Generally, this entails an evaluation of both evidence in support and evidence (apparently) against the hypothesis. Only relevant, and critically evaluated, papers should be cited. An hypothesis should, if correct, have implications and make predictions. These predictions are (in principle) amenable to further observation and experimentation that could tend to confirm or refute the hypothesis. Typically, authors would be expected to indicate how their hypothesis might be tested.

Empirical data

Inclusion of extensive new data is not usually acceptable in Medical Hypotheses papers. However, at the Editor's discretion, pilot data may be included when it is required for support of the proposed hypothesis, and when it is unlikely to be published in its own right.

Consequences of the hypothesis and discussion

The importance of the hypothesis may need to be stated explicitly, with a discussion of the potential implications for the area of science under discussion if the hypothesis were to be confirmed.

Types of Articles

Research article (Regular hypotheses research papers) Short Communication Correspondence

Research article (Regular hypotheses research papers):

Presentation and discussion of a biomedically or clinically motivated approach that has required the development of innovative novel hypothesis or hypotheses. As described in the AIMS of Scope, Medical Hypotheses is a forum for ideas in medicine and related biomedical sciences. What motivated to develop a novel hypothesis may be discussed, but the new hypothesis be discussed so that generalizability is clear with citations of already published research, ideally with an assessment of its range of applicability. Propose future research directions or a critique with the range of problems for which it may not be an appropriate solution. There should be a methodological approach that summarize its introduction, clinical applications, uses, successes, and limitations of the hypothesis. Article should be adequately cited with recent publications. Please choose the article type "FLA Hypotheses Article" during the submission process. For further details see guide for authors.

Short Communication:

These are articles, generally shorter than research papers, that tend to discuss previously published articles or a theme that is an important area of focus for the hypothesis basis of biomedical/clinical research and its application.

Correspondence:

Medical Hypotheses welcomes correspondence, especially when letters are linked to previous publications in the journal. Alternatively, letters can summarise extensions of previous work, draw attention to new evidence relating to theories, describe new ideas, or make general comments concerning the journal or its field of interest. Letters should be 400 words maximum length, inclusive of any references.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Title page
- Include abstract and keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

- A competing interests statement is provided. If the authors have no competing interests, please declare that the author/authors have no conflict of interest.
- A funding statement to be provided. If the authors have not received any funding for their paper, please declare that no funding received.

- A consent statement/ethical approval for the paper if Laboratory experiments including animals/ Human studies was performed. 'If your study does not require it, then please state this: Consent statement/Ethical approval: Not required'..

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

Declaration of competing interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors should complete the declaration of competing interest statement using [This template](#) and upload to the submission system at the Attach/Upload Files step. If there are no interests to declare, please choose the first option in the template. More information.[More information](#).

Declaration of generative AI in scientific writing

The below guidance only refers to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process.

Where authors use generative artificial intelligence (AI) and AI-assisted technologies in the writing process, authors should only use these technologies to improve readability and language. Applying the technology should be done with human oversight and control, and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. AI and AI-assisted technologies should not be listed as an author or co-author, or be cited as an author. Authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans, as outlined in Elsevier's [AI policy for authors](#).

Authors should disclose in their manuscript the use of AI and AI-assisted technologies in the writing process by following the instructions below. A statement will appear in the published work. Please note that authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.

Disclosure instructions

Authors must disclose the use of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process by adding a statement at the end of their manuscript in the core manuscript file, before the References list. The statement should be placed in a new section entitled 'Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process'.

Statement: During the preparation of this work the author(s) used [NAME TOOL / SERVICE] in order to [REASON]. After using this tool/service, the author(s) reviewed and edited the content as needed and take(s) full responsibility for the content of the publication.

This declaration does not apply to the use of basic tools for checking grammar, spelling, references etc. If there is nothing to disclose, there is no need to add a statement.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where

the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder.

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Reporting sex- and gender-based analyses

Reporting guidance

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER guidelines checklist](#). These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

Definitions

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous—thus it is important for authors to define the manner in which they are used. In addition to this definition guidance and the SAGER guidelines, the [resources on this page](#) offer further insight around sex and gender in research studies.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason

for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated [Scientific Managing Editor](#), a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Permissions Information

Written permission to reproduce borrowed material (illustrations and tables) must be obtained from the original publishers and authors, and submitted with the typescript. Borrowed material should be acknowledged in the captions in this style: 'Reproduced by the kind permission of ... (publishers) from ... (reference)'.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open Access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [Language Editing service](#) available from Elsevier's Language Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/ymehy/default.aspx>

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of 3 potential referees. For more details, visit our [Support site](#). It is required that potential referees not be from the same institution as the authors. Please only supply the names of referees who can commit to the review, if invited. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

What is peer review?

Peer review helps validate research, establish a method by which it can be evaluated, and increase networking possibilities within research communities

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Vitae

Submit a short (maximum 100 words) biography of each author, along with a passport-type photograph accompanying the other figures. Please provide the biography in an editable format (e.g. Word), not in PDF format.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

The abstract is the most important section of the paper since it will be widely and freely disseminated by scientific indexing systems, and will be read far more often than the whole paper. Great care should therefore be taken to provide an informative abstract which summarizes the main argument of the paper. The maximum length allowed is 400 words. The abstract should not contain any references, because it will sometimes be disseminated in isolation from the rest of the paper. Please ensure that you submit your abstract within the first page of your manuscript.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Although we do not encourage presentation of mathematically derived hypotheses, however minimum math formulae may be presented. Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi. All line illustrations should present a crisp black image on an even white background. The illustrations should be 127 x 173 mm (5 x 7 in) in size, or no larger than 203 x 254 mm (8 x 10 in).

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Reference style

Reference style: 3 Vancouver Numbered

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

[3] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[4] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[5] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] [6] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to software:

[7] E. Coon, M. Berndt, A. Jan, D. Svyatsky, A. Atchley, E. Kikinzon, D. Harp, G. Manzini, E. Shelef, K. Lipnikov, R. Garimella, C. Xu, D. Moulton, S. Karra, S. Painter, E. Jafarov, S. Molins, *Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88)*, Zenodo, March 25, 2020. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Research Elements

This journal enables you to publish research objects related to your original research – such as data, methods, protocols, software and hardware – as an additional paper in a [Research Elements journal](#).

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the [Research Elements page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>