

**LUCIANA GONÇALVES DE ORANGE**

**INGESTÃO ALCOÓLICA COM MÚLTIPLAS CONCENTRAÇÕES EM RATOS  
PERI-ADOLESCENTES DE DIFERENTES GÊNEROS**

**RECIFE**

**2007**

**LUCIANA GONÇALVES DE ORANGE**

**INGESTÃO ALCOÓLICA COM MÚLTIPLAS CONCENTRAÇÕES EM RATOS  
PERI-ADOLESCENTES DE DIFERENTES GÊNEROS**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição - Área de Concentração: Bases Experimentais da Nutrição.

**ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> FRANCISCA MARTINS BION**  
Professora Associada I da UFPE

**RECIFE**

**2007**

Orange, Luciana Gonçalves de  
Ingestão alcoólica com múltiplas concentrações  
em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros /  
Luciana Gonçalves de Orange. – Recife: O Autor,  
2007.  
98 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal  
de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Alcoolismo – Ratos peri-adolescentes. 2.  
Alcoolismo – Repercussões fisiopatológicas. I.  
Título.

351.761.1  
362.292 7

CDU (2.ed.)  
CDD (20.ed.)

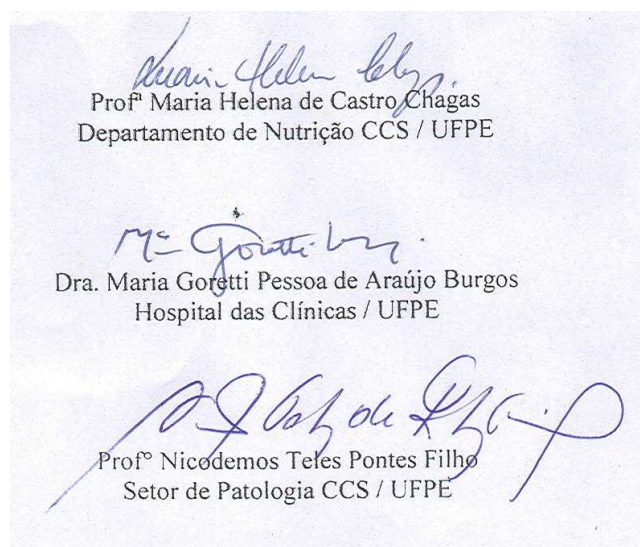
UFPE  
CCS2007-124

**INGESTÃO ALCOÓLICA COM MÚLTIPLAS CONCENTRAÇÕES EM RATOS  
PERI-ADOLESCENTES DE DIFERENTES GÊNEROS**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre  
em Nutrição apresentada ao Colegiado do  
Programa de Pós-Graduação em Nutrição do  
Departamento de Nutrição, CCS / UFPE.

Aprovada em 20 de julho de 2007

**BANCA EXAMINADORA**



*Dedico este trabalho primeiramente a **Deus**, por ter me dado força e equilíbrio para superar todas as dificuldades que a vida me impôs nesta jornada e por ter me dado também o discernimento e a sabedoria para que eu pudesse concretizar este grande sonho.*

*Aos meus pais, **Edson Nivaldo da Silva Gonçalves e Lauriete Gonçalves de Melo**, meus maiores incentivadores aos estudos e a vencer na vida.*

*Ao meu marido **César**, por tantas vezes ter ficado em segundo plano, para que eu alcançasse minhas metas.*

*Aos meus irmãos **Rodrigo e Rebeca**, que acompanharam de longe toda esta jornada e que, com seu amor e admiração, me deram coragem para que eu seguisse em frente .*

*À minha filha **Maria Clara**, que me fez adiar este projeto de vida para que eu amadurecesse como pessoa e pudesse chegar mais forte até aqui.*

*À Professora **Francisca Martins Bion**, minha orientadora, mãe, aconselhadora, psicóloga e amiga.*

*E a todos, **amigos e parentes**, que sempre, mesmo de longe, me apoiaram e me incentivaram para que eu não desistisse dos meus objetivos..*

## ***AGRADECIMENTOS***

A DEUS! Que me deu força, equilíbrio e discernimento para que eu chegasse até aqui!!!!

A Edson, meu pai, pela admiração silenciosa e pelo incentivo aos estudos, que estiveram presentes em toda minha vida.

À minha mãe Lála, que incansavelmente sempre me apoiou e esteve disponível para que eu pudesse cumprir os meus compromissos. Mãe, você é DEMAIS!!!!

A César, meu marido e amigo, que, apesar de todas as brigas, suportou todo o meu stress, permitindo assim que eu aliviasse mais a minha dor.

A Maria Clara, minha filha tão esperada e desejada, o amor da minha vida, que, apesar de me ter feito passar muitas noites sem dormir, ao mesmo tempo me encorajava para que eu não desistisse.

Aos meus queridos avós maternos Amara e Narciso (*in memoriam*), e paternos Valdomiro e Iraci (*in memoriam*), pelos ensinamentos de amor, vida, integridade e respeito ao próximo;

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Francisca Martins Bion, pela tolerância, paciência, amizade, maternidade, que foram além do âmbito acadêmico. Meus sinceros agradecimentos aos ensinamentos, não só profissionais, mas principalmente os de vida. Saiba que procurarei sempre espelhar-me na sua arte de ensinar....

À professora Débora Catarine Nepomuceno Pontes Pessoa, pela doçura e paciência e pelos aconselhamentos de ciência e de vida.

Ao Coordenador da Pós-Graduação em Nutrição, Professor Raul Manhães de Castro, pela dedicação e empenho no sucesso dos pós-graduandos;

Ao Sr. José Paulino Ventura, exemplo de vida e profissionalismo, um amigo e companheiro incansável, presente em todas as horas na pesquisa experimental;

A todos os meus familiares e amigos, que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste sonho;

Ao Prof<sup>o</sup> Nicodemos Teles Pontes Filho, pela atenção dispensada à leitura do projeto e pelas sugestões valiosas, que muito enriqueceram as nossas idéias iniciais;

À Prof<sup>a</sup> Maria Helena Chagas, pelas suas contribuições nas primeiras leituras do projeto;

À Sr<sup>a</sup> Maria Cristina Malta, pela revisão lingüística e documental do trabalho e enriquecimento do mesmo com suas colocações preciosas;

A você, Cybelle, que esteve tão presente nesta fase da minha vida, dividindo as tarefas , mas principalmente oferecendo sua nova amizade, que foi importantíssima para que eu concluísse este trabalho.

Às colegas do Mestrado que compartilharam os momentos de dedicação e aprendizado durante o Curso;

Ao Laboratório da Unidade de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas, na pessoa das Professoras Eliane Lafayette Araújo de Siqueira, Altair Vanderlei Lopes e Simone da Paz Leôncio, que nos possibilitaram a realização das dosagens bioquímicas.

A todos aqueles que pararam por um momento, ainda que pequeno, para ouvir ou ler o meu trabalho, e torceram, mesmo de longe, para que tudo desse certo. Obrigada de coração!

A todos que fazem o Curso de Mestrado e o Departamento de Nutrição da UFPE, pelo apoio técnico e cordialidade, em especial a Neci Nascimento, pela atenção constante;

Ao Dr. Ediones França, veterinário do Biotério Central do Departamento de Nutrição, pela colaboração no manuseio dos animais;

Ao Químico Artur Bibiano, pela análise da composição centesimal dos alimentos, o que representou uma valiosa contribuição;

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição Ana Maria França e Anisberto Silva da Cunha.



A estagiária do Laboratório de Nutrição experimental, Fabíola Ponzi, pela sua participação e colaboração durante todo período experimental

A Antônio, estagiário do Laboratório de Fisiologia Experimental, que contribuiu gentilmente na confecção dos gráficos deste trabalho.

Ao Programa de Apoio Emergencial a Grupos de Pesquisa da UFPE, pelo apoio financeiro no início do experimento.

*“Mas é claro que o sol, vai voltar amanhã, mas uma vez eu sei...  
...Espera que o sol já vem...  
... Nunca deixe que lhe digam que não vale acreditar no sonho  
que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você  
nunca vai ser alguém...  
...Se você quiser alguém em quem confiar, confie em si mesmo  
Quem acredita sempre alcança!!!!”*

**Renato Russo**

## **LISTA DE TABELAS**

### **ARTIGO II:**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Composição da dieta experimental</b>  | <b>62</b> |
| <b>2. Consumo alimentar (gramas) segundo o grupo, gênero e dias pós-natal dos animais</b> | <b>65</b> |
| <b>3. Consumo hídrico segundo o grupo, gênero e dias pós-natal dos animais</b>            | <b>67</b> |
| <b>4. Variáveis bioquímicas séricas, segundo sexo dos animais e os grupos estudados</b>   | <b>71</b> |

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO II:

- 1.** Curva ponderal de ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros expostos a uma única e a múltiplas concentrações alcoólicas durante os dias pós-natal **66**
  
- 2.** Efeitos da exposição a soluções hidroalcoólicas de aguardente (v/v) em de ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros, submetidos a uma única e a múltiplas concentrações (gramas de etanol por quilo de peso corpóreo por dia - g/Kg/dia) do dia 31 a 58 pós-natal **68**
  
- 3.** Preferência do etanol em relação à água em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros, submetidos a uma única e a múltiplas concentrações alcoólicas durante os dias pós-natal. **70**

A presente dissertação será apresentada em forma de dois artigos. O artigo 1, intitulado *Consumo voluntário de bebidas alcoólicas em animais de sexos diferentes: repercussões nutricionais e fisiopatológicas*, corresponde a uma revisão da literatura, para uma análise da situação mundial sobre os trabalhos realizados a respeito do consumo voluntário de bebidas alcoólicas por ratos de diferentes gêneros e suas conseqüências no estado nutricional e fisiopatológico destes animais.

O segundo artigo, intitulado *Ingestão alcoólica com múltiplas concentrações em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros*, buscou averiguar, em ratos peri-adolescentes, as repercussões nutricionais e metabólicas ocasionadas pela exposição a uma única e a múltiplas concentrações de solução hidroalcoólica de aguardente (v/v), associadas à ingestão de uma mistura alimentar regional. Este artigo é original, proveniente dos resultados de pesquisa experimental.

Cada artigo foi elaborado de acordo com as normas da revista para à qual foi submetido (Anexos A e B).

Ao final da dissertação são tecidas algumas considerações sobre o consumo do álcool e suas repercussões, nesta fase de vida, bem como sugestões para a realização de futuras pesquisas sobre o tema.

## RESUMO

A dissertação abrange dois artigos: revisão e original. Primeiro para analisar, repercussões no estado nutricional e fisiopatológico de ratos peri-adolescentes, machos e fêmeas, no consumo voluntário de bebidas alcoólicas. A metodologia constou da análise das bases de dados Bireme, Medline e Lilacs. Foi identificada ingestão alcoólica superior nas fêmeas, nas diferentes idades, porém os machos tinham maior preferência pelo álcool sobre a água. O aumento das concentrações alcoólicas leva a diminuição do consumo alimentar, que varia com a idade, entre machos e fêmeas, e pode ocasionar várias patologias, principalmente nas fêmeas, pelas interferências hormonais. Segundo artigo, estudou as repercussões metabólicas e nutricionais em 36 ratos Wistar, peri-adolescentes, divididos em três grupos (6 machos e 6 fêmeas): GA- controle, GB - 15% ETOH e GC- diluições de 10%, 20% e 30% ETOH. Avaliou-se bioquimicamente: glicose, colesterol total, LDL-C, HDL-C, VLDL, triglicerídeos, CT/HDL, albumina. Machos consumiram mais ração e tiveram peso corpóreo superior; ingestão de água foi maior na 1ª semana do experimento, sendo superior nas fêmeas. Encontrou-se glicose sérica menor no GA; CT/HDL menor no GC; os demais sem alterações. Conclui-se que as repercussões nutricionais e metabólicas do consumo de álcool são diferentes nos dois sexos e variam conforme as concentrações e frequência. Programas de educação e alertas nutricionais são necessários para conscientizar a população sobre as conseqüências nocivas das bebidas alcoólicas.

**Palavras-chave:** Ratos, Gênero, Etanol, Doenças, Efeitos Nutricionais.

## ABSTRACT

This dissertation embraces two articles: review and original. The first one analyzes the repercussions of voluntary intake of alcoholic beverages on the nutritional and physiopathologic state of peri-adolescent (around adolescence) rats of both sexes. The methodology used the Bireme, Medline and lilacs databases. It was noticed superior alcoholic intake by females, of several age groups, though males favored alcohol. The increment of alcoholic concentration leads to lower levels of food intake, which varies according to age, gender, and may cause several pathologies, mainly on females, because of hormonal interferences. The second piece studied the metabolic and nutritional repercussions on 36 peri-adolescent Wistar rats, divided into three groups (6 males and 6 females): control (GA), 15% ETOH (GB), e 10%, 20% e 30% ETOH (GC). Biochemical evaluations: glucose, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, VLDL, triglyceride, CT/HDL, albumin. Males ate more food and had superior body weight; water intake was bigger in the first week of this experiment, with superior intake by the females. Lower blood glucose level was found in GA; CT/HDL was lower in GC. It was concluded that the nutritional and metabolic repercussions of alcohol intake differ between genders and according to the dose and frequency of consumption. Educational programs and nutritional warnings are needed to make it clear to the population the bad consequences of alcohol.

**Key Words:** Rats, gender, ethanol, diseases, effects nutritional.

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| LISTA DE TABELAS   | 10 |
| LISTA DE FIGURAS   | 11 |
| APRESENTAÇÃO   | 12 |
| RESUMO   | 13 |
| ABSTRACT   | 14 |
| 1 – INTRODUÇÃO   | 16 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | 21 |
| 2 – OBJETIVOS  | 23 |
| 2.1 <b>Geral</b>   | 23 |
| 2.2 <b>Específicos</b>   | 23 |
| 3 – HIPÓTESE   | 24 |
| 4 – ARTIGO I – Consumo voluntário de bebidas alcoólicas em animais de sexos diferentes: repercussões nutricionais e fisiopatológicas | 25 |
| 5- ARTIGO II – Ingestão alcoólica com múltiplas concentrações em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros                       | 55 |
| 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS   | 84 |
| 7 – PERSPECTIVAS   | 85 |
| 8- ANEXOS  | 86 |



O consumo de bebidas alcoólicas advém do início da História, com os primeiros registros há aproximadamente 6000 anos, no Egito antigo e na Babilônia (BERMOND II; TOSE, 2000). As primeiras bebidas a serem utilizadas foram as fermentadas, preparadas e consumidas em várias partes do mundo, antes da expansão colonial européia (ROOM et al., 2002). As bebidas destiladas passaram a ser consumidas apenas na Idade Média, quando os árabes introduziram a técnica de destilação na Europa (BERMOND II; TOSE, 2000).

O etanol é uma molécula fracamente carregada, que se move facilmente através das membranas celulares, alcançando rapidamente um equilíbrio entre o sangue e os tecidos (BERMOND II; TOSE, 2000). Essa substância atinge todos os tecidos do organismo e afeta a maioria das funções vitais, por ser uma molécula pequena, solúvel tanto em meio aquoso como lipídico (LIEBER, 1997).

Após a ingestão de bebida alcoólica, reduzida quantidade de etanol é absorvida na boca e no esôfago; cerca de 10% do total do etanol ingerido é absorvido no estômago e o restante nas primeiras porções do intestino delgado. Somente de 2 a 10% do etanol absorvido é eliminado via rins e pulmões, o restante é oxidado, principalmente no fígado (JORDÃO-JÚNIOR et al., 1998). Exceto pelo estômago, o metabolismo extra-hepático é muito pequeno (LIEBER, 1997). A velocidade de absorção no estômago depende do tipo da bebida (no caso de humanos), da concentração de etanol, do pH do meio e do estado de vacuidade ou repleção do estômago. No intestino delgado, a absorção independe da concentração de etanol ou da presença de alimentos. O etanol absorvido deverá ser oxidado, visto que o álcool não pode ser armazenado, oxidação esta que ocorre no fígado, praticamente em sua totalidade. (JORDÃO-JÚNIOR et al., 1998).

A primeira fase de biotransformação do etanol compreende sua oxidação a acetaldeído. No hepatócito, esta transformação ocorre por três caminhos distintos: via álcool desidrogenase, no citosol ou na parte solúvel da célula, via sistema microsomal de oxidação de etanol, localizado no retículo endoplasmático ou, então, via catalase, localizada nos peroxissomas (JORDÃO-JÚNIOR et al., 1998). Cada um destes três processos produz metabólitos específicos e resulta na produção de acetaldeído, um produto também tóxico (LIEBER, 1997).

O processo através da álcool desidrogenase (ADH) tem como cofator a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), que é convertida a sua forma reduzida. Nessa reação oxidativa ocorre a formação de um mol de NADH para cada mol de etanol oxidado (JORDÃO-JÚNIOR et al., 1998), sendo este um componente de alta energia (proveniente do NAD), o qual é utilizado para a síntese de ATP (BERMOND II; TOSE, 2000). Durante o metabolismo do etanol, o fígado permanece depletado de NAD, pois o NADH não é reoxidado com taxa suficiente para repor o NAD (KITSON; WEINER, 1996). A oxidação do etanol determina, assim, considerável produção de NADH e um aumento do NAD + H livre. A alteração deste sistema redox, com aumento da relação NADH / NAD, é responsável por alterações metabólicas, decorrentes do consumo de etanol, tais como o aumento do  $\infty$ -glicerofosfato hepático e o estímulo à síntese de ácidos graxos com concomitante diminuição de sua oxidação normal. Desta maneira, existe uma produção maior de triglicerídeos, criando-se condições para o aparecimento da esteatose hepática (TRIANA, 1996).

A oxidação de etanol via álcool desidrogenase é um processo altamente ativo na ingestão aguda de etanol, sendo esta enzima inibida pelo consumo crônico de álcool e reduzida com o aumento da idade (KIM; KIM; SOHN, 2003).

O tratamento crônico com álcool leva à oxidação do etanol pelo sistema microsomal, com participação primordial do citocromo P450 (KITSON; WEINER, 1996) . Sabe-se que o sistema P450 está envolvido na degradação de substâncias tóxicas, como o etanol (METABOLISMO...2000). Nessa circunstância, um componente de alta energia, isto é, NADPH, é utilizado, não sendo formado um componente de alta energia, como ocorre na via ADH, e a reação gera somente calor. Se esta calorigênese exceder os níveis normais, torna-se necessária a termoregulação (KLESGES; MEALER; KLEGES, 1994; SONKO et al., 1994).

A terceira via de oxidação de etanol é a catalase, que consiste em uma hemoenzima, localizada nos peroxissomas das células hepáticas, que funciona no catabolismo de  $H_2O_2$  ou na peroxidação de pequenos substratos como o álcool. Esta hemoenzima catalisa a conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, desta forma protegendo a célula da ação tóxica deste composto (CATALASE... 1999). A participação da catalase na oxidação do etanol é questionada, tendo por base a pequena produção do peróxido de hidrogênio, um pré -requisito para a oxidação do etanol por esta via (KITSON; WEINER, 1996).

No processo oxidativo do etanol via catalase ocorre, inicialmente, a oxidação do NADPH através da NADPH – oxidase, com a formação de água oxigenada , a qual, sob a influência da catalase, promove a oxidação do etanol. A biotransformação hepática peroxidativa do etanol é limitada pela produção endógena de água oxigenada. A produção fisiológica, normal, de água oxigenada, é estimada como sendo de 3,6 mmol / hora /grama de fígado. Sob circunstâncias fisiológicas, o sistema catalase responde por menos de 2% da oxidação do etanol. Entretanto, o consumo de álcool crônico induz à maior atividade da NADPH – oxidase, contribuindo para maior formação de água oxigenada, desta maneira

ampliando a participação deste sistema na oxidação do etanol (JORDÃO-JÚNIOR et al., 1998).

A segunda fase da oxidação do etanol ocorre a partir da formação do acetaldeído, pelos três sistemas de oxidação, o qual é novamente oxidado na mitocôndria, formando acetato e acetilCoA, pela ação da enzima acetilcoalse A. A transformação do acetaldeído para acetato é praticamente irreversível (KITSON; WEINER, 1996).

A formação de acetilCoA implica, além da lipogênese hepática, em aumento na redução do piruvato a lactato. Esta hiperlactacidemia contribui para a acidose e a redução da capacidade renal de excretar ácido úrico, levando à hiperuricemia secundária e hipoglicemia pós – alcoólica (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2000).

Muito se tem estudado sobre os efeitos da ingestão crônica de etanol no ser humano, visto que esta ingestão exerce um efeito tóxico que se manifesta sobre o sistema nervoso central, fígado, pâncreas e coração, provocando alterações significativas no metabolismo intermediário de diversas substâncias (VANNUCCHI; MELLO DE OLIVEIRA; DUTRA DE OLIVEIRA, 1982).

Sabe-se que o metabolismo do etanol diminui com o envelhecimento (SEITZ et al., 1989; LUCEY et al., 1999), como também que há diferenças metabólicas relacionadas à farmacocinética do álcool nos diferentes sexos, influenciando diferentemente os padrões de consumo desta droga. Primeiro, a taxa metabólica do álcool parece ser maior nas fêmeas do que nos machos (MISHRA et al., 1989; RACHAMIN et al., 1980; SUTKER et al., 1987; VAN THIEL; GAVALER, 1988). Segundo, a primeira etapa, relacionada à álcool desidrogenase gástrica, é menor nas mulheres que nos homens (FREZZA et al., 1990; KALANT, 1996; LANCASTER, 1994). Terceiro, é bem sabido que as fêmeas têm menor composição corporal do que os machos; isto é importante, porque o etanol se distribui do

sangue para os tecidos e fluidos corpóreos em proporção ao seu conteúdo de água; portanto, o volume de distribuição do etanol no corpo é equivalente ao total de água corpórea (LANCASTER, 1994).

No entanto, estudos abordando os efeitos da ingestão voluntária de bebidas alcoólicas em diferentes concentrações, por ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros e suas possíveis repercussões fisiológicas e nutricionais são escassos, fato que motivou a realização deste trabalho, o qual foi desenvolvido em dois artigos, o primeiro de revisão, intitulado “Consumo voluntário de bebidas alcoólicas por animais de sexos diferentes: repercussões nutricionais e fisiopatológicas”, e o segundo, original, sob o título: “Ingestão alcoólica com múltiplas concentrações em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros”.

## Referências Bibliográficas

BERMOND II, D.M.; TOSE, H. Consumo de bebidas alcoólicas: interações com o benzeno e outras substâncias de uso ocupacional. **Revista de Psiquiatria Clínica**, 2000, v.27, n.2, p. 25-70.

CATALASE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Oxidoreductase [online]. Disponível via internet: [www.clunet.edu/BioDev/omn/catalase/cat1.htm](http://www.clunet.edu/BioDev/omn/catalase/cat1.htm). Acesso: 02/2007.

FREZZA, M.; Di PADOVA, C.; POZZATO, G.; TERPIN, M.; BARAONA, E.; LIEBER, C.S. High blood ethanol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. **New England Journal of Medicine**, v. 322, p. 95-99, 1990.

JORDÃO-JÚNIOR, A.A.; CHIARELLO, P.G.; BERNARDES, M.S.M.; VANNUCCI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 434-449, 1998.

KALANT, H. Pharmacokinetics of ethanol: absorption, distribution, and elimination. In: KISSIN, B.; BEGLEITER, H. (Eds.). **The pharmacology of alcohol and alcohol dependence**. New York: Oxford University Press, 1996. p. 15-58.

KIM, Y.C. ; KIM, S.Y. ; SOHN, Y.R. Effects of age increase on metabolism and toxicity of ethanol in female rats. **Life Science**, v. 74, p. 509-19, 2003.

KITSON , K.E.; WEINER, H. Ethanol and acetaldehyde metabolism: past, present and future. **Alcohol; Clinical and Experimental Research**, v.20, p.138A-146A, 1996.

KLESGES, R.C. ; MEALER, C.Z.; KLESGES, L.M. Effects of alcohol intake on resting energy expenditure in young women social drinkers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, p. 805-809, 1994.

LANCASTER, F.E. Gender differences in the brain: implications for the study of human alcoholism. **Alcohol; Clinical and Experimental Research**, v. 18, p. 740-746, 1994.

LIEBER, C.S. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. **Clinical Chemistry Acta**, v.257; p.59-84, 1997.

LUCEY, M.R.; HILL, E.M.; YOUNG, J.P.; DEMO-DANANBERG, L.; BERESFORD, T.P. The influences of age and gender on blood ethanol concentrations in healthy humans. **Journal of Studies on Alcohol**, v.60, p.103-110.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. K. In: Alimentos, nutrição e dietoterapia. 10. ed. Rio de Janeiro: Rocca, 2000.

**METABOLISMO dos xenobióticos** [online]. Disponível via Internet: [www.dgb.fc.ul.pt/docentes/smarinho/pdf/xenobioticos/pdf](http://www.dgb.fc.ul.pt/docentes/smarinho/pdf/xenobioticos/pdf). Acesso: 04/2007.

MISHRA, L.; SHARMA, S. ; POTTER, J.J. ; MEZEY, E. More rapid elimination of alcohol in women as compared to their male siblings. **Alcoholism**, v.13, p. 752-754, 1989.

RACHAMIN, G.; MacDONALD, A.; WAHID, S.; CLAPP, J.J.; KHANNA, J.M.; ISRAEL, Y. Modulation of alcohol dehydrogenase and ethanol metabolism by sex hormones in the spontaneously hypertensive rat. Effect of chronic ethanol administration. **Biochemical Journal**, v. 186, p.483-490, 1980.

ROOM, R. et al. **Alcohol and developing societies: a public health approach**, Finnish Foundation for Alcohol Studies. Geneva: World Health Organization, 2002.

SEITZ, H. K.; MEIDANY, M.; FERSCHKE, I.; SIMANOWSKI, U.A.; BOESCHE, J.; BOGUSZ, M.; HOEPKER, W.W.; BUMBERG, J.B.; RUSSEL, R.M. Effect of aging on in vivo and in vitro ethanol metabolism and its toxicity in F344 rats. **Gastroenterology**, v. 97, p. 446-456.

SONKO, B.J.; PRENTICE, A.M. ; MURGATROYD, P.R. ; GOLDBERG, G.R. ; Van de Ven, M.L. ; COWARD, M.A. Effects of alcohol on postmeal fat storage. **American Journal Clinical Nutrition**, v.59, p. 619-625, 1994.

SUTKER, P.B.; GOIST Jr., K.C. ; ALLAIN, A.N. ; BUGG, F. Acute alcohol intoxication: sex comparisons on pharmacokinetic and mood measures. **Alcoholism**, v. 11, p. 507-521, 1987.

TRIANA, M.H. Alteraciones metabólicas en el alcoholism. **Revista Cubana de Alimentación e Nutrición**, v.10, n.1, p. 35-42, 1996.

VAN THIEL, D.H.; GAVALER, J.S. Ethanol metabolism and hepatotoxicity. Does sex make a difference?. **Recent Development Alcoholism** v. 6, p.291-304, 1988.

VANNUCCHI, H.; MELLO DE OLIVEIRA, J.A.; DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. Tryptophan metabolism in alcoholic pellagra patients: measurement of urinary metabolites and histochemical studies of related muscle enzymes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.35, p. 1368-1374, 1982.

### 2.1 - Geral

Avaliar os efeitos da ingestão alimentar e alcoólica sobre os parâmetros bioquímicos de ratos peri-adolescentes de diferentes sexos, submetidos a uma única concentração (15%) e múltiplas concentrações (10%, 20%, 30%) de soluções de aguardente de cana-de-açúcar associadas a uma mistura alimentar.

### 2.2 – Específicos

- Relacionar e comparar as possíveis repercussões da ingestão alcoólica no consumo alimentar e hídrico;
- Identificar a preferência dos animais pelas diferentes concentrações alcoólicas (10%, 15%, 20%, 30%);
- Analisar o ganho ponderal dos animais em estudo;
- Determinar os seguintes parâmetros bioquímicos no sangue dos animais: colesterol total, HDL-C, VLDL-C, LDL-C, relação CT/HDL, triglicerídeos, albumina, observando as possíveis alterações ocasionadas pelo consumo do etanol.



### ***3. HIPÓTESE***

---

Diferentes condições de exposição a uma solução hidroalcoólica de aguardente de cana-de-açúcar podem repercutir negativamente nos parâmetros nutricionais e metabólicos de ratos peri-adolescentes de ambos os sexos.

---

***CONSUMO VOLUNTÁRIO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS POR ANIMAIS DE SEXOS DIFERENTES: REPERCUSSÕES NUTRICIONAIS E PATOLÓGICAS***

## ARTIGO DE REVISÃO

### CONSUMO VOLUNTÁRIO DE BEBIDAS ALCOÓLICAS POR ANIMAIS DE SEXOS DIFERENTES: REPERCUSSÕES NUTRICIONAIS E FISIOPATOLÓGICAS

#### *AUTORES:*

Luciana Gonçalves de Orange<sup>1\*</sup>

Francisca Martins Bion<sup>2</sup>

Fabíola Karine Arruda Xavier Ponzi<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup> Mestranda em Nutrição pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>(2)</sup> Doutora em Ciências dos Alimentos pela USP, Professora Associada do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>(3)</sup> Estagiária do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>(\*)</sup> Para quem a correspondência deve ser enviada. Endereço: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição – Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), Cidade Universitária, Recife – PE, CEP: 50.670-901. E-mail: luciana\_orange@hotmail.com.

## RESUMO

*Objetivo e métodos:* Investigar modelos experimentais que analisaram as diferenças na ingestão voluntária de bebidas alcoólicas com diferentes teores de etanol, por animais de linhagens e gêneros diferentes, e sua interferência no estado nutricional e no desenvolvimento de algumas doenças. A pesquisa foi realizada a partir de busca nas bases de dados Bireme, Medline e Lilacs. *Resultados:* O modelo animal que mais se aproxima do consumo voluntário de álcool é o que oferece água e ração *ad libitum*. Estudos com ratos de ambos os sexos têm constatado que as fêmeas consomem mais álcool que os machos. O consumo de grandes quantidades de bebidas alcoólicas provoca alterações metabólicas e patológicas nos mais variados sistemas do organismo humano. *Conclusão:* As fêmeas apresentam uma ingestão alcoólica superior aos machos, nas diferentes idades estudadas, porém os machos revelam maior preferência pelo álcool sobre a água do que as fêmeas. Há uma relação inversamente proporcional entre diminuição no consumo alimentar e aumento nas concentrações alcoólicas. Quanto à influência de fatores estressantes na ingestão do álcool, as pesquisas revelam diferenças entre machos e fêmeas, que variam em função da raça e idade. O consumo do etanol pode levar ao aparecimento de várias patologias. As fêmeas são mais susceptíveis a algumas delas, devido à farmacocinética do álcool e às interferências hormonais.

**Palavras-chave:** Ratos, Gênero, Etanol, Doenças, Efeitos Nutricionais.

## ABSTRACT

*Objectives and Methods:* To investigate experimental models that dealt with the analysis of the differences between spontaneous ingestion of alcoholic beverages and ethanol contents by animals of differing lineage and gender, and how this may interfere with the nutritional state and the development of many diseases. The research was carried out from major data bases, such as Bireme, Medline and Lilacs. *Results:* The animal models that come closest to spontaneous alcohol consumption are those offered water and food "*ad libitum*". Studies with rats of both gender have found that female rats ingest more alcohol than their male counterparts. Consumption of great amounts of alcoholic beverages cause metabolic and pathologic alterations in various systems of the human organism. *Conclusion:* The findings are indicative that female rats show greater alcoholic consumption than their male counterparts within the differing ages studied, although male rats display greater preference on water for alcohol. There is an inversely proportional relationship between a decrease in food consumption and an increase in alcoholic contents. As for the influence of a stressing agent on alcohol consumption, studies have found differences in alcohol consumption between male and female rats which vary according to race and age. Ethanol consumption may elicit the development of several pathologies, however, female rats seem to be more susceptible to some of them due to alcoholic pharmacokinetics and the hormonal interferences involved.

**Key Words:** Rats, gender, ethanol, diseases, effects nutritional.

## ***Introdução***

Desde o início do seu consumo, os efeitos do álcool e sua capacidade de alterar o comportamento dos indivíduos já eram conhecidos por todas as diferentes populações que o utilizavam. Ainda que aceito socialmente, o consumo do álcool sofreu restrições para controlar ou prevenir o uso indevido. Mesmo assim, continua sendo a substância psicoativa mais utilizada <sup>1</sup>. Cerca de 80% da população mundial consome bebidas alcoólicas; destes, 10% podem ser considerados alcoolistas <sup>2</sup>.

A atenção científica aos problemas relacionados com o álcool tem se intensificado nos últimos 30 anos, o que acarretou substanciais avanços na compreensão do alcoolismo, sua prevenção e tratamento <sup>3</sup>.

Em 1940, foi demonstrado que roedores consumiam álcool voluntariamente, em laboratório. Sabe-se que este comportamento em relação a determinados alimentos é comum entre estes animais e outros mamíferos silvestres, devido ao odor e sabor, o que torna os ratos e camundongos propícios para o estudo de vários aspectos do alcoolismo humano <sup>4</sup>.

Os desenhos experimentais tentam analisar situações complexas, como desejo, reincidência ao álcool e diminuição do controle sobre a ingestão das bebidas alcoólicas, como os modelos de reintegração (“The Reinstatement Model”) <sup>5</sup>, efeito-álcool-deprivação-ADE e o “The Point-of-no-return model” <sup>6</sup>, investigando, em roedores, estes comportamentos observados em humanos. Contudo, estes modelos experimentais são limitados, considerando que os animais não têm a capacidade de expressar fielmente os diversos comportamentos do ser humano <sup>7</sup>.

Muitos modelos experimentais têm sido validados em estudos farmacológicos, demonstrando como se processam as mudanças neuroquímicas e celulares face ao

alcoholismo. Pesquisas atuais, em vários laboratórios, têm estudado a preferência pelo etanol no regime voluntário (livre escolha), através da avaliação das quantidades consumidas dos fluídos (água e/ou álcool); os resultados têm evidenciado poucas variações <sup>4,8</sup>.

A larga variedade na preferência pelo álcool, entre animais da mesma espécie e entre diferentes raças, tem permitido pesquisar a seleção de linhagens de acordo com as diferenças nesta preferência, gerando pares de linhagens que se caracterizam por maior ou menor consumo. Estudos deste tipo foram desenvolvidos na Finlândia, desde 1963 (“Alcohol” –AA e “Alko-Nonalcohol”-ANA)<sup>9</sup>, na Índia (“Alcohol-preferring”-P e “Non-alcohol-preferring”-NP)<sup>10</sup>, e na Sardenha (“Alcohol-preferring” - sP) <sup>11</sup>. Todos estes modelos têm sido usados como ferramentas para caracterizar o comportamento neuroquímico e molecular correlacionado ao consumo voluntário e à preferência pelo álcool. A preferência, por si só, não indica necessariamente um comportamento de vício, mas, na maioria das vezes, reflete um consumo controlado do álcool. Esta é a maior limitação deste tipo de estudo <sup>4</sup>.

Não obstante tratar-se de desenhos experimentais importantes, vale observar que cada um deles apenas imita alguns aspectos do comportamento humano em relação ao alcoholismo. Cada vez mais os modelos experimentais devem incluir fatores sócio-culturais que influenciam o consumo humano do álcool <sup>4</sup>.

Esta revisão tem o propósito de investigar os mais recentes modelos experimentais abordando as diferenças na ingestão voluntária de bebidas alcoólicas e nos teores de etanol, por animais de linhagens e gêneros diferentes, como também a influência deste consumo no estado nutricional e no aparecimento de algumas doenças.

**Quem bebe mais: machos ou fêmeas?**

A maioria dos estudos sobre ingestão de etanol, em ratos, têm sido realizados em animais do sexo masculino; isto porque pesquisas em ambos os sexos têm constatado que as fêmeas sempre consomem mais álcool que os machos <sup>12</sup>. Essas diferenças, relativas ao maior consumo do etanol pelas fêmeas, têm sido observadas em modelos animais de alcoolismo, ao contrário do que ocorre em humanos, em que os machos, na maioria das vezes, ingerem maiores quantidades de etanol que as fêmeas nos alcoolistas <sup>22</sup>.

A diferença de gênero tem sido extensivamente estudada como um fator que influencia o consumo do álcool <sup>14</sup>. Ao que parece, o metabolismo do etanol constitui um dos principais motivos para diferenciar os padrões do consumo do álcool entre machos e fêmeas, bem como as diversidades de composição corporal, entre os sexos <sup>15,16</sup>. Sugere-se, também, que a atividade de neuroesteróides esteja implicada na produção de efeitos diferentes do álcool entre os gêneros <sup>16</sup>.

Pesquisa em ratos da linhagem Wistar, para analisar as diferenças do sexo no padrão do consumo e quantidade de álcool ingerido durante os regimes forçado e voluntário de exposição à bebida demonstrou que, em regime de livre escolha, as ratas beberam mais e tiveram maior preferência pelo etanol, em relação aos machos. Além disso, quando foram avaliados os padrões do consumo do etanol durante o ciclo circadiano, de forma contínua ou periódica, as fêmeas tiveram uma maior distribuição do consumo durante o dia, em relação aos machos. As diferenças relativas à quantidade e às características dos padrões do consumo do etanol em cada sexo dependeram do planejamento da exposição à droga <sup>14</sup>.

Tem sido relatado também que, no metabolismo do etanol, existem significantes diferenças, entre os gêneros, relacionadas à idade. Um estudo com ratos F344 constatou que o envelhecimento provocou uma diminuição no metabolismo do etanol, nos machos, o que não ocorreu com as fêmeas da mesma espécie <sup>17</sup>.



Os autores sugerem que a diferença da idade na eliminação do etanol poderia ser responsável pela dissimilaridade na resposta ao álcool entre ratos machos e fêmeas<sup>18</sup>.

Adams (1995)<sup>13</sup>, em estudo com ratos da linhagem Maudsley Reactive/Har, de ambos os sexos, para avaliar o efeito de um agente estressor no consumo do etanol, observou que as fêmeas ingeriram, aproximadamente, duas vezes mais a solução de etanol a 10% do que os machos, durante a primeira semana de exposição, aumentando este consumo durante todo o período experimental (cinco semanas). Neste estudo, a preferência pelo etanol foi independente da diferença de peso corporal entre os sexos, o que geralmente tem sido atribuído como fator que explica as diferenças nos graus de consumo<sup>19</sup>.

Estudando-se a interferência de um agente estressor no início da vida (separação da mãe, por 15 minutos, nos 7 primeiros dias de vida), como fator no consumo voluntário de bebidas (cerveja sem álcool adicionada de 5% de etanol (v/v) e água) por ratos da raça Long Evans, de sexos diferentes, encontrou-se maior consumo da bebida alcoólica e preferência entre os machos que sofreram estresse, no período peripuberal (32-45 dias de vida); estes animais persistiram com este consumo maior do que as fêmeas do 22º até o 60º dia do experimento. Do 75º ao 85º dia de vida, este resultado foi invertido, ou seja, as fêmeas tiveram maior consumo de etanol que os machos, o que foi observado também no grupo não exposto ao estresse. O autor conclui que o estresse precoce nas fêmeas foi relacionado à polidipsia, durante todo seu desenvolvimento, e ao aumento da ingestão de álcool na fase adulta<sup>20</sup>.

Chester et al. (2006)<sup>21</sup>, avaliando os diferentes efeitos do estresse na ingestão de bebidas alcoólicas em camundongos da linhagem “High Alcohol Preference” (HAP2), de

gêneros diferentes, observaram que os machos, quando submetidos ao estresse intermitente e moderado (contenção em tubo medindo 25,4 mm x 83 mm, por 2 horas, durante 10 dias), aumentavam o consumo do etanol, o que não foi observado nas fêmeas submetidas ao mesmo agente estressor. Porém, nos grupos que não foram submetidos ao estresse, as fêmeas consumiram maior quantidade de solução alcoólica do que os machos. Os autores concluem que estes resultados confirmam a teoria proposta por Conger (1956)<sup>22</sup>, de que o estresse pode reforçar o comportamento de ingerir bebidas alcoólicas, porque o etanol acalma, psicológica e/ou fisiologicamente, as conseqüências do estresse.

Pesquisa realizada com ratos “Alcohol-preferring” (P) pré-adolescentes e adultos, observando o padrão diário (dia/noite) do consumo voluntário (registro do ataque aos bicos das mamadeiras) de uma solução de 15% v/v de etanol, encontrou: a) os ratos pré-adolescentes consumiram mais água e ingeriram um total de fluídos maior que os ratos adultos; b) as fêmeas consumiram mais água e ingeriram um total de fluídos maior do que os machos; c) houve diferença nos padrões de ingestão de água e de álcool entre pré-adolescentes e adultos e machos e fêmeas; d) padrões individuais do consumo revelaram que o álcool foi freqüentemente consumido, excedendo a quantidade requerida para a livre administração (1g/Kg de etanol); e) a alcoolemia de jejum, nos 30 dias de acesso ao etanol, foi de 50 mg%, com o consumo de álcool de 1.2 g/Kg. Os achados indicam que os padrões de consumo do etanol diferem quanto à idade e ao sexo, sugerindo que os tratamentos para o alcoolismo, para serem efetivos, devem considerar estes parâmetros<sup>23</sup>.

Estudo com camundongos da linhagem BALB/cByJ (que têm preferência pelo álcool) e BALB/cJ (que não preferem o álcool), de diferentes gêneros, avaliou as diferenças do consumo do etanol quando os animais eram submetidos a diferentes formas de exposição ao álcool (voluntária, forçada e gradual). Os autores encontraram que, em

relação ao grupo controle, os camundongos machos BALB/cByJ aumentaram sua preferência pelo álcool entre 20-25%, em todas as formas de exposição, enquanto nas fêmeas da mesma linhagem o aumento foi em torno de 50%. Entre as fêmeas BALB/cByJ, as do grupo exposição forçada, que receberam maiores quantidades de etanol, apresentaram menor média de preferência ao álcool em relação às outras formas de exposição, enquanto nas do grupo gradual a preferência foi superior às demais <sup>24</sup>.

### **Quem prefere mais as soluções alcoólicas ?**

Modelos animais para causar dependência alcoólica pela forçada administração têm sido bem estabelecidos. Estes modelos incluem a inalação <sup>25</sup>, a intubação <sup>26</sup> e o consumo de dietas líquidas <sup>27</sup>.

A mais atraente aproximação de modelos animais ao consumo voluntário do álcool, similar ao que ocorre em humanos, é aquela que oferece água e ração *ad libitum* <sup>28</sup>.

Estudo com animais da linhagem “alcohol-preferring” (P) pré-adolescentes, de ambos os sexos, quando expostos a uma única concentração (15%) e múltiplas concentrações, encontrou, na primeira semana de experimento, que os machos e fêmeas consumiram maior quantidade de etanol, sob a condição de múltiplas concentrações, do que numa única concentração. Porém, da segunda semana até o final do experimento (4 semanas), este comportamento foi observado apenas nas fêmeas pré-adolescentes. Quando foi avaliada a preferência entre as concentrações oferecidas, verificou-se que os machos pré-adolescentes tenderam a escolher mais a concentração de 30% do que a de 10% e a de 20%, mas as fêmeas não expressaram preferência <sup>29</sup>.

Outro experimento, utilizando o mesmo desenho experimental, mas com ratos da

linhagem “high-alcohol-drinking” (HAD-1 e HAD-2), encontrou, na primeira semana, um consumo maior de etanol, pelos machos e fêmeas das duas linhagens, na condição de múltiplas concentrações, em relação àqueles submetidos a uma única concentração. Porém, nas outras semanas de experimento (4 semanas), este comportamento foi observado principalmente em machos e fêmeas HAD-1 e, em menor grau, nas fêmeas HAD-2. Em geral, as ratas consumiram mais fluídos do que os machos; nestes, foi maior a preferência pelo etanol do que pela água, em relação às fêmeas<sup>30</sup>.

Piano et al. (2005)<sup>31</sup>, examinando a interferência dos hormônios ovarianos no consumo de etanol, numa dieta líquida<sup>32</sup>, em ratos Sprague-Dawley de ambos os sexos (machos, fêmeas ovariectomizadas bilateralmente e fêmeas falso-ovariectomizadas), constataram que os machos beberam maiores concentrações (ml/dia) do que as fêmeas. Porém, quando este consumo foi expresso em g/Kg/dia, o grupo de ratas que sofreram uma simulada ovariectomia apresentou um consumo maior do que os machos. Neste estudo, a alcoolemia foi similar entre os grupos, apesar da diferença de consumo entre eles. Os dados indicam que, similarmente às outras raças, os ratos Sprague-Dawley também exibem diferenças no padrão de consumo do álcool; entretanto, apresentaram alcoolemia igual entre os grupos.

Estudo em ratos de ambos os sexos, da raça Long –Evans, para avaliar se a aproximação entre eles causava aumento do consumo de bebidas alcoólicas pelos machos teve resultado positivo, ou seja, a aproximação social com as ratas induziu um maior consumo da concentração mais alta de etanol (10%), pelos machos, fato também observado com menores concentrações do etanol (6%, 8%)<sup>33</sup>.

Da Silva et al. (2004)<sup>34</sup>, comparando o consumo voluntário de pares de ratos de linhagens consideradas, geneticamente, modelos de ansiedade (SHR e Lewis/ Floripa H e

L), encontraram, no período de 8 dias de exposição crescente (de 2% a 4% v/v) ao etanol, que as fêmeas de todas as linhagens estudadas beberam mais e evidenciaram maior preferência pelo álcool do que os machos. Quando foi avaliado o consumo entre os pares de linhagens, observou-se que as fêmeas SHR e Lewis ingeriram mais álcool do que os machos, consumo este mais acentuado nas fêmeas SHR. Estes resultados expressam o contrário do que era esperado, já que os animais da linhagem Lewis têm um comportamento de maior ansiedade do que os da linhagem SHR, em ambos os sexos<sup>35</sup>. O fato pode constituir uma evidência de que nem sempre há correlação entre ansiedade e consumo voluntário de álcool, em modelos animais.

#### **Como o consumo do álcool pode influenciar o estado nutricional dos animais?**

O consumo de grandes quantidades de bebidas alcoólicas provoca alterações metabólicas e patológicas nos mais variados sistemas do organismo humano: altera as funções do sistema nervoso, o metabolismo da glicose, lipídeos e proteínas e, particularmente, os aspectos nutricionais de órgãos, como pâncreas, estômago e intestino<sup>36</sup>.

A ingestão alcoólica diminui o consumo alimentar em ratos, mediado em parte por um mecanismo pós-gástrico<sup>37</sup>.

Um dos possíveis mediadores do efeito do álcool sobre a ingestão alimentar parece ser a leptina, secretada como um hormônio dos adipócitos<sup>38</sup>. Os níveis plasmáticos de leptina estão relacionados com o grau de adiposidade e são regulados pela alimentação e pelo jejum<sup>39,40</sup>. Recentemente, foi revelado que os glicocorticóides são hormônios contra-reguladores da leptina<sup>41</sup>. Os efeitos do etanol na função adrenal dependem da sua concentração, como também do método de administração utilizado<sup>42,43</sup>.

Em estudo desenhado para determinar se o consumo do álcool a longo prazo induz aumento das concentrações plasmáticas de leptina ou mudanças na função adrenocortical em ratos adolescentes (machos) observou-se que aqueles expostos ao etanol consumiram menores quantidades de ração (76% menos) do que o grupo controle, do primeiro dia até o final do experimento (28 dias); mas, não houve diferença no total calórico ingerido, entre os dois grupos, já que as calorias provenientes do etanol supriram o déficit da ingestão alimentar. Contudo, o grupo que ingeriu a solução alcoólica teve menor ganho em peso do que os demais grupos (controle e pair-fed). Em relação às concentrações plasmáticas de leptina e de corticosteróides, não diferiram entre os animais expostos ao álcool e o grupo controle. Os autores concluíram que o consumo crônico do álcool foi associado a menor ingestão alimentar e inibição do crescimento, mas estes efeitos não foram mediados por mudanças plasmáticas da leptina, já que o conteúdo energético do etanol não permitiu alterações plasmáticas da mesma, como também não estimulou a atividade adrenal basal <sup>44</sup>.

Pesquisa em hamsters fêmeas, da raça siriana “golden”, com o propósito de determinar os padrões de preferência a diferentes concentrações alcoólicas, observou que, à medida que as concentrações alcoólicas aumentavam, a ingestão calórica advinda da ração alimentar declinava; no entanto, a ingestão calórica total foi relativamente constante, independente dos padrões de preferência pelo etanol <sup>45</sup>.

Sforcin et al.(1997)<sup>46</sup>, estudando o perfil bioquímico e a morfologia do ovário de ratas submetidas a consumo prolongado do álcool (45 e 60 dias), verificaram redução do consumo de ração e de peso nos animais expostos a soluções de aguardente com crescentes concentrações (30%, 60%, 75%) e aguardente pura, a partir dos 30 dias de experimento.

Modelo animal criado para observar os efeitos de um estresse precoce (7 primeiros dias de vida) no consumo voluntário de cerveja e água, em ratos Long Evans de ambos os

sexos, resultou em uma menor ingestão alimentar nos machos expostos ao estresse, no período compreendido entre 42-60 dias de vida, em relação ao grupo controle, como também um menor peso corporal nestes animais, em todo o período experimental (85 dias). Nas fêmeas, houve poucas diferenças na ingestão alimentar, que variou, em alguns dias do experimento, entre os grupos experimentais; conseqüentemente, não houve diferenças significativas do peso corpóreo nos grupos estudados <sup>20</sup>.

Estudo para caracterizar o estado nutricional e o balanço hídrico de ratos durante e depois do consumo de uma dieta líquida com etanol, <sup>32</sup> constatou diminuição no consumo da dieta e menor peso nos grupos expostos à droga, associado com um progressivo aumento na concentração alcoólica da dieta <sup>47</sup>. Em outro estudo, utilizando a mesma dieta, com crescentes concentrações alcoólicas, comparando o consumo alcoólico entre machos e fêmeas (ovariotectomizadas e falso-ovariotectomizadas), observou-se que os machos pesaram mais, em todo o período experimental; porém, entre as fêmeas, as ovariectomizadas pesaram mais que as falso-ovariotectomizadas, embora estes dois grupos tenham consumido equivalentes quantidades de dieta e calorias <sup>31</sup>.

### **Que doenças podem ocorrer entre machos e fêmeas que consomem etanol?**

Sabe-se, há muito tempo, que o consumo do álcool é responsável por aumentar a injúria e levar à morte <sup>48</sup>. Recentes pesquisas têm contribuído substancialmente para o entendimento das relações entre as bebidas e doenças específicas, e mostrado que a relação entre consumo de álcool e doença é complexa e multidimensional. O uso prolongado do álcool leva a múltiplas anormalidades clínicas, bioquímicas e eletrofisiológicas, que estão associadas com doenças do fígado, sistema neuromuscular, coração e cérebro <sup>3,49</sup>.

Epidemiologicamente, tem sido demonstrado que as mulheres são mais susceptíveis do que os homens às doenças induzidas pelo consumo do álcool, incluindo as hepáticas, cardiovasculares e cerebrais <sup>50</sup>.

Jäverläinen et al. (1999)<sup>51</sup>, em estudo com ratos alimentados com dieta líquida contendo etanol, pobre em carboidratos e rica em gorduras, encontraram lesões no fígado (esteatose panlobular e inflamação focal), após seis semanas de administração alcoólica. Este modelo também foi aplicado em ratas, para investigar se eram mais susceptíveis à doença alcoólica hepática, bem como o envolvimento dos hormônios gonadais <sup>52</sup>; foram encontradas lesões mais severas nas fêmeas do que nos machos, comprovando a contribuição dos estrógenos na doença hepática.

Outro experimento, para verificar como o estrógeno ovariano afetaria a doença hepática induzida pelo álcool, observou aumento nos níveis da alanino-aminotransferase (ALT), como também esteatose hepática nas ratas que consumiam etanol. Entretanto, estes danos foram prevenidos largamente nos animais ovariectomizados e revertidos no grupo que recebeu reposição de estrógeno. Também foi encontrada menor infiltração de leucócitos e necrose nas ratas ovariectomizadas; igualmente, não houve aumento no RNAm CD14 do fígado destes animais, ao contrário do que ocorreu com aquelas ratas que receberam reposição hormonal (estrógeno). Esses achados indicam que o estrógeno intrínseco exerce uma importante função na doença hepática induzida pelo álcool, nas fêmeas <sup>53</sup>.

Em estudo para avaliar a diferença na expressão do receptor hepático alfa-interleucina-6, em ratos de ambos os sexos, consumindo etanol, foi verificado aumento na ativação deste receptor, maior nas fêmeas do que nos machos. Os autores concluíram que estes achados confirmam a associação entre inflamação e injúria hepática induzida pelo



álcool, alertando para os possíveis mecanismos pelos quais as fêmeas desenvolvem mais severamente a doença alcoólica hepática do que os machos <sup>54</sup>.

A associação entre alcoolismo e disfunção cardíaca tem sido estudada <sup>55</sup>. A doença alcoólica cardíaca parece ser mais comum nas fêmeas <sup>56</sup>, caracterizada por alterações que incluem: aumento do volume e peso cardíaco, dilatação das câmaras e hipertrofia ventricular esquerda <sup>57</sup>.

Estudo experimental com ratas Wistar adolescentes (50 dias de vida), utilizando cronicamente aguardente extraída da cana-de-açúcar, durante 60 dias, não resultou em alteração do peso cardíaco úmido, nem aumento do diâmetro dos vasos coronarianos, como também não foi observada presença de áreas de depósitos de colágeno nos espaços perivascular e intersticial no exame histomorfológico. Porém, foi encontrado aumento significativo do número de vasos coronarianos, acarretando uma maior oxigenação do músculo cardíaco, minimizando assim as lesões provocadas pelo álcool <sup>58</sup>.

O consumo crônico de etanol leva a uma progressiva disfunção da contração cardíaca e parece que esta doença muscular é mais pronunciada em machos do que em fêmeas <sup>59</sup>. Licheri et al. (2001)<sup>60</sup>, observando se o consumo voluntário de etanol (12% v/v) em longo prazo (26 semanas), por ratos da raça “alcohol-preferring Sardinian” (sP) induzia um prejuízo na performance do músculo papilar cardíaco, encontraram um maior peso seco relativo do coração nos ratos expostos ao álcool, provavelmente devido a uma hipertrofia cardíaca nestes animais ou a um menor ganho em peso que poderia afetar este tecido. Observaram também uma menor tensão em toda a extensão muscular, em comparação aos animais que não tiveram acesso à droga, e uma diminuição na relação de força-freqüência para os animais do grupo etanol.

Em moderadas ou altas doses, o etanol produz disfunções cognitivas em humanos<sup>61</sup> e roedores <sup>62</sup>, diminuindo a velocidade do processo de informação, o que prejudica a atenção e a memória <sup>63</sup>. O consumo crônico pode levar a graves distúrbios neurológicos e mentais, muitas vezes com decréscimo do número das células cerebrais e cerebelares, em humanos e animais <sup>64,65</sup>.

Num estudo estereológico das células de Purkinje cerebelares de ratos Wistar que receberam solução alcoólica nas concentrações de 4%, 12% e 24%, foram observadas alterações morfológicas no corpo celular do neocórtex cerebelar, a partir de 4 semanas de experimento<sup>66</sup>. Este fenômeno pode interferir e prejudicar a modulação das informações aferentes que chegam ao córtex cerebelar, bem como a integração neuronal de todas as informações recebidas pelo corpo e controle dos movimentos musculares corporais <sup>67</sup>.

Pontes-Filho (2003)<sup>68</sup>, investigando as alterações morfométricas e histoquímicas de ratos jovens (40 dias), submetidos ao álcool e à desnutrição durante a lactação, encontrou diminuição do peso encefálico e modificações do padrão citomorfológico do córtex cerebral, com aumento do número, da área do soma e da densidade de neurônios NADPH-d positivos e da sua densidade neuroglial no córtex posterior, revelando assim um prejuízo no desenvolvimento cerebral perinatal.

A miopatia alcoólica é uma patologia comum, que afeta de 40% a 60% de todos os alcoolistas crônicos <sup>69,70</sup>. Ela é caracterizada, em ambos, humanos e ratos, pela redução da síntese protéica no músculo esquelético, RNA total e conteúdo protéico, e, mais especificamente, no conteúdo protéico miofibrilar <sup>71</sup>, especialmente nos músculos ricos em fibras musculares do tipo II, como o plantar e o gastrocnêmio <sup>72</sup>.

Pesquisa para quantificar as mudanças bioquímicas nas proteínas citoesqueléticas (nebulina e titina) atribuídas ao consumo do etanol, associado a diferenças de gênero,

constatou miopatia, caracterizada por redução do conteúdo protéico dos músculos gastrocnêmio e plantar, mas não afetou o músculo solear (rico em fibras do tipo I), como também ocorreu uma diminuição na razão RNA/proteína, no músculo plantar. Titina e nebulina estavam diminuídas proporcionalmente à redução da cadeia pesada de miosina (MHC). Esta diminuição no conteúdo de nebulina e titina pode afetar a função muscular, reduzindo a estabilidade do sarcômero e miofibrilas em repouso e durante a contração, o que pode prejudicar a geração e função da tensão muscular. Os resultados também mostraram que as fêmeas são mais susceptíveis do que os machos aos efeitos adversos do álcool na bioquímica do músculo esquelético <sup>73</sup>.

Estudo para analisar a influência da ingestão de aguardente nos tendões de ratos Wistar evidenciou alteração na morfologia da junção músculo-tendínea, bem como deposição de tecido adiposo nas proximidades dessas junções, caracterizando uma desestruturação na interface músculo-tendão <sup>74</sup>.

A afirmação de que o uso do álcool pode levar a doença óssea é atual <sup>75</sup>. No tecido ósseo, em comparação com o de outros órgãos, a concentração de álcool é baixa, mas alterações podem ocorrer, de acordo com o tempo de exposição à droga <sup>76</sup>. Ratos com dietas líquidas contendo álcool apresentaram, histologicamente, reparação de fraturas mais demoradas, associada com diminuição da densidade e conteúdo mineral ósseo <sup>77</sup>.

Em estudo para avaliar, histologicamente, os efeitos do etanol no processo de reparação óssea de ratos submetidos a cirurgia experimental na tíbia, foi verificado que a exposição a esta droga influenciou a neoformação óssea, em todas as suas fases, retardando o preenchimento ósseo <sup>78</sup>.

Nychist et al. (2002) <sup>79</sup>, avaliando as propriedades minerais e mecânicas de ossos de ratos Sprague-Dawley com 70 dias de vida, expostos a dieta líquida com etanol <sup>32</sup> a 15% e

glicose, durante 6 semanas, não encontraram evidência de doença hepática na avaliação histopatológica do fígado. O conteúdo mineral e a densidade óssea foram menores no grupo exposto ao álcool. Não houve diferença nas propriedades mecânicas nem no crescimento e tamanho do fêmur dos animais expostos ao etanol.

Estudo mais recente para observar a inibição do reparo ósseo em ratos expostos a doses excessivas de etanol (36%) administrado em dieta líquida <sup>32</sup>, cronicamente (6 semanas antes e 7 semanas depois do dano ósseo) constatou significativa deficiência do reparo ósseo <sup>80</sup>.

## **Conclusões**

Esta revisão possibilitou avaliar as variações decorrentes do consumo voluntário de bebidas alcoólicas em animais de ambos os sexos, bem como suas repercussões no organismo de animais expostos ao etanol.

Os achados sugerem que as fêmeas apresentam uma ingestão alcoólica superior aos machos, nas diferentes idades estudadas, porém os machos revelam maior preferência em relação a água pelo álcool do que as fêmeas.

Em relação à ingestão alimentar, os trabalhos foram unânimes em demonstrar uma relação inversamente proporcional, ou seja: diminuição no consumo alimentar x aumento nas concentrações alcoólicas.

Quanto à influência de um agente estressor no consumo do álcool, as pesquisas revelam diferenças entre machos e fêmeas, que parecem variar em função da raça e idade.

No que diz respeito à indução de doenças, o consumo do etanol pode alterar, direta ou indiretamente, o aparecimento de várias patologias, nos diversos órgãos; contudo, as

fêmeas parecem ser mais susceptíveis a elas, devido à farmacocinética do álcool neste sexo, além das interferências hormonais envolvidas.

## Referências Bibliográficas:

- 1- Bermond II DM, Tose H. Consumo de bebidas alcoólicas: interações com o benzeno e outras substâncias de uso ocupacional. Rev Psiq Clín 2000; 27(2): 25-70.
- 2- Ministério da Saúde. Secretaria Nacional Antidrogas. Álcool: o que você precisa saber. Brasília, 2000. (Série Diálogo, n.6).p.26.
- 3- Room R, Babor T, Rehm J. Alcohol and public health. The Lancet 2005; 365(9458): 519-30.
- 4- Spanagel R. Recent animal models of alcoholism. Alcoh Res Health 2000; 24(2): 124-31.
- 5- Kartner SN, Magalong JG, Weiss F. Reinstatement of alcohol-seeking behavior by drug-associated discriminative stimuli after prolonged extinction in the rat. Neuropsychopharm 1999; 20: 471-9.
- 6- Woffgramm J, Heyne A. From controlled drug intake to loss of control : The irreversible development of drug addiction in the rat. Behav Brain Res 1995; 70: 77-94.
- 7- Rood-Henricks ZA, Bell RL, Sable HJK, Murphy JM, McBride WJ. Recent advances in animal models of alcohol craving and relapse. Pharmacol Biochem Behav 2004; 79: 439-50.
- 8- Crabbe JC, Wahlstend D, Dudek BC. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. Science 1999; 284: 1670-2.
- 9- Eriksson K. Genetic selection for voluntary alcohol consumption in the albino rat. Science 1968; 159: 739-41.

- 10- McBride WJ, Li T-K. Animal models of alcoholism: neurobiology of high alcohol drinking behavior in rodents. *Crit Rev Neurobiol* 1998; 12: 339-69.
- 11- Colombo G. Esbra - Nordmann 1996. Award lecture: ethanol drinking behavior in Sardinian alcohol-preferring rats. *Alcoh Alcohol* 1997; 32:443-53.
- 12- Adams N, Shihabi ZK, Blizard DA. Ethanol preference in the Harrington derivation of the Maudsley reactive and nonreactive strains. *Alcoh Clin Exper Res* 1991; 15: 170-4.
- 13- Adams N. Sex difference and the effects of tail Pinch on ethanol drinking in Maudsley rats. *Alcohol* 1995; 12(5): 463-8.
- 14- Juárez J, Tomasi EB. Sex difference in alcohol drinking patterns during forced and voluntary consumption in rats. *Alcohol* 1999; 19 (1): 15-22.
- 15- Kalant H. Pharmacokinetics of ethanol: absorption, distribution and elimination. In: Kissin B, Begleiter H., eds. *The pharmacology of alcohol and alcohol dependence*. New York: Oxford University Press; 1996. p. 15-58.
- 16- Lancaster FE. Gender differences in the brain: implications for the study of human alcoholism. *Alcoh Clin Exper Res* 1994; 18: 740 - 6.
- 17- Seitz HK, Meydani M, Ferschke I, Simanowski UA, Boesche J, Bigusz M, et al. Effect aging on in vivo and in vitro ethanol metabolism and its toxicity in F344 rats. *Gastroenterology* 1989; 97: 446-56.
- 18- Kim YC, Kim SY, Sohn YR. Effect of age increase on metabolism and toxicity of ethanol in female rats. *Life Sci* 2003; 74: 509-19.

- 19- Satinder KP. Interactions of age, sex and long-term alcohol intake in selectively bred strains of rats. *J Study Alcoh* 1975; 36: 1493-507.
- 20- Lancaster FE. Sex difference in voluntary drinking by Long Evans Rats following early stress. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22(4): 830-6.
- 21- Chester JA, Barrenha GP, DeMaria A, Finegan A. Different effects of stress on alcohol drinking behaviour in male and female mice selectively bred for high alcohol preference. *Alcoh Alcohol* 2006; 41(1): 44-53.
- 22- Conger JJ. Alcoholism : theory, problem and challenge. II. Reinforcement theory and dynamics of alcoholism. *Quart J Stud Alcoh* 1956; 17:296-305.
- 23- Bell RL, Rodd ZA, Sable HJK, Schultz JA, Hsu CC, Lumeng L, et al. Daily patterns of ethanol drinking in peri-adolescent and adult alcohol-preferring (P) rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 83: 35-46.
- 24- Blizard DA, Vandenbergh DJ, Jefferson AL, Chatlos CD, Vogler GP, McClearn GE. Effects of periadolescent ethanol exposure on alcohol preference in two BALB substrains. *Alcohol* 2004; 34: 177-85.
- 25- Roberts AJ, Heyser CJ, Cole M, Griffin P, Koob GF. Excessive ethanol drinking following a history of dependence: animal model of allostasis. *Neuropsychopharm* 2000; 22: 581-94.
- 26- Marfaing-Jallat P, Le Magnen J. Induction of high voluntary ethanol intake in dependent rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1982; 17: 609-12.
- 27- Pohorecky LA. Animal analog of alcohol dependence. *Fed Proc* 1981; 40: 2056-64.



- 28- Terenina-Rigaldie E, Jones BC, Mormède P. The high-ethanol preferring rat as a model to study the shift between alcohol abuse and dependence. *Eur J Pharmacol* 2004; 504: 199-206.
- 29- Bell RL, Rodd-Henricks ZA, Kuc KA, Lumeng L, Li T-K, Murphy JM, McBride WJ. Effects of concurrent access to a single concentration or multiple concentrations of ethanol by male and female periadolescent alcohol-preferring (P) rats. *Alcohol* 2003; 29: 137-48.
- 30- Bell RL, Rodd-Henricks ZA, Hsu CC, Lumeng L, Li T-K, Murphy JM, McBride WJ. Effects of concurrent access to a single concentrations or multiple concentrations of ethanol intake by periadolescent high-alcohol-drinking rats. *Alcohol* 2004; 33: 107-15.
- 31- Piano MR, Carrigan TM, Schwertz DW. Sex differences in ethanol liquid consumption in Sprague-Dawley rats. *Alcohol* 2005; 35: 113-8.
- 32- Lieber C, DeCarli L. Liquid diet technique of ethanol administration. *Alcoh Alcohol* 1989; 24: 197-211.
- 33- Tomie A, Hosszu R, Rosenberg RH, Gittleman J, Patterson-Buckendahl P, Pohorecky LA. An inter-gender effect on ethanol drinking in rats: Proximal females increase ethanol drinking in males. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 83: 307-13.
- 34- Da Silva GE, Ramos A, Takahashi RN. Comparison of voluntary ethanol intake by two pairs of rat lines used as genetic models of anxiety. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37: 1511-7.
- 35- Ramos A, Kangarski AL, Basso PF, Santos JES, Assreuy J, Vendruscolo LF, et al. Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. *Behav Brain Res* 2002; 129: 113-23.

- 36- Hirata ES, Hirata LC. Bioquímica e metabolismo do etanol. In: Fortes JRA, Cardo WN. Alcoolismo: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Sarvier; 1991.p. 57-64.
- 37- Reidelebrg RD, Tuma DJ, Woltaman TA, Donohue-Jr TM. Feeding patterns of rats chronically ingesting an ethanol-containing liquid diet. *Alcoh Clin Exper Res* 1996; 20: 1275-82.
- 38- Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1996; 269: 546-9.
- 39- Frederich RC, Lollmann B, Hamann A, Napolitano-Rosen A, Kahn BB, Lowell BB. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. *J Clin Invest* 1995; 96: 1658-63.
- 40- Trayhurn P, Thomas ME, Duncan JS, Rayner DV. Effects of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean and obese (ob/ob) mice. *Febs Letters* 1995; 368: 488-90.
- 41- Zakrzewska KE, Cusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: Toward an understanding of leptin resistance. *Diabetes* 1997; 46: 717-9.
- 42- Rivier C. Alcohol stimulates ACTH secretion in the rat: mechanism of action and interaction with other stimuli. *Alcoh Clin Exper Res* 1996; 20;240-54.
- 43- Ogilvie KM, Rivier C. Gender difference in alcohol-evoked hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat: Ontogeny and role of neonatal steroids. *Alcoh Clin Exper Res* 1996; 20: 255-61.

- 44- Strbák V, Benický J, Macho L, Jezová D, Nikodémová M. Four-week ethanol intake decrease food intake and body weight but does not affect plasma leptin, corticosterone, and insulin levels in pubertal rats. *Metabolism* 1998; 47(10): 1269-77.
- 45- Piercy KT, Myers RD. Female Syrian Golden hamster: drinking of high concentrations of ethanol aversive to other mammals. *Alcohol* 1995; 12(3): 207-11.
- 46- Sforcin JM, Monteiro CMR, Lopes CEF, Sapatara AC, Ferreira WJN. Perfil bioquímico e análise morfológica do ovário de ratas submetidas a consumo prolongado de álcool. *Rev Ciênc Bioméd* 1997; 18:69-81.
- 47- Piano MR, Artwohl J, Kim SD, Gass G. The effects of a liquid diet on nutritional status and fluid balance in the rat. *Alcohol* 2001; 36(4): 298-303.
- 48- Pearl R. *Alcohol and longevity*. New York: Knopf; 1926.
- 49- Spencer H, Rubio N, Rubio E, Indreika M, Seitam A. Chronic alcoholism. Frequently overlooked cause of osteoporosis in men. *Amer J Med* 1986; 80(3): 393-7.
- 50- Sato N, Lindros KO, Baraona E, Ikejima K, Mezey E, Jäverläinen HA, et al. Sex difference in alcohol-related organ injury. *Alcohol Clin Exper Res* 2001; 25(5): 40S-5S.
- 51- Jäverläinen HA, Fang C, Ingelman-Sundberg M, Lindros KO. Effect of chronic co-administration of endotoxin and ethanol on rat liver pathology and pro-and anti-inflammatory cytokines. *Hepatology* 1999; 29: 1503-10.

- 52- Jäverläinen HA, Fang C, Ingelman-Sundberg M, Lukkari TA, Sippel H, Lindros KO. Kupffer cell inactivation alleviates ethanol-induced steatosis and CYP2E1 induction but not inflammatory responses in rat liver. *J Hepat* 2000; 32:900-10.
- 53- Yin M, Ikejima K, Wheller MD, Bradford BU, Seabra V, Forman DT, et al. Estrogen is involved in early alcohol-induced liver injury in a rat enteral feeding model. *Hepatology* 2000; 31:117-23.
- 54- Gallucci RM, Sloan DK, O'Dell SJ, Reinke LA. Differential expression of liver interleukin-6 receptor-alpha in female versus male ethanol-consuming rats. *Alcohol Clin Exper Res* 2004; 28(3):365-73.
- 55- Urbano-Márquez A, Estruch R, Fernandez-Solá J, Nicolás JM, Paré JC, Rubin E. The greater risk of alcoholic cardiomyopathy and myopathy in woman compared with men. *JAMA* 1995; 274: 149-54.
- 56- Brody T. *Alcohol*. 9th ed. London: Academic Press; 1998. p. 201-20.
- 57- Meehan J, Piano MR, Solaro RJ, Kennedy JM. Heavy long-term ethanol consumption induces an alpha-to beta—myosin heavy chain isoform transition in rat. *Bas Res Cardiol* 1999; 94: 481-8.
- 58- Brito ASC, Melo-Júnior MR, Araújo-Filho JLS, Patu VJRM, Pontes-Filho NT. Exposição de ratas adultas a doses crônicas de aguardente: estudo ponderal e histomorfológico do coração. *An Fac Med - UFPE* 2005; 50(2): 100-3.
- 59- Kennedy RH, Liu SJ. Sex differences in L-type calcium current after chronic ethanol consumption in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003; 189(3): 196-203.
- 60- Licheri D, Vargiu R, Fadda F, Fabrizi A, Mancinelli R. Long-term voluntary ethanol consumption induces impairment of the mechanical performance in the

- papillary muscle of sardinian alcohol-preferring rats. *Alcohol* 2001; 36(1): 44-7.
- 61- Parsons OA. Neuropsychological deficits in alcoholics: Facts and fancies. *Alcohol Clin Exper Res* 1977; 1:51-6.
- 62- Swartzwelder HS, Wilson WA, Tayyeb MI. Differential sensitivity on NMDA receptor-mediated synaptic potentials to ethanol in immature versus mature hippocampus. *Alcohol Clin Exper Res* 1995; 19:320-3.
- 63- Mayler EA, Rabbitt PMA, Kingston AF. Effects of alcohol on lexical access. *Psychopharmacology* 1988; 95:119-23.
- 64- Chen W-JA, Parnell SE, Wets JR. Early postnatal alcohol exposure produced long-term deficits in brain weight, but not the number of neurons in the locus coeruleus. *Develop Brain Res* 1999; 118: 33-8.
- 65- Tabbaa S, Dlugos CA, Pentney RJ. The number of granule cells and spine density on Purkinje cells in aged, ethanol-fed rats. *Alcohol* 1999; 17: 253-60.
- 66- Bauer-Moffet C, Altman J. The effect of ethanol chronically administered to preweanling rats on cerebellar development: a morphological study. *Brain Res* 1977; 119: 249-68.
- 67- Apfel MIR, Ésberard CA, Rodrigues FKP, Bahamad-Júnior FM, Sillero RO. Estudo estereológico das células de Purkinje cerebelares submetidas à intoxicação alcoólica em ratos Wistar. *Arq Neuropsiq* 2002, 60: (2-A): 258-63.
- 68- Pontes-Filho NT. Morfometria e histoquímica do córtex cerebral de ratos jovens submetidos ao álcool e à desnutrição (Dissertação). Recife: UFPE:2003.

- 69-Preedy VR, Peters TJ. Acute effects of ethanol on protein synthesis in different muscles and muscle protein fractions of the rat. *Clin Sci* 1988;74:461-6.
- 70-Preedy VR, Adachi J, Ueno Y, Ahmed S, Mantle D, Mullatti N, et al. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis. *Eur J Neurol* 2001; 8 :677-87.
- 71-Reilly ME, McKoy G, Mantle D, Peters TJ, Goldspink G, Preedy VR. Protein and mRNA levels of the myosin heavy chain isoforms 1 $\beta$ , IIa, IIx, and IIb in Type I and Type II fiber-predominant rat skeletal muscles in response to chronic alcohol feeding. *J Muscle Res Cell Mot* 2000; 21: 763-73.
- 72-Preedy VR, Peters TJ. The effects of chronic ethanol ingestion on protein metabolism in type-I and type-II-fiber-rich skeletal muscles of the rat. *Biochem J* 1988; 254: 631-9.
- 73-Hunter RJ, Neagoe C, Jáverläinen HA, Martin CR, Lindros KO, Linke WA, et al. Alcohol affects the skeletal muscle proteins, Titin and Nebulin in male and female rats. Nutrient interactions and toxicity research communication. *J Nutr* 2003; 133: 1154-7.
- 74-Pereira KF, Conegero CI. Interface músculo-tendínea de ratos induzidos a ingestão alcoólica. *Acta Scient Biol Sci* 2004; 26(3): 361-4.
- 75-Bikle DD. Alcohol-induced bone disease. *World Rev Nutr Diet* 1993; 73: 53-79.
- 76-Fish VB, Nelson VE. The distribution of alcohol in the tissues of the rat. *Proc Iowa Acad Sci* 1942; 49: 263-7.

- 77- Elmali N, Ertem K, Ozen S, Inan M, Baysal T, Guner G et al. Fracture healing and bone mass in rats fed on liquid diet containing ethanol. *Alcohol Clin Exper Res* 2002; 26(4): 509-13.
- 78- Buchaim RL, Buchaim DV, Ustulin DR, Roque DD, Andreo JC, Roque JS. Avaliação histológica dos efeitos do álcool no reparo ósseo da tíbia de ratos. *Arq Ciênc Saúde* 2004; 11(3): 142-5.
- 79- Nychist F, Düppe H, Obrant KJ, Bondeson L, Nordsletten L. Effects of alcohol on bone in male rats. *Alcohol* 2002; 37(1): 21-4.
- 80- Chakkalakal DA, Novak JR, Fritz ED, Mollner TJ, McVicker DL, Garvin KL, et al. Inhibition of bone repair in a rat model for chronic and excessive alcohol consumption. *Alcohol* 2005; 36: 201-14.

***INGESTÃO ALCOÓLICA COM MÚTIPLAS CONCENTRAÇÕES EM RATOS PERI-  
ADOLESCENTES DE DIFERENTES GÊNEROS***



TÍTULO DO ARTIGO ORIGINAL:

**INGESTÃO ALCOÓLICA COM MÚLTIPLAS CONCENTRAÇÕES EM RATOS PERI-ADOLESCENTES DE DIFERENTES GÊNEROS**

AUTORES:

Luciana Gonçalves de Orange<sup>1\*</sup>

Francisca Martins Bion<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup> Mestranda em Nutrição pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>(2)</sup> Professora Associada I do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>(\*)</sup> Para quem a correspondência deve ser enviada. Endereço: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição – Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), Cidade Universitária, Recife – PE, CEP: 50.670-901. E-mail: luciana\_orange@hotmail.com

## RESUMO

Neste estudo foi avaliado os efeitos da ingestão alimentar e alcoólica sobre o estado nutricional e metabólico de ratos peri-adolescentes de diferentes sexos, submetidos a uma única (15%) e múltiplas (10%, 20%, 30%) concentrações de soluções hidroalcoólicas de aguardente associadas a uma mistura alimentar. Utilizou-se 36 ratos peri-adolescentes da linhagem Wistar, randomizados em três grupos: 0% etanol (ETOH) / controle- GA (N= 12 - 6 machos e 6 fêmeas); 15% ETOH / GB (N= 12 - 6 machos e 6 fêmeas); 10%, 20%, 30% ETOH / GC ( N= 12 - 6 machos e 6 fêmeas). Analisou-se: consumo alimentar, peso corporal, ingestão de água(ml) e de etanol (g/Kg/dia), preferência do etanol sobre a água e entre as concentrações, dosagens bioquímicas séricas (glicose, colesterol total, LDL-C, HDL-C, VLDL, Triglicerídeos, CT/HDL, albumina). Machos do GC consumiram mais ração do que as fêmeas que diminuiu durante as semanas estudadas, como também apresentaram peso corpóreo superior, que foi aumentando por todo o período experimental; os animais ingeriram mais água na primeira semana de experimento e as fêmeas nesta semana superaram os machos; os ratos do GC tiveram ingestão de etanol e preferência maior do etanol sobre a água do que os do GB em ambos os sexos, que foi diminuindo durante as semanas subsequentes; a glicose sérica foi menor no GA, a relação CT/HDL foi menor no GC. Os achados permitem concluir que as repercussões nutricionais e metabólicas do álcool, diferem entre os sexos e entre as formas de exposição a droga. Salienta-se a importância de alertar a população para as concentrações alcoólicas consumidas, que podem interferir no crescimento e desenvolvimento dos peri-adolescentes, comprometendo a sua qualidade de vida.

Palavras-chave: Ratos Wistar; Etanol, Gênero; Adolescente, Estado nutricional; Perfil bioquímico.

## ABSTRACT

This study evaluates the effects of food and alcohol ingestion on the nutritional and metabolic conditions of peri-adolescent (around adolescence) rats of both genders (sex), under a single (15%) and multiple (10%, 20%, 30%) concentrations of hydro-alcoholic solutions of brandy associated with a food mixture. We used 36 peri-adolescent rats from the Wistar lineage, randomly divided into three groups: 0% ethanol (ETOH) / control- GA (N=12 – 6 males and 6 females); 15% ETOH / GB (N=12 – 6 males and 6 females); 10%, 20%, 30% ETOH / GC (N= 12 – 6 males and 6 females). We paid attention to: food intake, body weight, water ingestion (ml) and ethanol ingestion (g/Kg/day), preference of ethanol over water and among concentrations, serial biochemical dosing (glucose, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, VLDL, Triglyceride, CT/HDL, albumin). GC males ate more food than the females which diminished during the following weeks, they also showed a superior body weight, which increased throughout the experimental period; the animals ingested more water in the first experimental week and the females surpassed the males that week; GC rats ingested more ethanol and favored a bigger amount of ethanol over water than the GB mice of both genders, which decreased on following weeks; blood glucose was lower in GA, CT/HDL relation was smaller in GC. Facts allow us to conclude that the nutritional and metabolic repercussions of alcohol differ between genders and drug exposure ways. We stress the importance of alerting the population to the alcohol concentrations ingested, which can interfere in the nutritional condition compromising life quality.

Key-words: Wistar rats; Ethanol, Gender/ Sex; Adolescent, Nutritional state; biochemical profile.

## 1. INTRODUÇÃO

Historicamente, vários modelos animais têm sido utilizados para avaliar os efeitos fisiológicos e comportamentais do alcoolismo (Myers, 1978; Myers e Privette, 1989; Myers e Veale, 1972).

Os desenhos experimentais de preferência ao consumo do álcool, possibilitando aos roedores a livre escolha entre água e soluções alcoólicas, apurando-se as quantidades consumidas de cada fluído, são usualmente utilizados como tentativas de aproximação do consumo de bebidas alcoólicas por humanos; esses modelos demonstram poucas variações, mesmo em pesquisas conduzidas em diferentes condições laboratoriais (Spanagel, 2000; Crabbe et al., 1999).

A sensibilidade ao etanol varia com a idade (Sircar e Sircar, 2006), com taxa metabólica menor em ratos jovens do que nos adultos (Silveri e Spear, 2000). Os ratos adolescentes são mais propensos ao desenvolvimento de aguda (Silveri e Spear, 1998) e crônica (Swartzwelder et al., 1998) tolerância ao etanol, quando comparados com os animais adultos. Pesquisas com modelos animais indicam claramente que, comparados com adultos, os adolescentes apresentam diferenças na susceptibilidade aos efeitos neuro-comportamentais de exposição crônica ao álcool (Acheson et al., 1999; Crews et al., 2000; Slawecki et al., 2001; White et al., 2000). Os efeitos comportamentais do etanol são também específicos, conforme a idade do animal. Os ratos adolescentes demonstram maiores prejuízos na memória espacial do que os ratos adultos (Markwiese et al., 1998; Sircar e Sircar, 2005)

As diferenças no consumo do álcool pelos diferentes gêneros e linhagens de ratos, têm sido extensivamente estudadas (Adams, 1995; Almeida et al., 1998; Bell et al., 2003;

Juárez e Tomasi, 1999). Em geral, e em contraste com os humanos, os resultados sugerem que as ratas de várias linhagens consomem mais etanol, quando medido em mililitro ou gramas de etanol por quilograma de peso por dia (g/Kg/dia), do que os machos da mesma linhagem (Almeida et al., 1998; Cailhol e Mormede, 2001; Ford et al., 2002; Lancaster e Spiegel, 1992; Li e Lumeng, 1984). Considerando as influências hormonais dos sexos, os achados têm sido contraditórios (Piano et al., 2005). Há diferenças de sexo, relacionadas à farmacocinética do etanol, que podem influenciar diferentemente os padrões de consumo do álcool. Esses fatores aumentam a susceptibilidade das fêmeas a desenvolverem doenças relacionadas ao consumo do álcool (Sato et al., 2001).

Os achados apontam o fato indiscutível de que o consumo de bebidas alcoólicas atinge faixas etárias cada vez mais precoces, em ambos os sexos, o que tem motivado, nas últimas décadas, um interesse acentuado pelo estudo do tema, ainda relativamente pouco conhecido, com inúmeras implicações por desvendar.

Desta forma, o escopo deste trabalho foi observar as preferências no consumo de solução alcoólica com diferentes concentrações, derivada de bebida alcoólica de largo consumo no Nordeste brasileiro, associada a alimentos regionais, por ratos peri-adolescentes de sexos diferentes, como também avaliar suas repercussões nutricionais e bioquímicas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### *Animais e dieta*

Foram utilizados 36 ratos periadolescentes (18 machos e 18 fêmeas) da linhagem Wistar (**Norvegicus**, variedade *Albinus*), do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), mantidos em condições-padrão de iluminação (12h claro / 12h escuro), temperatura constante de  $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  (Merusse e Lapichick, 1996). O protocolo experimental desenvolvido no presente trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (Ceea) do Centro de Ciências Biológicas, UFPE – ofício nº 03/07.

Os animais, no 30º dia pós-natal, receberam uma mistura alimentar como forma exclusiva de alimentação, sendo randomizados em três grupos, de acordo com o tratamento: 0% etanol (ETOH) / controle- GA (N= 12 - 6 machos e 6 fêmeas); 15% ETOH- GB (N= 12 - 6 machos e 6 fêmeas); 10%, 20%, 30% ETOH-GC ( N= 12 – 6 machos e 6 fêmeas). Esses teores alcoólicos foram mantidos por um período de 30 dias. Em todos os grupos, os animais, mantidos em gaiolas individuais, receberam mistura alimentar, uma garrafa com água e, de acordo com o grupo estudado, soluções hidroalcoólicas de aguardente de cana-de-açúcar (v/v) correspondentes.

A mistura alimentar foi composta pelos seguintes alimentos regionais: feijão carioquinha (*Phaseolus vulgaris L.*), arroz polido (*Oriza sativa L.*), farinha de mandioca (*Manihot esculenta crantz*), frango de granja ( *Gallus galináceo*) e óleo de soja. A composição centesimal dos alimentos utilizados na dieta foi determinada segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz – IAL (1985).

O feijão, o arroz e o frango foram cozidos em água, separadamente, durante 2 horas, posteriormente dessecados em estufa (60°C), por 12h, e pulverizados em moinho (Floor Grind – Chuo Boeki Kaisha), para obtenção das respectivas farinhas. Preparou-se a dieta experimental semanalmente, ficando estocada em temperatura adequada.

A tabela 1 expressa a composição da dieta, equilibrada de acordo com o American Institute of Nutrition - AIN (1993), para a fase de crescimento (Reeves et al., 1993).

**Tabela 1 – Composição da dieta experimental**

| Constituintes<br>(g)               | Quantidade         | Nutrientes (g/100g) |                    |                   |                   |             |                   |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------|-------------------|
|                                    |                    | Proteínas           | Carboidratos       | Lipídios          | Minerais          | Vitaminas   | Fibras            |
| Feijão <sup>a</sup>                | 12,00              | 2,83 <sup>d</sup>   | 7,90 <sup>d</sup>  | 0,17 <sup>d</sup> | 0,50 <sup>d</sup> | -           | 0,71 <sup>d</sup> |
| Arroz <sup>a</sup>                 | 10,00              | 0,75 <sup>d</sup>   | 9,05 <sup>d</sup>  | 0,03 <sup>d</sup> | 0,09 <sup>d</sup> | -           | 0,01 <sup>d</sup> |
| Frango <sup>a</sup>                | 12,00              | 10,50 <sup>d</sup>  | 0,60 <sup>d</sup>  | 0,39 <sup>d</sup> | 0,48 <sup>d</sup> | -           | -                 |
| Óleo de soja <sup>c</sup>          | 3,40               | -                   | -                  | 3,40              | -                 | -           | -                 |
| Fibra <sup>b</sup>                 | 1,30               | -                   | -                  | -                 | -                 | -           | 1,30              |
| Mistura mineral <sup>b</sup>       | 2,20               | -                   | -                  | -                 | 2,20              | -           | -                 |
| Mistura vitamínica <sup>b</sup>    | 1,00               | -                   | -                  | -                 | -                 | 1,00        | -                 |
| Bitartarato de colina <sup>b</sup> | 0,25               | -                   | -                  | -                 | -                 | -           | -                 |
| Farinha de mandioca <sup>c</sup>   | 57,85 <sup>d</sup> | 0,48 <sup>d</sup>   | 28,10 <sup>d</sup> | 0,06 <sup>d</sup> | 0,24 <sup>d</sup> | -           | 3,25 <sup>d</sup> |
| <b>Total (g)</b>                   | <b>100,00</b>      | <b>14,53</b>        | <b>43,91</b>       | <b>4,05</b>       | <b>3,50</b>       | <b>1,00</b> | <b>5,28</b>       |
| <b>Kcal/100 g</b>                  | <b>270,21</b>      | <b>58,12</b>        | <b>175,64</b>      | <b>36,45</b>      | <b>-</b>          | <b>-</b>    | <b>-</b>          |

<sup>a</sup>Cozido, desidratado e moído. <sup>b</sup>Reeves, Nielsen e Fahey. (49). <sup>c</sup>Obtido no comércio local.

<sup>d</sup>Determinações realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos-UFPE, segundo a metodologia do IAL (20).

## ***Métodos***

Os ratos receberam a mistura alimentar *ad libitum*, e, como fonte de líquidos, sob o sistema de livre escolha: água e soluções hidroalcoólicas a 15% (GB), 10%, 20% e 30% (GC), por um período de 4 semanas.

A ração alimentar, como também os fluídos foram oferecidos diariamente, porém o consumo da dieta e o peso corporal foram monitorados semanalmente. Para o cálculo da ingestão alimentar utilizou-se a quota oferecida da dieta e a rejeitada, tomada 7 dias após o oferecimento.

O peso corporal foi aferido em balança de precisão elétrica, marca Ohaus, capacidade para 2.6/oz, sendo a variação correspondente à diferença entre o peso corporal inicial (30° dia) e ao final de cada semana de experimentação; já o ganho de peso total consistiu na diferença entre o peso do animal ao final do experimento e o peso no início do tratamento.

As ingestões hídrica e etílica corresponderam à quantidade de solução ingerida pelo animal, em ml, diariamente. Para o cálculo, foram utilizadas a quota de água/solução oferecida e a rejeitada, tomada 24 horas após a oferta.

Ao final do período experimental, sob anestesia, os animais foram submetidos a punção cardíaca, para retirada das amostras de sangue destinadas às dosagens bioquímicas de glicose, colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG), realizadas pelo método enzimático de Trinder (1969) (Labtest-Diagnóstica). Nas frações lipoprotéicas: de alta densidade (HDL-C), de muito baixa densidade (VLDL-C) e de baixa densidade (LDL-C) utilizou-se o princípio metodológico empregado por Rautela e Liedtke (1978) (Labtest-Diagnóstica).



Quanto à albumina (ALB), foi dosada pelo método Verde de Bromocresol (Labtest-Diagnóstica) (Peters et al., 1982).

### *Análise estatística*

Para a análise dos dados foram obtidas as medidas estatísticas, média e desvio padrão, para todas as variáveis numéricas analisadas (Técnicas de estatística descritiva), sendo utilizado o modelo Anova, com dois fatores (grupo e sexo) para medidas repetidas, incluindo as correções dos graus de liberdade Greenhouse-Geiser e o modelo Anova para dois fatores, quando a análise foi entre grupos e sexos (Técnicas de estatística inferencial) (Zar, 1999). No caso de diferenças significantes foi utilizado o teste de comparações pareadas de Tukey entre os grupos, as semanas ou as combinações dos fatores, no caso de interação significativa.

A digitação dos dados foi realizada na planilha Excel e a análise utilizou o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), na versão 13. Os testes estatísticos adotaram a margem de erro de 5,0% (Altman, 1991).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1- Consumo alimentar

Observou-se que, em todas as semanas pós-natal estudadas, o consumo alimentar foi maior nos machos do que nas fêmeas (Tabela 2). Em todos os grupos, este parâmetro foi menor na 1ª semana em relação às demais. Com exceção dos machos GA e GC, em todas as demais condições houve diminuição do consumo da primeira até a última semana; entretanto, os valores da última semana foram maiores do que os da primeira semana do experimento. Foi encontrada diferença significativa entre os sexos e entre as semanas pós-natal, como também uma interação semana x grupo e semana x sexo.

**Tabela 2 – Consumo alimentar (gramas) segundo o grupo, gênero e dias pós-natal dos animais**

| Grupo | Sexo   | Tempo de avaliação por período (em dias) |                       |                       |                       | Valor de p  |
|-------|--------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---|
|       |        | 31 a 37<br>Média ± DP <sup>(1)</sup>     | 38 a 44<br>Média ± DP | 45 a 51<br>Média ± DP | 52 a 58<br>Média ± DP |   |
| GA    | Fêmeas | 86,70 ± 8,57                             | 125,76 ± 10,92        | 115,83 ± 16,56        | 96,15 ± 7,36          | p <sub>I</sub> = 0,234<br>p <sub>II</sub> < 0,001*<br>p <sub>III</sub> = 0,676  |
|       | Machos | 123,49 ± 20,15                           | 140,08 ± 6,60         | 140,62 ± 10,78        | 144,80 ± 28,25        |   |
| GB    | Fêmeas | 91,87 ± 8,48                             | 127,05 ± 14,57        | 114,92 ± 6,36         | 94,86 ± 13,00         | p <sub>IV</sub> < 0,001*<br>p <sub>V</sub> = 0,004*<br>p <sub>VI</sub> = 0,003* |
|       | Machos | 117,22 ± 19,96                           | 137,93 ± 6,31         | 148,71 ± 1,41         | 129,21 ± 19,38        |   |
| GC    | Fêmeas | 89,31 ± 8,32                             | 120,48 ± 15,60        | 123,36 ± 15,70        | 120,87 ± 6,84         | p <sub>VII</sub> = 0,409  |
|       | Machos | 113,97 ± 17,49                           | 141,32 ± 5,11         | 147,12 ± 7,06         | 152,88 ± 12,55        |   |

(\*) – Diferença significativa a 5,0%;(1) - DP – Desvio padrão; p<sub>I</sub> = Para a comparação entre os grupos; p<sub>II</sub> = Para a comparação entre os sexos; p<sub>III</sub> = Para a verificação da interação grupo x sexo; p<sub>IV</sub> = Para a comparação entre as semanas; p<sub>V</sub> = Para a verificação da interação semana x grupo; p<sub>VI</sub> = Para a verificação da interação semana x sexo; p<sub>VII</sub> = Para a verificação da interação grupo x semana x sexo.

Em relação ao consumo total do período experimental, em todos os grupos, os machos ingeriram maiores quantidades de ração, demonstrando diferença significativa entre os sexos (p < 0,001). O consumo total foi maior no GC (fêmeas: 454,01±34,34; machos:555,28±35,81) do que nos demais grupos (GA- fêmeas: 424,97±18,27; machos:

549,43±60,45; GB- fêmeas: 428,69±23,92; machos: 533,06±14,68), porém não se comprovou diferença significativa entre os grupos nem interação entre grupo x sexo.

### 3.2- Peso corporal

A curva ponderal, em todos os grupos e em ambos os sexos, indicou aumento de peso durante os dias pós-natal de exposição (Figura 1). Em todos os grupos, durante os dias avaliados, os machos tinham peso superior ao das fêmeas. Em ambos os sexos, o peso do GC foi maior que o do GA e do GB, com exceção das fêmeas, no 58º dia pós-natal. Foram constatadas diferenças significativas entre os sexos ( $p < 0,001$ ), entre os dias de registro do peso ( $p < 0,001$ ), o mesmo ocorrendo acerca da interação dias de avaliação x sexo ( $p < 0,001$ ).

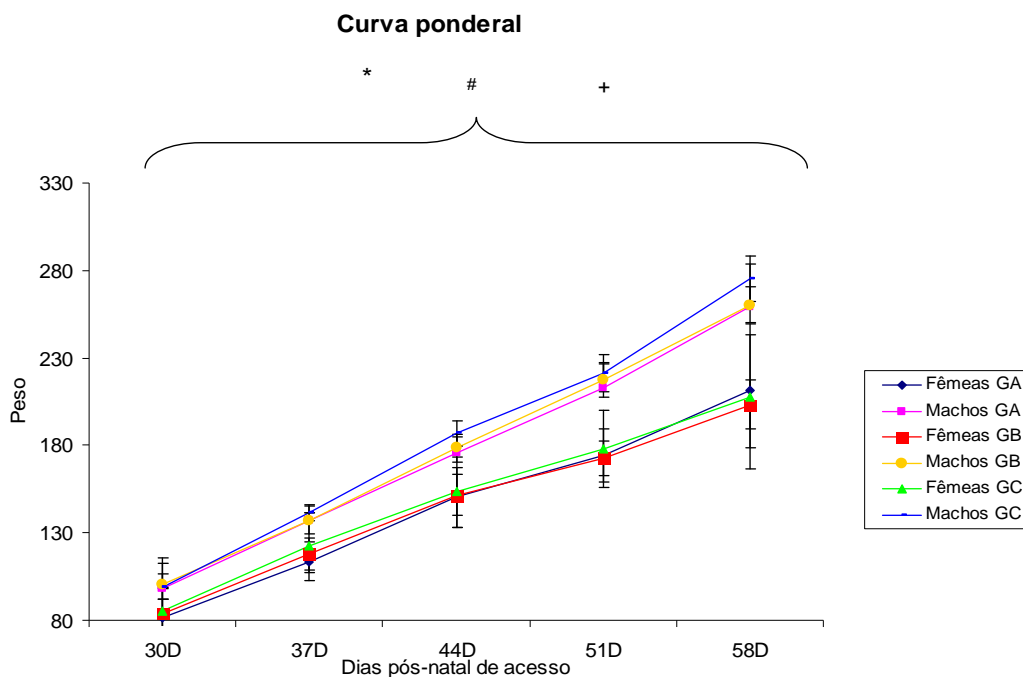


Figura 1- Curva ponderal de ratos periadolescentes de diferentes gêneros expostos a uma única e múltiplas concentrações alcoólicas durante os dias pós-natal. (\*) = Diferença significativa a 5% entre os sexos; (#) = Diferença significativa a 5% entre os dias de registro de peso; (+) = Interação significativa (5%) entre dias de avaliação x sexo.

Em relação ao ganho de peso corpóreo, observou-se superioridade dos machos em relação às fêmeas, em todos os grupos estudados. Entre as fêmeas, o maior ganho em peso foi observado no GA, enquanto nos machos foi no GC. Houve diferença significativa apenas entre os sexos ( $p < 0,001$ ).

### 3.3- Ingestão de água

Em relação à média da ingestão de água durante as semanas de experimento, foi maior na primeira semana, observando-se que as fêmeas ingeriram quantidade superior à dos machos. Os dados apresentados na tabela 3 expressam diferença significativa na ingestão hídrica entre as semanas de experimento. Foi também comprovada a interação semana x sexo. Não houve interação significativa entre os grupos x semanas de exposição.

Tabela 3 – Consumo hídrico segundo o grupo, gênero e dias pós-natal

| Grupo | Sexo   | Tempo de avaliação por período (em dias) |                       |                       |                       | Valor de p  |
|-------|--------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---|
|       |        | 31 a 37<br>Média ± DP <sup>(1)</sup>     | 38 a 44<br>Média ± DP | 45 a 51<br>Média ± DP | 52 a 58<br>Média ± DP |   |
| GA    | Fêmeas | 239,17 ± 43,28                           | 193,17 ± 30,37        | 161,33 ± 21,24        | 173,83 ± 10,61        | p <sub>I</sub> = 0,931<br>p <sub>II</sub> = 0,987<br>p <sub>III</sub> = 0,197<br>p <sub>IV</sub> < 0,001* |
|       | Machos | 189,58 ± 61,51                           | 164,33 ± 20,99        | 163,33 ± 23,99        | 163,50 ± 27,90        |   |
| GB    | Fêmeas | 216,88 ± 26,14                           | 172,50 ± 28,70        | 168,83 ± 28,18        | 157,67 ± 21,56        | p <sub>V</sub> = 0,265<br>p <sub>VI</sub> = 0,002*  |
|       | Machos | 185,32 ± 52,18                           | 170,50 ± 32,94        | 178,33 ± 25,45        | 182,83 ± 33,03        |   |
| GC    | Fêmeas | 194,18 ± 33,36                           | 156,33 ± 33,89        | 152,00 ± 34,37        | 160,08 ± 31,46        | p <sub>VII</sub> = 0,777  |
|       | Machos | 190,93 ± 59,76                           | 183,03 ± 34,05        | 187,83 ± 28,65        | 188,33 ± 37,80        |   |

(\*) – Diferença significativa a 5,0%; (1) - DP – Desvio padrão; p<sub>I</sub> = Para a comparação entre os grupos; p<sub>II</sub> = Para a comparação entre os sexos; p<sub>III</sub> = Para a verificação da interação grupo x sexo; p<sub>IV</sub> = Para a comparação entre as semanas; p<sub>V</sub> = Para a verificação da interação semana x grupo; p<sub>VI</sub> = Para a verificação da interação semana x sexo; p<sub>VII</sub> = Para a verificação da interação grupo x semana x sexo.

Entre as fêmeas, a média de consumo total de água foi mais elevada no GA (767,50±91,88) e menor no GC (662,60±121,13). Com os machos ocorreu o inverso (GA- 680,75±120,80; GC- 750,13±144,42), porém nenhuma das comparações e interações foram significativas.

### 3.4- Ingestão de etanol

Em relação à ingestão de etanol encontrou-se diferença significativa entre os grupos GB (fêmeas:  $16,38 \pm 3,17$ ; machos:  $16,02 \pm 5,86$ ) e GC (fêmeas:  $65,57 \pm 16,91$ ; machos:  $52,32 \pm 17,19$ ) ( $p < 0,001$ ), o que não ocorreu entre os sexos, nem entre grupo x sexo. Ficou evidente que em cada grupo e cada sexo a média foi maior no período de 31 a 37 dias (GB- fêmeas:  $7,68 \pm 2,37$ ; machos:  $7,10 \pm 4,31$ ; GC- fêmeas:  $34,00 \pm 8,23$ ; machos:  $23,02 \pm 13,19$ ) e foi se reduzindo com as semanas de avaliação (Figura 2). As médias do grupo exposto a uma única concentração alcoólica (GB) foram menores do que as do grupo submetido a múltiplas concentrações (GC). Em todos os grupos, as médias de ingestão alcoólica entre os machos e as fêmeas variaram entre as semanas de exposição. Os testes estatísticos revelaram, também, diferença significativa ( $p < 0,001$ ), dentre os animais, nas semanas estudadas e na interação grupo x semana de exposição.

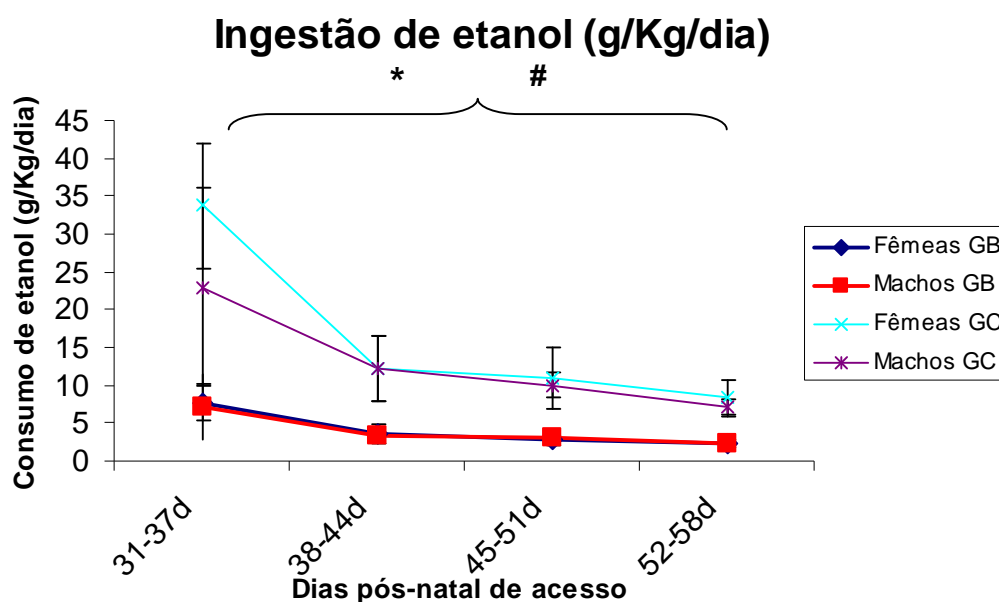


Figura 2- Efeitos da exposição a soluções hidroalcoólicas de aguardente (v/v) em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros, submetidos a uma única e a múltiplas concentrações (gramas de etanol por quilo de peso corpóreo por dia - g/Kg/dia) do 31º ao 58º dia pós-natal. (\*) = diferença significativa entre os grupos; (#) = diferença significativa entre as semanas.

### 3.5- Razão da preferência de etanol sobre a água

A razão da preferência do etanol sobre a água, em todos os grupos e ambos os sexos, foi maior na primeira semana e diminuiu à medida que as semanas iam se sucedendo (Figura 3). Uma maior razão foi revelada no GC, em comparação ao GB, durante todas as semanas avaliadas. Diferenças significativas foram encontradas entre os grupos ( $p < 0,001$ ) e entre as semanas de exposição pós-natal ( $p < 0,001$ ), porém não houve interações significativas.

Considerando o total de fluídos consumidos em todo o período experimental, a razão da preferência ao etanol foi também mais elevada no GC (fêmeas:  $0,55 \pm 0,05$ ; machos:  $0,49 \pm 0,08$ ) em relação ao GB (fêmeas:  $0,28 \pm 0,03$ ; machos:  $0,31 \pm 0,07$ ), apresentando diferença significativa entre os grupos obtida através da Anova com dois fatores ( $p < 0,001$ ).

No grupo exposto a uma única concentração, as médias da razão da preferência foram maiores entre os machos do que entre as fêmeas; o inverso ocorreu no GC, com a razão da preferência mais elevada entre as fêmeas, porém não se comprovou diferença significativa entre os sexos nem interação grupo x sexo.

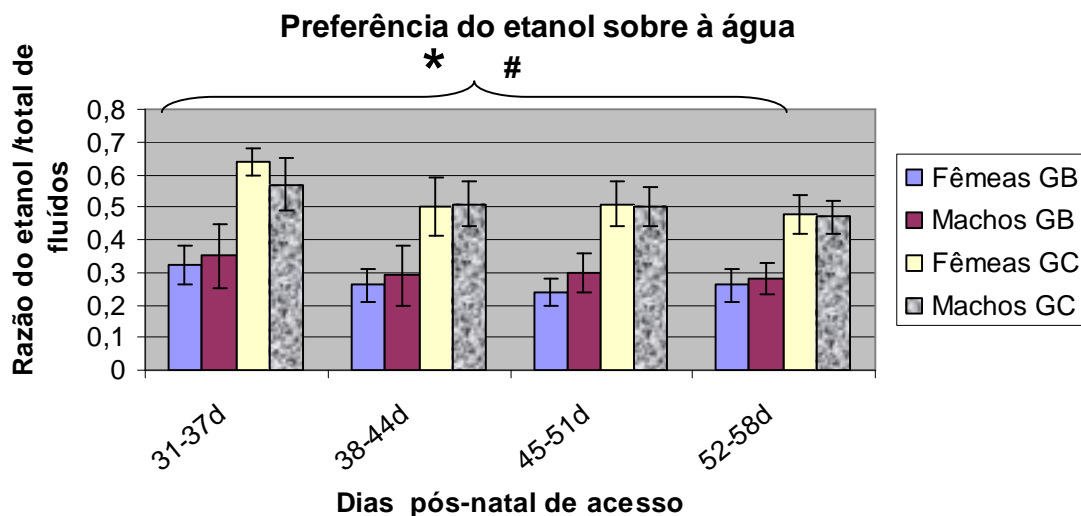


Figura 3- Preferência do etanol em relação à água em ratos peri-adolescentes de diferentes gêneros, submetidos a uma única e a múltiplas concentrações alcoólicas durante os dias pós-natal. (\*)=Diferença significativa a 5% entre os grupos; (#)= Diferença significativa entre as semanas de exposição.

### 3.6- Preferência pelas diferentes concentrações de etanol (g/kg/dia)

Em relação à preferência pelas diferentes concentrações de etanol oferecidas no GC, não ocorreu diferença entre as concentrações, sexos, semanas, como também não foram reveladas interações entre as variáveis citadas.

### 3.7- Dados bioquímicos

As dosagens séricas, revelaram diferença significativa, entre os grupos, quanto às variáveis: glicose, na relação CT/HDL (Tabela 4).

A glicemia, em ambos os gêneros, foi menor no GA e maior no GC; entretanto, diferenças significativas, pelos testes de comparações pareadas, foram detectadas no GA, em relação aos demais grupos. Para a relação CT/HDL, os valores foram menores no GC do que nos outros grupos, em ambos os sexos.

A albumina apresentou diferença significativa entre os sexos, observando-se valores mais elevados para as fêmeas do que para os machos, em todos os grupos estudados.

**Tabela 4 – Variáveis bioquímicas séricas, segundo o sexo dos animais e os grupos estudados**

| Variáveis Bioquímicas | Sexo   | Grupo                           |                      |                       | Valor de p   |
|-----------------------|--------|---------------------------------|----------------------|-----------------------|--|
|                       |        | GA<br>Média ± DP <sup>(1)</sup> | GB<br>Média ± DP     | GC<br>Média ± DP      |  |
| Glicose               | Fêmeas | 74,92 ± 19,65                   | 132,92 ± 82,78       | 115,35 ± 25,75        | p <sub>I</sub> = 0,048*                              |
|                       | Machos | 62,73 ± 16,27<br>(A)            | 84,17 ± 36,85<br>(B) | 103,23 ± 44,25<br>(B) | p <sub>II</sub> = 0,105<br>p <sub>III</sub> = 0,505  |
| Colesterol total      | Fêmeas | 78,83 ± 17,59                   | 66,50 ± 7,37         | 78,00 ± 11,03         | p <sub>I</sub> = 0,757                               |
|                       | Machos | 72,02 ± 14,74                   | 76,70 ± 12,52        | 70,80 ± 12,02         | p <sub>II</sub> = 0,770<br>p <sub>III</sub> = 0,188  |
| HDL                   | Fêmeas | 13,83 ± 3,31                    | 12,57 ± 1,82         | 14,77 ± 2,41          | p <sub>I</sub> = 0,227                               |
|                       | Machos | 14,45 ± 2,19                    | 14,03 ± 2,56         | 15,32 ± 1,88          | p <sub>II</sub> = 0,284<br>p <sub>III</sub> = 0,875  |
| CT/HDL                | Fêmeas | 5,70 ± 0,26                     | 5,37 ± 0,32          | 5,20 ± 0,11           | p <sub>I</sub> = 0,026*                              |
|                       | Machos | 5,10 ± 0,49<br>(A)              | 5,57 ± 0,24<br>(A)   | 4,83 ± 0,74<br>(B)    | p <sub>II</sub> = 0,074<br>p <sub>III</sub> = 0,068  |
| VLDL                  | Fêmeas | 15,65 ± 2,76                    | 13,20 ± 1,84         | 22,35 ± 15,90         | p <sub>I</sub> = 0,259                               |
|                       | Machos | 14,25 ± 1,37                    | 14,67 ± 2,29         | 14,37 ± 1,59          | p <sub>II</sub> = 0,250<br>p <sub>III</sub> = 0,230  |
| LDL                   | Fêmeas | 49,70 ± 11,41                   | 41,57 ± 4,31         | 41,73 ± 14,52         | p <sub>I</sub> = 0,445                               |
|                       | Machos | 43,87 ± 12,03                   | 48,38 ± 8,72         | 40,97 ± 10,10         | p <sub>II</sub> = 0,984<br>p <sub>III</sub> = 0,356  |
| Triglicerídeos        | Fêmeas | 74,47 ± 9,93                    | 67,85 ± 7,27         | 78,50 ± 6,72          | p <sub>I</sub> = 0,241                               |
|                       | Machos | 69,22 ± 9,03                    | 71,83 ± 16,76        | 75,32 ± 8,97          | p <sub>II</sub> = 0,669<br>p <sub>III</sub> = 0,529  |
| Albumina              | Fêmeas | 3,88 ± 0,34                     | 3,82 ± 0,69          | 3,70 ± 0,28           | p <sub>I</sub> = 0,683                               |
|                       | Machos | 3,20 ± 0,53                     | 3,45 ± 0,74          | 3,08 ± 1,12           | p <sub>II</sub> = 0,020*<br>p <sub>III</sub> = 0,835 |

(\*) – Diferença significativa a 5,0%; (1) - DP – Desvio padrão ; p<sub>I</sub> = Para a comparação entre os grupos através da Anova com dois fatores; p<sub>II</sub> = Para a comparação entre os sexos através da Anova com dois fatores; p<sub>III</sub> = Para a verificação da interação grupo x sexo através da Anova com dois fatores.Obs: Letras maiúsculas distintas entre parênteses indicam diferenças significativas, pelo teste de Tukey, entre as médias dos grupos correspondentes.



#### 4- DISCUSSÃO

O consumo alimentar aumentado na adolescência pode ser justificado, já que nesta fase de vida, os animais são hiperfágicos (Spear, 2000), devido ao seu desenvolvimento exigir um maior consumo de água e de alimentos e apresentar crescimento rápido (Bell et al., 2006). Similarmente a outros estudos em que foi avaliado o consumo alimentar de ratos expostos a soluções alcoólicas, na adolescência (Strbák et al., 1998) e na fase adulta (Larue-Achagiotis et al., 1990), o presente estudo constatou uma diminuição significativa deste consumo, durante o período experimental. Este efeito anoréxico do álcool tem sido relatado na literatura (Pirola e Lieber, 1976); porém, não foi observado, neste trabalho, um efeito dose-dependente, já que os animais expostos a múltiplas concentrações alcoólicas apresentaram um consumo alimentar superior aos demais grupos, achado que se contrapõe ao relatado na literatura, apontando para uma diminuição no consumo alimentar com o aumento das concentrações alcoólicas oferecidas nas diferentes raças e idades (Lancaster, 1998 ; Larue-Achagiotis et al., 1990 ; Sforcin et al., 1997; Strbák et al., 1998).

Em relação à curva ponderal, pode-se afirmar que todos os animais, expostos ou não ao etanol, de ambos os sexos, apresentaram um peso corporal crescente, por todo o período experimental, similar aos resultados de Slawecy et al. (2005) durante os dias estudados (2 a 10), em ratos adolescentes Sprague-Dawley, expostos ao etanol sob vapor, valendo ressaltar que este peso sempre foi inferior ao do grupo controle. A comparação de peso entre os grupos mostrou que os animais expostos a múltiplas concentrações tinham peso superior aos do grupo controle, o que pode ser justificado pelo fato de tratar-se de uma exposição aguda ao etanol, em que as calorias do álcool são utilizadas como fonte energética (Jordão-Júnior et al., 1998), além de também ter sido utilizada, como fonte de etanol, aguardente adoçada de cana-de-açúcar, alimento rico em carboidratos, o que pode

ter favorecido também este aumento. Entre os machos, o ganho de peso era maior, coerente com os achados da literatura (Adams, 1995; Bell et al., 2006; Lancaster, 1998; Larue-Achagiotis et al., 1990; Piano et al., 2005; Strbák et al., 1998). Ocorreu uma relação direta peso/ maior consumo alimentar, neste sexo, o que pode ter contribuído para a constatação do peso corpóreo maior em relação às fêmeas.

No que diz respeito ao consumo de água, as fêmeas, quando expostas a múltiplas concentrações, diminuíram seu consumo, ocorrendo o inverso com os machos, dados semelhantes aos encontrados por Bell et al. (2003). Destaca-se também que o consumo hídrico, no presente estudo, foi diminuindo durante as 4 semanas de exposição, resultados também observados em outros trabalhos (Bell et al., 2003, 2004, 2006), quando foram utilizadas as linhagem de ratos “alcohol-preferring – P” e “High- alcohol-drinkings- HAD”. A função adrenal, envolvida fisiologicamente com a ingestão e reabsorção de água pelos rins, parece sofrer efeitos da ingestão alcoólica, dependendo da concentração utilizada e do método de administração da droga (Cobb et al., 1981; Guaza e Borell, 1988; Ogilvie e Rivier, 1996; Redei et al., 1988; Rivier, 1996). No atual estudo parece que esta função não foi afetada, talvez pelo curto período de exposição ao etanol. Strbák et al. (1998), avaliando o consumo de água em ratos Wistar SPF com 45 dias pós-natal, submetidos a uma solução alcoólica a 10% etanol, verificaram uma redução na ingestão de água, de 76%, em relação ao grupo controle, porém não foi observada estimulação da adrenal no período de 4 semanas.

No início da adolescência os ratos Wistar facilmente alcançaram grandes níveis de ingestão de etanol na primeira semana de experimento (GB= fêmeas:  $7,68 \pm 2,37$ ; machos:  $7,10 \pm 4,31$ ; GC= fêmeas:  $34,00 \pm 8,23$ ; machos:  $23,02 \pm 13,19$ ). Lumeng et al. (1977)

consideraram como alta ingestão de etanol, valores acima de 5g/kg/dia para os ratos “alcohol-preferring-P”, independente do sexo e das condições de exposição à bebida. Um fato importante, que deve ser comentado, é que, nestes estudos, realizados com linhagens de animais que “bebem grandes quantidades de etanol” (Bell et al. 2003, 2004; Piercy; Myers, 1995), a ingestão foi aumentando durante as semanas de estudo, diferentemente do comportamento observado no presente trabalho, em que houve uma diminuição da ingestão alcoólica nas semanas subseqüentes ao seu início, o que pode, talvez, ser consequência da utilização, no estudo atual, de uma linhagem de ratos que não foram geneticamente modificados para serem “grandes bebedores de álcool”, considerando-se assim um modelo animal mais próximo da realidade observada nas populações em geral, que consomem álcool com certa frequência.

Foi também observado que os animais expostos a múltiplas concentrações ingeriram mais etanol do que aqueles submetidos a apenas uma concentração. Juarez e Tomasi (1999), ao estudarem machos e fêmeas adultos da raça Wistar, expostos a uma única concentração alcoólica (solução com 6% de etanol), registraram menores níveis de ingestão do que os constatados neste estudo. Achado semelhante foi o de Lancaster (1998): estudando animais periadolescentes dos dois sexos, da raça Long Evans, expostos a uma única concentração alcoólica (cerveja a 5%), também constatou níveis de ingestão menores e decrescentes. Por outro lado, Rood-Henricks et al. (2002), estudando a ingestão alcoólica em ratos periadolescentes “alcohol-preferring-P”, observaram maior preferência pelas soluções de 15% do que pelas menores concentrações (10%), o que motivou a escolha desta concentração para ser estudada no presente trabalho. Resultados de estudos prévios indicam que a disponibilidade de múltiplas concentrações de etanol aumenta a ingestão em ratos adultos de diferentes raças (Holter et al., 1998; Wolffgramm e Heyne, 1995) o mesmo

acontecendo na linhagem “alcohol-preferring” (Bell et al., 2003, 2004; Rood-Henricks et al., 2000, 2001).

Não foi observada diferença significativa da ingestão de etanol entre os sexos, mesmo quando expresso em g/Kg/dia, em que as fêmeas tenderam a ingerir mais etanol do que os machos, fato também constatado, significativamente, por outros autores (Adams, 1995; Bell et al., 2003; Chester et al., 2006; Juarez e Tomasi, 1999,). O metabolismo do etanol constitui um dos principais motivos para diferenciar os padrões do consumo do álcool entre machos e fêmeas, bem como as diferenças de composição corporal, entre os sexos (Kalant, 1996; Lancaster, 1994). Tem sido relatado que o metabolismo do etanol é mais rápido nas fêmeas do que nos machos (Mishra et al., 1989; Rachamin et al., 1980; Sutker et al., 1987; Van Thiel e Gavaler, 1998), razão pela qual elas precisariam consumir maiores quantidades de álcool para manter a sua alcoolemia em níveis suficientes.

Em relação à preferência pelo etanol, outros autores também observaram que os animais, ao serem expostos a múltiplas concentrações, o preferem à água, na primeira semana de experimento (Bell et al., 2003; Terenina-Rigaldie et al., 2004). Fato interessante é que as fêmeas, quando expostas a múltiplas concentrações, tenderam a preferir mais o etanol à água e, quando expostas a uma única concentração ocorreu o inverso, semelhante aos machos nesta mesma condição, achados estes similares a observações na literatura (Bell et al., 2003, 2006). Este comportamento talvez possa ser justificado pela elevação da polidipsia, de que geralmente os animais experimentais adolescentes são portadores (Spear, 2000), explicado sem dúvida pelo crescimento rápido observado na adolescência (Bell et al., 2006), acrescido ao fato de que o etanol, quando consumido em grandes quantidades, leva à desidratação (Kulkosky e Cornell, 1979; Lankford e Myers, 1994), o que pode aumentar o consumo de água para prover a reposição da água corporal (Piercy e Myers,

1995). A polidipsia é usualmente acompanhada de poliúria, que pode levar à hiponatremia e a prejuízos renais, quando ocorre por longos períodos (Lancaster, 1998).

Ao analisar o volume total de etanol consumido (g/Kg/dia), durante o período experimental, observou-se que a preferência entre as concentrações alcoólicas foi a seguinte: 20% > 30% > 10%, semelhante ao encontrado por Bell et al. (2004), na última semana de experimento. Entretanto, as concentrações alcoólicas em relação ao sexo, encontradas por estes autores, diferiram dos achados deste trabalho, que constatou, nos machos, preferência pelas soluções de 20%, e, nas fêmeas, pelas de 10% e 30%.

Em relação à glicemia encontrada no perfil bioquímico dos ratos submetidos ao etanol, salienta-se que seu aumento é coerente com o de outros autores, que encontraram resultados similares, porém não significativos (Piano et al., 2001; Sforcin et al., 1997; Strbák et al., 1998).

Tem sido relatado na literatura, que indivíduos que consomem álcool de forma moderada por longos períodos, têm menor risco de mortalidade e, particularmente, menor incidência de doença arterial coronária (DAC) do que os abstêmios (Marmillot et al., 2007). No estudo atual, ocorreu uma diminuição da relação CT/HDL, que representa um bom indicador de risco cardiovascular (Martinez et al, 1997), embora não tenha sido encontrado na literatura dados que embasassem estes achados no esquema experimental utilizado.

No que diz respeito à albumina, os achados na literatura não justificam as diferenças encontradas entre os sexos, embora os valores obtidos no presente estudo, para ambos os gêneros, estejam dentro dos níveis de normalidade, segundo Harkness e Wagner (1993).

## 5 - CONCLUSÃO

Diante dos achados, fica evidente que as soluções hidroalcoólicas de aguardente de cana-de-açúcar repercutiram no estado nutricional e metabólico de animais peri-adolescentes, de diferentes gêneros, de forma diferenciada, aumentando ou diminuindo de acordo com as concentrações utilizadas.

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Acheson, S. K., Richardson, R., Swartzwelder, H.S. (1999). Developmental changes in seizure susceptibility during ethanol withdrawal. *Alcohol* 18, 23-26.
- 2- Adams, N. (1995). Sex difference and the effects of tail Pinch on ethanol drinking in Maudsley rats. *Alcohol* 12(5), 463-468.
- 3- Almeida, O.F.X., Shoiab, M., Deicke, J., Fischer, D. Darwish, M.H. Patchev, V.K. (1998). Gender difference in ethanol preference and ingestion in rats: the role of the gonadal steroid environment. *J Clin Invest* 101, 2677-2685.
- 4- Altamn, D.G. (1991). Pratical statistics for medical research. London: Chapman and Hall. 611p.
- 5- Bell, R.D., Rood-Henricks, Z.A., Kuc, K.A., Lumeng, L., Li, T-K, Murphy, J.M., McBride, W.J. (2003). Effects of concurrent access to a single concentration or multiple concentrations of ethanol on the intake of ethanol by male and female periadolescent alcohol-preferring (P) rats. *Alcohol* 29, 137-148.
- 6- Bell, R.D., Rood-Henricks, Z.A., Hsu, C.C., Lumeng, L., Li, T-K, Murphy, J.M., McBride, W.J. (2004). Effects of concurrent access to a single concentration or multiple concentrations of ethanol on ethanol intake by periadolescent high-alcohol-drinking rats. *Alcohol* 33, 107-115.
- 7- Bell R.D., Rood-Henricks, Z.A., Sable, H.J.K., Schultz, J.A., Hsu, C.C., Lumeng, L., Murphy, J.M., McBride, W.J. (2006). Daily patterns of ethanol drinking in peri-adolescent and adult alcohol-preferring (P) rats. *Pharmacol Biochem Behav* 83, 35-46.
- 8- Cailhol, S., Mormede, P. (2001). Sex and strain difference in ethanol drinking: effects of gonadectomy. *Alcohol Clin Exp Res* 25, 594-599.

- 9- Chester, J.A., Barrenha, G.P., DeMaria, A., Finegan, A. (2006). Different effects of stress on alcohol drinking behaviour in male and female mice selectively bred for high alcohol preference. *Alcoh Alcohol* 41, 44-53.
- 10- Cobb, C.F., Van Thiel, D.H., Gavalier, J.S., Lester, R. (1981). Effects of ethanol and acetaldehyde on the rat adrenal. *Metabolism* 30, 537-543.
- 11- Coodley, E.L. (1971). Enzyme diagnosis in hepatic disease. *Amer J Gastroent* 24, 271-279.
- 12- Crabbe, J.C., Wahlstend, D., Dudek, B.C. (1999). Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science* 284, 1670-1672.
- 13- Crews, F. T., Braun, C.J., Hoplight B., Switzer, R.C. III, Knapp, D.J. (2000). Binge ethanol consumption causes differential brain damage in young adolescents rats compared with adult rats. *Alcohol Clin Exp Res* 24, 1712-1723.
- 14- Da Luz, P.L., Coimbra, S.R. (2001). Alcohol and atherosclerosis. *An Acad Bras Ciênc* 73, 51-55.
- 15- Ford, M., Eldridge, C., Samson, H.H. (2002). Ethanol consumption in the female Long-Evans rat: a modulatory role of estradiol. *Alcohol* 26, 103-113.
- 16- Frezza, M., Di Padova, C., Pozzato, G., Terpin, M., Baraona, E., Lieber, C.S. (1990). High blood ethanol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. *New England J Med* 322, 95-99.
- 17- Guaza, C., Borell, I. (1984). Effects of ethanol on corticosterone production by dispersed adrenal cells of rat. *Life Sci* 35, 1191-1196.
- 18- Harkness, J.E., Wagner, J.E. (1993). Biologia e manejo. In: Harkness, J.E., Wagner, J.E. Biologia e clínica de coelhos e roedores. (Eds.). 3. ed. São Paulo: Rocca, 1993, p. 49.
- 19- Holter, S.M., Engelmann, M., Kirschke, C., Liebsch, G., Landgraf, R., Spanagel, R. (1998). Long-term ethanol self-administration with repeated ethanol deprivation episodes changes ethanol drinking patterns and increases anxiety-related behaviour during ethanol deprivation in rats. *Behav Pharmacol* 9, 41-48.
- 20- Instituto Adolf Lutz. Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ªed. São Paulo, 1985. v.1.

- 21- Jordão-Júnior, A.A., Chiarello, P.G., Bernardes, M.S.M., Vannucci, H. (1998). Peroxidação lipídica e etanol: Papel da glutathiona reduzida e da vitamina E. *Rev Med Ribeirão Preto* 31, 434-449.
- 22- Juárez, J., Tomasi, E.B. (1999). Sex difference in alcohol drinking patterns during forced and voluntary consumption in rats. *Alcohol* 19, 15-22.
- 23- Kalant, H. Pharmacokinetics of ethanol: absorption, distribution, and elimination. In: Kissin, B.; Begleiter, H. (Eds.). *The pharmacology of alcohol and alcohol dependence*. New York: Oxford University Press, 1996. p. 15-58.
- 24- Kukosky, P.J., Cornell, N.W. (1979). Free-choice ethanol intake and ethanol metabolism in the hamster and rat. *Pharmacol Biochem Behav* 11, 439-444.
- 25- Lancaster, F.E. (1994). Gender differences in the brain: implications for the study of human alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 18, 740-746.
- 26- Lancaster, F.E. (1998). Sex differences in voluntary drinking by Long Evans rats following early stress. *Alcohol Clin Exp Res* 22, 830-837.
- 27- Lancaster, F.E., Spiegel, K.S. (1992). Sex difference in patterns of drinking. *Alcohol* 9, 415-420.
- 28- Lankford, M.F., Myers, R.D. (1994). Genetics of alcoholism: simultaneous presentation of a chocolate drink diminishes alcohol preference in high drinking HAD rats. *Pharmacol Biochem Behav* 49, 417-425.
- 29- Larue-Achagiotis, C., Poussard A.M., Louis-Sylvestre, J. (1990). Alcohol drinking, food and fluid intakes and body weight gain in rats. *Physiol Behav* 47, 545-548.
- 30- Li, T. K., Lumeng, L. (1984). Alcohol preference and voluntary alcohol intakes of inbred rat strains and the National Institutes of Health heterogeneous stock of rats. *Alcohol Clin Exp Res* 8, 485-486.
- 31- Lumeng, L., Hawkins, T.D., Li, T-K. (1977). New strains of rats with alcohol-preference and non-preference. In: Thurman, R.G., Williamson, J.R., Drott, H., Chance, B. (Eds.), *Alcohol and aldehyde metabolizing systems*. New York: Academic Press. 3, p. 537-544.
- 32- Markwiese, B.J., Acheson, S.K., Levin, E.D., Wilson, W. A., Swartzwelder, H.S. (1998). Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats. *Alcohol Clin Exp Res* 22, 416-421.
- 33- Marmillot, P., Munoz, J., Patel, S., Garige, M., Rosse, R.B., Lakshman, M.R. (2007). Long-term ethanol consumption impairs reverse cholesterol transport



function on high-density lipoprotein by depleting high-density lipoprotein sphingomyelin both in rats and humans. *Metabol* 56, 943-953.

- 34- Martinez, T.L.R., Rabelo, L.M., Barros, M.A.V., Cendoroglo, M.S., Aldrighi, J.M. Dislipidemias em mulheres. In: Martinez, T.R.L. Conduitas clínicas nas dislipidemias. Belo Horizonte: Ed. Saúde, 1997, p. 215-228.
- 35- Merusse, J.L.B., Lapichick, V.B.V. Instalações e equipamentos. In: Comissão de ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Manual para técnicos em bioterismo. 2ª ed. São Paulo: EPM, 1996. p. 15-25.
- 36- Mishra, L., Sharma, S., Potter, J.J., Mezey, E. (1989). More rapid elimination of alcohol in women as compared to their male siblings. *Alcoholism* 13, 752.
- 37- Myers, R.D. (1978). Psychopharmacology of alcohol. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 18, 125-144.
- 38- Myers, R.D., Privette, T.H.A (1989). A neuroanatomical substrate for alcohol drinking: Identification of tetrahydropapaveroline (THP)-reactive sites in the rat brain. *Brain Res Bull* 22, 899-911.
- 39- Myers, R.D., Veale, W.L. (1972). The determinants of alcohol preference in animals. In: Kissin, B. Begleiter, H. (Eds). The biology of alcoholism. New York: Plenum Press. 2, p. 131-168.
- 40- Ogilvie, K.M., Rivier, C. (1996). Gender difference in alcohol-evoked hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat: Ontogeny and role of neonatal steroids. *Alcoh Clin Exper Res* 20, 255-261.
- 41- Peters, T., Biamont, G.T., Doumas, B.T.(1982). Albumin in serum. In: Faulkner, W.R., Meites, S. (Eds.). Selected methods of clinical chemistry. Washington: AACC Press. v.9, p.319.
- 42- Piano, M.R., Artwohl, J., Kim, S.D., Gass, G. (2001). The effects of a liquid ethanol diet on nutritional status and fluid balance in the rat. *Alcohol Alcoh* 36, 298-303.
- 43- Piano, M.R., Carrigan, T.M., Schwertz, D.W. (2005). Ethanol difference in ethanol liquid diet consumption in Sprague-Dawley rats. *Alcohol* 35, 113-118.
- 44- Piercy KT, Myers RD. (1995). Female Syrian Golden hamster: drinking of high concentrations of ethanol aversive to other mammals. *Alcohol* 12, 207-211.
- 45- Pirola, R.C., Lieber, C.S. (1976). Hypothesis: energy wastage in alcoholism and drug abuse: possible role of hepatic microsomal enzymes. *Amer J Clin Nutr* 29, 90-93.

- 46- Rachamin, G., MacDonald, A., Wahid, S., Clapp, J.J., Khanna, J.M., Israel, Y. (1980). Modulation of alcohol dehydrogenase and ethanol metabolism by sex hormones in the spontaneously hypertensive rat. Effect of chronic ethanol administration. *Biochem J* 186, 483-490.
- 47- Rautela, G.S., Liedtke, R.J. (1978). Automated enzymic measurement of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 24, 108-114.
- 48- Redei, E., Branch, B.J., Gholami, S., Lin, E.Y.R, Taylor, A.N. (1988). Effects of ethanol on CRF release in vitro. *Endocrinology* 123, 2736-2743.
- 49- Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, G.C. (1993). AIN- 1993. Purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN- 76 a rodent diet. *J Nutr* 123, 1939-1951.
- 50- Reitman, S., Frankel, A.S. (1995). A calorimetric method for the determination of serum glutamic, oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer J Clin Pathol* 28, 56.
- 51- Rivier, C. (1996). Alcohol stimulates ACTH secretion in the rat: mechanism of action and interaction with other stimuli. *Alcoh Clin Exper Res* 20, 240-254.
- 52- Rood-Henricks, Z.A, McKinzie, D.L., Shaikh, S.R., Murphy, J.M., McBride, W. J., Lumeng, L., Li, T-K. (2000). Alcohol deprivation effect is prolonged in the alcohol-preferring (P) rat after repeated deprivations. *Alcohol Clin Exp Res* 24, 8-16.
- 53- Rood-Henricks, Z.A., Bell, R.L., Kuc, K.A. Murphy, J.M., McBride, W. J., Lumeng, L., Li, T-K. (2001). Effects of concurrent access to multiple ethanol concentrations and repeated deprivations on alcohol intake of alcohol-preferring rats. *Alcohol Clin Exp Res* 25, 1140-1150.
- 54- Rood-Henricks, Z.A., Bell, R.L., Kuc, K.A. Murphy, J.M., McBride, W. J., Lumeng, L., Li, T-K. (2002). Effects of ethanol drinking during adulthood on operant ethanol self-administration in alcohol-preferring (P) rats. *Alcohol Clin Exp Res* 26, 62A.
- 55- Sforcin, J.M., Monteiro, C.M.R., Lopes, C.E.F., Sapatera, A.C., Ferreira, W.J.N. (1997). Perfil bioquímico e análise morfológica do ovário de ratas submetidas a consumo prolongado de álcool. *Rev Ciênc Bioméd* 18, 69-81.
- 56- Silveri, M.M., Spear, L. (1998). Decreased sensitivity to the hypnotic effects of ethanol early in ontogeny. *Alcohol Clin Exp Res* 22, 670-676.
- 57- Silveri, M.M., Spear, L. (2000). Ontogeny of ethanol elimination and ethanol induced hypothermia. *Alcohol* 20, 45-53.

- 58- Sircar, R, Sircar, D. (2005). Adolescent rats exposed to repeated ethanol treatment show lingering behavioral impairments. *Alcohol Clin Exp Res* 29, 1402-1410.
- 59- Sircar, R, Sircar, D. (2006). Repeated ethanol treatment in adolescent rats alters cortical NMDA receptor. *Alcohol* 39, 51-58.
- 60- Slawecki, C.J., Betancourt, M., Cole, M., Ehlers, C.L. (2001). Periadolescent alcohol exposure has lasting effects on adult neurophysiological function in rats. *Brain Res Devel Brain Res* 128, 63-72.
- 61- Slawecki, C.J., Jiménez-Vasquez, P., Mathé, A.A., Ehler, C.L. (2005). Effects of ethanol on brain neuropeptides in adolescent and adult rats. *J Stud Alcohol* 66, 46-52.
- 62- Spanagel, R. (2000). Recent animal models of alcoholism. *Alcohol Res Health* 24, 124-131.
- 63- Spear, L.P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosc Biobehav Rev* 24, 417-463.
- 64- Strbák, V., Benický, J., Macho, L., Jezová, D., Nikodémová, M. (1998). Four-week ethanol food intake and body weight but does not affect plasma leptin, corticosterone, and insulin levels in pubertal rats. *Metabolism* 47, 1269-1273.
- 65- Sutker, P.B., Goist Jr., K.C., Allain, A.N., Bugg, F. (1987). Acute alcohol intoxication: sex comparisons on pharmacokinetic and mood measures. *Alcoholism* 11, 507-521.
- 66- Swartzwelder, H.S., Richardson, R.C., Markwiese-Foerch, B., Wilson, W. A., Little, P.J. (1998). Developmental differences in the acquisition of tolerance to ethanol. *Alcohol* 15, 311-314.
- 67- Terenina-Rigaldie, E., Jones, B.C., Mormède, P. (2004). The high-ethanol preferring rat as a model to study the shift between alcohol abuse and dependence. *Eur J Pharmacol* 504, 199-206.
- 68- Tomie, A., Hosszu, R., Rosenberg, R.H., Gittleman, J., Patterson-Buckendahl, P., Pohorecky, L.A. (2006). An inter-gender effect on ethanol drinking in rats: Proximal females increase ethanol drinking in males. *Pharmacol Biochem Behav* 83, 307-313.
- 69- Trinder P. (1969). *Ann Clin Bioch* 6, 24.
- 70- Van Thiel, D.H., Gavaler, J.S. (1988). Ethanol metabolism and hepatotoxicity. Does sex make a difference?. *Rec Develop Alcohol* 6, 291-304.

- 71- White, A.M., Ghia, A.J., Levin E.D., Swartzwelder, H.S. (2000). Binge pattern ethanol exposure in adolescent and adult rats: Differential impact on subsequent responsiveness to ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 24, 1251-1256.
- 72- Woffgramm, J., Heyne, A. (1995). From controlled drug intake to loss of control : The irreversible development of drug addiction in the rat. *Behav Brain Res* 70, 77-94.
- 73- ZAR, J.H. (1999). Biostatistical analysis. 4<sup>a</sup> ed. New Jersey: Prentice Hall.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem algumas considerações sobre o tema:

- Os ensaios experimentais que se aproximam do modelo humano são de fundamental importância para a avaliação das repercussões do etanol nos parâmetros fisiopatológicos;
- Os estudos sobre a ingestão de etanol devem, cada vez mais, avaliar as conseqüências em faixas etárias sempre mais jovens, já que este consumo vem aumentando na sociedade; assim, quanto mais cedo forem realizadas intervenções clínicas e sociais, mais fácil será a recuperação e o tratamento dos alcoolistas;
- É importante considerar que o álcool pode repercutir de forma diferenciada entre os sexos e que estas diferenças estão relacionadas com a sua farmacocinética;
- Salienta-se a importância de alertar a população para as concentrações alcoólicas consumidas, que podem interferir no crescimento e desenvolvimento de adolescentes, comprometendo assim sua qualidade de vida.

## **7. PERSPECTIVAS**

---

Os resultados do presente trabalho pretendem contribuir com informações importantes para os profissionais envolvidos no planejamento e nas ações de programas de intervenção junto a jovens alcoolistas. Desta forma sugere-se algumas perspectivas para futuros desenhos experimentais de estudos dirigidos à mesma fase de vida:

- Investigar e comparar, em ratos, os efeitos nutricionais e metabólicos da ingestão de diferentes tipos e concentrações de bebidas;
- Observar o efeito das diferentes formas de exposição nos casos de consumo crônico;
- Analisar as conseqüências do consumo de etanol, sob diferentes concentrações, em órgãos como: coração, ossos, músculo etc., mais susceptíveis aos seus efeitos;
- Avaliar as repercussões do etanol, quando associado a dietas com diferentes composições de nutrientes, no crescimento e desenvolvimento de ratos;
- Observar a função adrenal em ratos expostos ao álcool.



## ***ANEXO A - Normas para publicação Revista Brasileira de Nutrição Clínica***

---

### Instruções para os Autores

- 1) A Revista Brasileira de Nutrição Clínica publica trabalhos em português, inglês e espanhol, voltados ao interesse de profissionais e pesquisadores da área de nutrição clínica.
- 2) A Revista Brasileira de Nutrição Clínica aceita a submissão de trabalhos originais de investigação, tanto na área experimental como em humanos, estudos clínicos, artigos de revisão científica, relatos de caso, notas técnicas e cartas aos Editores.
- 3) Os trabalhos submetidos à Revista Brasileira de Nutrição Clínica não devem estar sendo, simultaneamente, submetidos a outro periódico e nem devem ter sido publicados anteriormente, com conteúdo semelhante ao apresentado à Revista Brasileira de Nutrição Clínica.
- 4) O texto dos trabalhos é de inteira responsabilidade dos autores que o assinam. Assim, ao enviar uma submissão, esta deverá vir acompanhada de uma autorização para a publicação do trabalho e cessão de direitos autorais para a Revista Brasileira de Nutrição Clínica, digitada em folha A4 avulsa, estando assinalados o local, a data e a assinatura original de todos os autores.
- 5) Os estudos envolvendo humanos e animais devem se adequar aos princípios estabelecidos respectivamente pelas Declarações de Tóquio e Helsinque respectivamente ou normatização ética equivalente sancionada por entidades nacionais.
- 6) Pacientes envolvidos em estudos e pesquisas devem ter assinado o Consentimento Informado e a pesquisa deve ter a aprovação do conselho de ética e pesquisa da instituição à qual os autores pertencem.
- 7) A publicação de um artigo está condicionada à aprovação do Conselho Editorial.
- 8) Os editores se reservam o direito de editar e revisar os textos dos trabalhos aceitos para publicação, a fim de adaptá-los ao formato da Revista, remover redundâncias e deixar os textos mais claros e compreensíveis, sem alterar o significado e o conteúdo dos trabalhos. Os manuscritos editados serão enviados aos autores responsáveis pelo trabalho para aprovação final.

### Preparo dos Manuscritos

- 1) Os trabalhos a serem submetidos à publicação devem ser enviados para

Revista Brasileira de Nutrição Clínica



a/c Editores

Rua Abílio Soares, 233 – 14 o . andar – cj.144

Cep 04005-000 - Paraíso – Capital – São Paulo

2) Os trabalhos devem ser sucintos e conter títulos, resumos e unitermos com três (3) a seis (6) descritores constantes da lista de Descritores de Assunto do LILACS - Index Medicus Latinoamericano, em português, em inglês (abstract – key words) e em espanhol (resumen e unitérminos). Os resumos devem ser estruturados e não devem exceder a 250 palavras ou 1500 toques cada um. O resumo deverá ser muito claro e preciso, pois ele é o chamariz para a leitura do artigo na íntegra.

3) Os trabalhos originais devem conter introdução, objetivo, casuística, material e métodos, resultados, discussão e conclusão e os textos mais especializados, aqueles itens que forem apropriados. Os artigos originais devem conter apenas três níveis de tópicos e sub-tópicos, os quais não devem ser numerados nem identificados por letras.

4) As citações bibliográficas, no texto, devem ser sobrescritas e numeradas na ordem em que são citadas. As referências bibliográficas, ao final do trabalho, devem seguir as normas de Vancouver (Revista de Saúde Pública 1999; 33 (1):6-15). Nas citações, no texto, com mais de dois autores, deve-se citar o primeiro autor seguido da expressão latina “et al.” e da numeração respectiva de sua referência. Nos artigos de revisão, as referências não devem exceder a 80 referências.

5) Os trabalhos devem trazer, no início, o nome completo e a titulação principal dos autores, local onde foi realizado e endereço para correspondência do autor responsável, incluindo telefone, fax e e-mail atualizados.

6) O trabalho deve ser enviado em disquete novo no formato Microsoft Word 95 ou posterior junto com uma cópia completa do trabalho, incluindo ilustrações e legendas, impressa em papel branco no tamanho A-4 (212 mm x 297mm). Os autores devem certificar-se de que os disquetes não contém nenhum tipo de vírus, nem outros arquivos que não o artigo em questão.

7) Os trabalhos podem incluir tabelas, gráficos, figuras, fotografias e outros tipos de ilustrações. Os gráficos devem ser no formato Excel ou outro formato compatível com o Windows. As figuras podem ser no formato TIF, JPEG, EPS. As fotografias devem ser originais, em preto e branco, de boa qualidade, em papel brilhante, que permitam digitalização ou devem ser enviadas já digitalizadas em disquete ou CD - ROM, devidamente identificados. Todas as formas de ilustrações, gráficos e tabelas devem constar da cópia impressa e trazer legendas. As tabelas e figuras devem estar inseridas no final do artigo. O corpo do texto deve trazer a indicação de onde as tabelas e figuras deverão ser inseridas. Os símbolos e abreviações empregados devem ser explicados nas legendas. Ilustrações e fotografias previamente publicadas devem trazer a permissão dos autores ou dos editores da publicação anterior para reprodução na Revista Brasileira de Nutrição Clínica. Aquelas envolvendo pacientes identificáveis devem vir acompanhadas de

autorização assinada pelos respectivos indivíduos. A Revista Brasileira de Nutrição Clínica se reserva o direito de limitar a quantidade de ilustrações.

8) Os agradecimentos devem ser apresentados de forma sucinta e devem ser colocados após as conclusões, assim como a indicação de financiamento da pesquisa, o nome da agência financiadora e o número do processo.

Lista para conferência:

- Nome completo do autor principal (sem abreviações)
- Nome completo do autor principal (sem abreviações) e dos co-autores
- Titulação principal dos autores
- Endereço para correspondência do autor responsável, incluindo telefone e e-mail atual
- Título, resumo estruturado e unitermos em português, inglês e espanhol com 250 palavras ou 1500 toques cada um.
- Entrega da versão impressa do texto, figuras, tabelas, gráficos e legendas.
- Indicação dos unitermos constantes na lista de descritores do LILACS

(<http://decs.bvs.br/P/decswebp.htm>.)

- Entrega do texto digitado em Microsoft Word (95 ou 97) em disquete.

(Certifique-se que o disquete não contém nenhum tipo de vírus)

- Entrega do texto das legendas de figuras, tabelas e quadros em Microsoft Word ou Microsoft Excel, no mesmo disquete.
- Referências bibliográficas segundo as normas de Vancouver
- Citações bibliográficas no texto numeradas de modo seqüencial e sobrescritas, sem datas entre parênteses.

Exemplo de referências bibliográficas

Periódico:

1. Capella RF, Capella J, Mandac H, Nath P. Vertical banded gastroplasty - gastric bypass. *Obes Surg* 1991; 1:219-20.

Livro:

2. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM. eds. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd. ed. New York, Raven Press; 1995. p.465-78.

ALCOHOL



**Guide for Authors**

## **MANUSCRIPT SUBMISSION**

Authors are encouraged to review the Aims and Scope to determine whether their contribution is suitable for publication in *Alcohol*. All submitted material will be subject to peer review. The requirements set forth in the Instructions to Authors apply to all 3 types of manuscripts accepted for publication in *Alcohol*, as follows:

- **Original research articles** are full-length reports of the authors' original research addressing topics consistent with the Aims and Scope of the journal. Submissions outside the scope of the journal, or incomplete or fragmentary submissions, will not be considered.
- **Rapid communications** are original, high-quality manuscripts that describe new data of high impact and major importance to the field. These contributions are typically short (e.g., 4 journal pages), and will be peer-reviewed by at least one expert in the field of the research and an Editor, and will be either accepted with minimal or no revisions or rejected. Publication of accepted rapid communications will be expedited.
- **Invited review articles** will be considered for publication, upon invitation from the Editor-in-Chief or Associate Editor, as full-length reviews or mini-reviews. These contributions will be peer-reviewed. Authors should contact the Editor-in-Chief concerning the suitability of a topic for an invited review.
- **Invited editorials or commentaries** will be considered for publication, upon agreement by the Editor-in-Chief and Associate Editor. These contributions should be relatively short (2-3 journal pages), and focused on topics of high current interest, controversy, or fast-paced change. They will be peer reviewed by at least one member of the Editorial staff and another recognized expert in the area. Authors should contact the Editor-in-Chief concerning the suitability of a topic for an invited editorial or commentary.

Authors from all countries are invited to submit manuscripts (complete in all respects) to the Editor-in-Chief using Elsevier's web-based electronic submission at the following URL: <http://ees.elsevier.com/alcohol/> (instructions are provided below).

Alcohol subscribes to the tenets of [The Farmington Consensus \(pdf\)](#). Submission of a paper to the journal will be taken as evidence that the authors have complied with the tenets set forth in the Consensus, including the "Expectations of Authors". Consistent with those tenets,



requirements for authorship are: (1) substantial contribution to conception, design, acquisition, analysis, and/or interpretation of data; (2) contribution to the writing and intellectual content of the article; and (3) final approval of the submitted manuscript.

### **Electronic Submission**

All manuscripts are to be submitted and reviewed electronically using the journal's EES web site (<http://ees.elsevier.com/alcohol/>). Prepare your manuscript in one of the following formats: MS Word, WordPerfect 6.1 (or higher) or LaTeX. Acceptable figure formats are TIFF, EPS, PDF or MS Office files (Word, Powerpoint, Excel), but TIFF or EPS formats are preferred.

Authors should prepare the following items, using standard word processing and graphics/imaging tools, in preparation for electronic submission of their manuscript:

**1. Electronic copy of the Cover Letter (as a document file), signed by corresponding author**, briefly describing the work and explicitly stating and signing for the following assurances:

- (a) that all co-authors have read, approve of, and concur with the submitted manuscript;
- (b) that all authors have made substantial contributions that meet the stated requirements for authorship;
- (c) that due care has been exercised by the authors to ensure the integrity of the work;
- (d) that none of the original material contained in the manuscript has been previously published (except in abstract form as part of scientific meetings) nor is currently under review for publication elsewhere;
- (e) that any commercial affiliation or consultant role of an author that could be construed as a conflict of interest has been acknowledged (or a statement indicating that no such conflict of interest exists);
- (f) any necessary accompanying documentation (e.g., signed permission letter to include previously published material in the contribution) is included;
- (g) a list of up to 3 suggested reviewers (with complete mailing address and e-mail address) who could potentially review the contribution. (Note, however, that the final choice of reviewers will be the prerogative and responsibility of the Editors.)

**2. Electronic copy of the Manuscript (as a document file), that includes Title & Author page, Abstract, Key Word list, Manuscript text, references; tables may be included in the manuscript or may be prepared and uploaded as separate files. 3. Electronic copies of each figure (as a separate file)**, preferably in either TIFF (Tagged Image File Format) or EPS (Encapsulated Post Script) format; acceptable alternative figure formats are PDF or MS Office files (Word, Powerpoint, Excel) Each figure is to be uploaded as a separate file.

### **MANUSCRIPT FORMAT AND STYLE**

Manuscripts that do not adhere to the following instructions will be returned to the corresponding author for technical revision before undergoing peer review. For manuscripts under revision, contributions not revised and returned to the editorial office within 3 months after being returned to the authors for revision may be considered as withdrawn, unless the communicating author

requests an extension.

**Title Page:** Include (a) complete title of manuscript; (b) authors' full names, (c) name of affiliation, laboratory or institution of each author including city, state or province, ZIP or postal code, and country (footnoted and listed on separate lines if more than one laboratory or institution); (c) name and complete address for correspondence, including the corresponding author's telephone and fax numbers and e-mail address.

**Abstract and Keywords:** Include an abstract that briefly summarizes the work, limited to a short paragraph of about 300 words. Succinctly state purpose of the study, basic methods and procedures, the most important findings, and principal conclusions. Prepare as one continuous paragraph without sections or subheadings. At the bottom of the abstract, provide a list of up to 6 key words or short phrases, in italics, suitable for indexing terms.

**Text Organization:** Include the following main sections in with section headings (Introduction, Materials and Methods, Results, and Discussion) on separate lines and in bold font. (Note: As of April 2007, the format will no longer use numbering of main sections or sub-sections in the manuscript).

### **Introduction**

In this section, the objectives of the research should be clearly stated. Relevant background information and published studies should be described concisely, and be cited appropriately.

### **Materials and Methods**

This section should contain all the details necessary to reproduce the experiments. Avoid re-describing complete details of methods already published. [Include subsections, labeled in italics, if applicable and as needed (e.g., *Subjects, Apparatus, Drug Treatments, Procedures, Statistical Analyses*)]. **If experimental animals were used**, include a statement indicating whether the research was reviewed in advance by the institutional Animal Care and Use Committee and whether the research was conducted according to the requirements of all applicable local, national, and international standards for the care and use of laboratory animals (indicating the specific guidelines followed, e.g., the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals). **If human subjects were involved**, include a statement indicating **both** (a) that written informed consent was obtained from each human subject and (b) that the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983.

### **Results**

The results should be described clearly and concisely, and in logical order without extended discussion of their significance. Results should usually be presented descriptively, supported with appropriate statistical analyses, and be supplemented by photographs or diagrams.

### **Discussion**

The results of the research should be discussed in the context of other relevant published work, and as concisely as possible. Extensive citations and discussion of published literature should be avoided.

**References** (see below)

**Tables** (each on separate page; see below)

**Figure legends** (presented as a group; see below)

**Figures** (each uploaded as a separate figure; be sure to identify the figure number correctly when it is uploaded; see below)

### **Abbreviations**

Use in abstract only if necessary. Terms appearing frequently within the text of the manuscript may be abbreviated (do not abbreviate the term "ethanol"). For a list of standard abbreviations, consult the *Council of Biology Editors Style Guide* (available from the Council of Science Editors, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814). Write out the full term for each abbreviation at its first use (unless it is a standard unit of measure), with the abbreviation following in parentheses; terms should not be abbreviated in tables or figures. Abbreviations that appear as word entries in *Merriam-Webster's Collegiate Dictionary* do not need to be defined the first time they are used. Abbreviations are to be used for standard Latin terms, statistics, and reference terms in parenthetical material (e.g., i.e.), as well as for standard units of measure.

### **Formulas and Equations**

Include structural chemical formulas, process flow diagrams, and complicated mathematical expressions sparingly. Create (usually) chemical formulas and flow diagrams for reproduction as line cuts. Ensure all subscript, superscript, Greek, and unusual characters are clearly identified.

### **Drugs**

Provide the chemical name to precede the trade name (or popularly known name) for all drugs. Capitalize proprietary names (trade names).

### **Acknowledgments**

Declare all sources of funding for the contribution in an acknowledgement section to precede the reference list. If there were no sources of funding, please state this in the cover letter.

### **References**

Effective April 2007, the style for citations and references to be used is that used by Cell Press journals. This referencing style is available on electronic citation management software, e.g., EndNote, for Cell Press journals (e.g., *Cell*; *Neuron*).

References should include only articles that are published or in press. In-text citations should include all author surnames for materials written by one or by two authors, e.g., (Miller, 1995; Smith and Jones, 1973); for material written by three or more authors, use first author surname and et al., e.g., (Homanics et al., 2006). Unpublished data, submitted manuscripts, or personal communications should be cited parenthetically within the text only, e.g., (unpublished observation, D. J. Tuma, 1999), and not listed in the references. Citation of personal communications or other unpublished work of others must be documented by a letter of permission. Abstracts of work presented at meetings may not be cited.

References should be arranged alphabetically by author surname(s). References by the same author(s) should be arranged chronologically. All authors (up to 10) should be listed in the reference; "et al." should only be used after the first 10 authors. The following are examples of common types of citations:

**Article in a periodical:** Roberto, M., Madamba, S.G., Moore, S.D., Tallent, M.K., and Siggins, G.R. (2003). Ethanol increases GABAergic transmission at both pre- and postsynaptic sites in rat central amygdala neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *100*, 2053-2058.

**Article in a book:** Jerrells, T.R., and Pruett, S.B. (1994). Immunotoxic effects of ethanol. In *Immunotoxicology and Immunopharmacology*, J.H. Dean, M.I. Luster, A.E. Munson, and I. Kimber, eds. (New York: Raven Press), pp. 323-347.

**An edited book:** Liu, Y., and Hunt, W.A., eds (1999). *The 'Drunken' Synapse: Studies of Alcohol Related Disorders* (New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers).

**An authored book:** Cohen, J. (1988). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*, 2nd edn (Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates).

### **Figure Captions**

Include captions for all figures. They should be brief and specific, and should appear on a separate manuscript page after the references. Identify the scale markers used in the image for photomicrographs, and indicate the type of stain used for histological figures.

**Figures:** Please observe the following instructions:

- " The figures should be submitted on EES preferably in either TIFF (Tagged Image File Format) or EPS (Encapsulated Post Script) format, at the standard resolutions (i.e., 300 dpi for photos, 1200 dpi for line art) and sized at the final print size in the journal. When possible, prepare the figure sized for use in a **single column width** of journal space.
- For drawings that will be reduced to a given size, draw and letter the figure to the same scale to ensure that all lettering remains legible once the figure is reduced
- Refer to all illustrations as figures, and number figures with Arabic numerals.
- Place all lettering within the framework of the figure and ensure that the key to symbols is displayed in the face of the chart (rather than described in the legend). Use standard symbols that are easily available for typesetting, e.g., circles, squares, and triangles. Designate group differences with asterisks.
- Provide dimension scale bar for all photomicrographs.
- If color reproduction is requested, submit color prints in actual size; note that authors are responsible for the additional costs to process and print color figures.

### **Tables**

Create tables using the "Table" feature of your word processing software. Do not use Excel or comparable spreadsheet programs to create tables. Cite tables consecutively in the text, and number them in that order. Each table should appear as a separate file (if uploaded separately) or on a separate sheet (if included as part of the uploaded manuscript). Each table should include the table title, appropriate column heads, and explanatory footnotes (including definitions of any





abbreviations used). Use superscript, lowercase letters in descending alphabetic order as footnote symbols. Identify statistical measures of variation, standard deviation (S.D.), standard error of the mean (S.E.M.), and so forth in footnotes, but designate statistical significance in the table body and footnotes with asterisks (\*, \*\*, \*\*\*). Do not embed tables within the body of the manuscript; place them either at the end of the manuscript or upload them as separate files. Tables should be able to stand alone and be self-explanatory (i.e., no aspect requires the reader to refer to the text or other material outside the table for explanation), and they should supplement, rather than duplicate, the material in the text or figures.

## **POLICIES**

### **Animal Experimentation**

When experimental animals are used, the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 80-23) revised 1996, the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC), or the UK Animals (Scientific Procedures) Act 1986.

### **Human Subjects**

It is the authors' responsibility to verify and state explicitly that any experimental investigation with human subjects reported in the manuscript was performed following all the guidelines for experimental investigation with human subjects required by the institution(s) with which all the authors are affiliated (e.g., prior approval by the Institutional Review Board, meeting requirements for informed consent and for confidentiality and full protection of the subjects' anonymity). All procedures should follow the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983.

### **Permissions**

Obtain written permission from both the original author and the publisher for any previously published figures, tables, or materials to be included as part of the manuscript. Submit evidence of this written permission with the original contribution. [Permissions Form: [http://www.elsevier.com/framework\\_products/promis\\_misc/525453pf\\_1.htm](http://www.elsevier.com/framework_products/promis_misc/525453pf_1.htm) ]

## **MANUSCRIPT PUBLICATION**

**Copyright Transfer:** Publications are copyrighted for the protection of the authors and the publisher. A transfer of copyright agreement will be sent to the corresponding author from the publisher (language is included in this agreement which waives the copyright transfer for US Federal employees). The completed and signed copyright transfer form must be returned to the publisher before articles can be published.

**Author Proofs:** Responsibility for proofreading remains with the author. One set of proofs will be sent to the corresponding author. A form with queries from the copyeditor may accompany your proofs. Please answer all queries and make any corrections within 2 days of receipt. No

alteration of the substance of the text, tables or figures will be allowed at this stage; restrict corrections to author proofs to printer's errors only. Costs for any other alterations will be charged to the author. Should there be no corrections, please confirm this. Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. In order to do this we need your help. When you receive the (PDF) proof of your article for correction it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication. Subsequent corrections will not be possible, so please ensure your first sending is complete.

**Electronic (PDF) personal copies and hard-copy reprints:** The corresponding author of an article published in the journal will receive an electronic (PDF) copy of his or her article with permission granted for personal use, free of charge. Additional hard-copy reprints may be ordered by using the reprint order form received by the corresponding author with his or her author proofs. To order hard-copy reprints, the authors should complete this order form and return it with the proofs.

**Tracking Accepted Manuscripts:** After acceptance of your article by the journal, and following receipt of the files at Elsevier, authors can keep track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes in their manuscript's status using the 'Track Your Paper' feature of Elsevier's [Author Gateway](#). You will receive a unique reference code together with the acknowledgement e-mail from Elsevier sent upon receipt of your manuscript files in the Elsevier production system.

*Updated April 2007*

*ANEXO C. Protocolo de aprovação do Comitê de Ética*

