

CYBELLE ROLIM DE LIMA

**USO CRÔNICO DE AGUARDENTE POR RATOS EM
ENVELHECIMENTO: ALTERAÇÕES NUTRICIONAIS E
BIOQUÍMICAS**

Recife
2010

CYBELLE ROLIM DE LIMA

**USO CRÔNICO DE AGUARDENTE POR RATOS EM
ENVELHECIMENTO: ALTERAÇÕES NUTRICIONAIS E
BIOQUÍMICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Doutor em Nutrição

Orientadora: Prof^a. Dra. Nonete Barbosa Guerra

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Francisca Martins Bion

Recife
2010

Lima, Cybelle Rolim de

**Uso crônico de aguardente por ratos em
envelhecimento: alterações nutricionais e bioquímicas
/ Cybelle Rolim de Lima. – Recife: O Autor, 2010.**

190 folhas: il., fig., tab. e graf.

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Nutrição, 2010.**

Inclui bibliografia e anexos.

**1. Alcoolismo. 2. Aguardente. 3. Status
nutricional. 4. Perfil bioquímico. 5. Envelhecimento.
I. Título.**

613.81

CDD (20.ed.)

**UFPE
CCS2010-171**

**USO CRÔNICO DE AGUARDENTE POR RATOS EM
ENVELHECIMENTO: ALTERAÇÕES NUTRICIONAIS E
BIOQUÍMICAS**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Nutrição do
Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de
Pernambuco para obtenção do título
de Doutor em Nutrição

Aprovada em 07 de outubro de 2010

BANCA EXAMINADORA



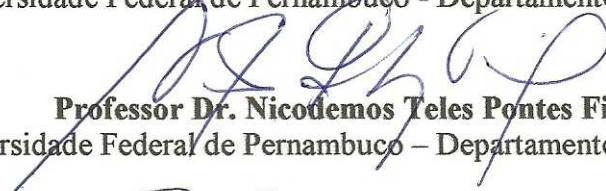
Professora Dr^a Ana Paula Rocha de Melo
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Nutrição



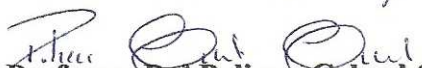
Professora Dr^a Maria Goretti Pessoa de Araújo Burgos
Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Nutrição



Professor Dr^a Prof^a Maria do Carmo Medeiros
Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Nutrição



Professor Dr. Nicodemos Teles Pontes Filho
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Patologia



Professor Dr^a Poliana Cabral Coelho
Universidade Federal de Pernambuco - Departamento de Nutrição

*A **Aldemir e Sônia**, meus pais.*

*A **Dany**, minha irmã.*

*A **Caio**, meu sobrinho*

*A **Francisca Bion**, mestre e amiga.*

*A **Roberta, Vanessa e Luciana**, amigas e companheiras.*

AGRADECIMENTOS

A **minha mãe**, Sônia Rolim, que esteve ao meu lado nas horas em que chorei e nas horas em que sorri, nas horas em que me lamentei e nas horas em que, de uma forma ou de outra, demonstrei total alegria... Por estar perto de você. Agradeço pelo sorriso diário, sem mágoas nem rancores, pelos meus dias de mau humor, em que você me acalmou em seu colo. Agradeço de peito aberto, de alma explosiva...

A **meu Pai**, Aldemir Lima. Eu não consigo expressar uma mensagem de carinho na proporção do meu amor. A você, por estar comigo sempre;

A **minha irmã**, Danielly Rolim, pela descontração e risadas necessárias;

Ao **meu sobrinho e grande amor**, Caio César, pessoa que AMO de maneira particular, um grande companheiro...

Aos **meus queridos avós** maternos Júlio Clementino e Anália Rolim (in memorian), e paternos Amaro Ferreira de Lima (in memorian) e Maria José Batista de Lima, pessoas que eu amo;

À **minha família** (tios, tias e primos), pelas orações e torcidas valiosas nesta fase da minha vida...

À minha orientadora, amiga, e “mãe científica”, Professora **Francisca Martins Bion**, que desde meus primeiros passos na pesquisa científica, ainda na graduação, me acompanha com todo carinho, delicadeza, confiança, objetividade e inteligência. Estou deveras feliz em poder agradecer-lhe por todos esses anos de convívio e de intensa aprendizagem. Sempre sua aluna...

À minha orientadora, Professora **Nonete Barbosa Guerra**, pela confiança depositada, a atenção dedicada e, sobretudo, a oportunidade única de compartilhar ricas horas de construção de conhecimento;

Ao **Programa de Pós-graduação em Nutrição/UFPE**, na pessoa da professora Mônica Osório (Coordenadora), através da qual agradeço a todos os **professores**, e na pessoa de Neci Nascimento (Secretária) agradeço a todos os **funcionários**;

Aos **professores e funcionários do Departamento de Nutrição (DN) e do Centro Acadêmico de Vitória (CAV)/UFPE**;

A Sr. **Ediones França**, veterinário do Biotério Central do Departamento de Nutrição, pela colaboração no manuseio dos animais;

*Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição/UFPE **Ana Maria França e Anisberto Silva da Cunha**;*

*Ao Professor **Nicodemos Teles Pontes Filho**, pela colaboração neste trabalho, com o seu “olhar histológico”...*

*Ao Professor **Alexandre Ricardo Pereira Schuler**, pela atenção sempre dispensada à análise cromatográfica da aguardente de cana-de-açúcar;*

*À Sr^a. **Maria Cristina Malta**, pela revisão linguística e documental do trabalho e enriquecimento do mesmo com suas colocações preciosas;*

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

*A **Fabiola Ponzi e Pedrita Mirella Queiroz**, pela valiosa colaboração nas atividades experimentais;*

*A **Luciana Orange, Roberta Bento e Vanessa Leal**, pela amizade verdadeira;*

*A **Wylla Tatiana**, pelo companheirismo: com você, compartilho muito da vida.*

*A **Bruno Galvão, Keila Dourado e Michelle Galindo**, pela nova amizade construída;*

*Aos **colegas do doutorado** que compartilharam os momentos de dedicação e aprendizado durante o curso;*

*Aos **alunos** aos quais tenho tido a honra de ensinar, mas, sobretudo, de aprender!*

*Aos **amigos** que, por algum momento, entenderam minha ausência na busca pela realização de um sonho.*

A todos, a expressão de meu imenso agradecimento!

Vai...

***Para sonhar o que poucos ousaram sonhar.
Para realizar aquilo que já te disseram que não podia ser feito.
Para alcançar a estrela inalcançável.***

***Essa será a tua tarefa: alcançar essa estrela.
Sem queres saber quão longe ela se encontra; nem de quanta esperança
necessitarás; nem se poderás ser maior do que o teu medo.
Apenas nisso vale a pena gastares a tua vida¹.***

¹ Autor: Paulo Geraldo

RESUMO

Ao envelhecer, o indivíduo pode tornar-se mais sensível à intoxicação alcoólica, o que torna o consumo de álcool um fator de risco à saúde e à qualidade de vida dos idosos. Este estudo objetivou verificar os efeitos da ingestão de aguardente de cana-de-açúcar em ratos de diferentes gêneros, com o avanço da idade. Ratos *Wistar* de ambos os gêneros, com 12/18 meses de idade (N=80), randomizados em quatro grupos de 10 animais: água-controle (GC) (GCF – grupo controle de fêmeas e GCM – grupo controle de machos) e GA – grupo aguardente (GAF – grupo aguardente de fêmeas e GAM – grupo aguardente de machos). Os animais foram alimentados, de forma exclusiva, com uma mistura de alimentos baseada na dieta da população do Nordeste brasileiro, com livre acesso à água e/ou aguardente, durante o período experimental (5 semanas). Foram avaliados o consumo alimentar, a ingestão de líquidos, o peso corporal e, ao final do experimento, o tecido hepático e os parâmetros bioquímicos (glicose, albumina, colesterol, lipoproteína de alta e de baixa densidade, relação colesterol/ lipoproteína de alta densidade, lipoproteína de muito baixa densidade e triglicérides). No artigo “Nutritional Effects of Sugar Cane Alcohol on Ageing Rats” a toxicidade da ingestão crônica de aguardente de cana-de-açúcar sobre o status nutricional no envelhecimento foi avaliada, em ratos de ambos os gêneros. Independente do tratamento, os machos consumiram mais ração e ingeriram maiores quantidades de água e aguardente, e apresentaram peso corpóreo superior, em relação às fêmeas. As análises histológicas dos segmentos hepáticos evidenciaram presença de esteatose e de áreas de necrose, gradativamente aumentadas nos animais que ingeriram maiores quantidades de aguardente. Os animais de ambos os gêneros do grupo aguardente tiveram glicose sérica elevada e menores valores de triglicérides e lipoproteína de muito baixa densidade. No artigo “Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age”, em ratos de ambos os gêneros foram verificados os efeitos da ingestão de aguardente de cana-de-açúcar no status nutricional e na lipemia, em função da idade. A ingestão calórica total foi maior no grupo aguardente, em ambas as idades e gêneros. O consumo de aguardente foi mais elevado nos machos, em ambas as idades, e a ingestão hídrica nos animais com 12 meses, em ambos os gêneros e tratamentos. Com exceção dos grupos GAF12 e GCF12, os demais apresentaram perda de peso; independente da idade, os animais do GA apresentaram maior peso relativo do fígado, com exceção do GCF12. Os valores séricos de lipoproteína de alta densidade foram maiores nos animais do GA, exceto no GAF12; entretanto, a bebida elevou a fração lipoproteína de muito baixa densidade e os triglicérides no GAF12 e no GAM18. Em conclusão, a aguardente de cana-de-açúcar, pelo seu alto teor de etanol, é uma bebida complexa, e os danos decorrentes de sua ingestão no status nutricional e bioquímico de ratos podem variar, na dependência da idade e do gênero.

Palavras-chave: Alcoolismo, Aguardente, Status nutricional, Perfil bioquímico, Envelhecimento, Ratos.

ABSTRACT

Upon ageing, an individual can become more sensitive to alcohol intoxication, which makes alcohol intake a risk factor to the health and quality of life of the elderly. The aim of the present study was to determine the effects of the intake of sugarcane alcohol in male and female rats in function of age. *Wistar* rats at 12 and 18 months of age (N=80) were each randomized into four groups of ten animals: water control group [CG; female control group (FCG) and male control group (MCG); and alcohol group [AG; female alcohol group (FAG) and male alcohol group (MAG). The animals were fed exclusively a blend of foods based on the typical diet of the population of northeastern Brazil, with free access to water and/or alcohol throughout the five-week experimental period. Food intake, liquid intake and body weight were assessed. At the end of the experiment, liver tissue and biochemical (glucose, albumin, cholesterol, high-density lipoprotein, cholesterol/high-density lipoprotein ratio, low-density lipoprotein, very low-density lipoprotein and triglycerides) were analyzed. In the article “Nutritional Effects of Sugar Cane Alcohol on Ageing Rats”, the toxicity of the chronic ingestion of sugarcane alcohol was assessed with regard to nutritional status in male and female rats. Regardless of the treatment, males consumed more ration, water and sugar cane alcohol and had a greater body weight than females. The histological analyses of the liver segments revealed the presence of steatosis and areas of necrosis. Both male and female rats in the alcohol group had higher serum glucose and lower levels of triglycerides and very low-density lipoprotein. In the article “Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age”, calorie intake was greater in the alcohol group in both genders and at both ages. Alcohol intake was greater among males at both ages. Water intake was greater among the animals at 12 months of age in both genders and treatments. With the exception of FAG12 and FCG12, the other groups experienced weight loss. Regardless of age, the alcohol group had the greatest relative weight of the liver, except in comparison to FCG12. The serum values of high-density lipoprotein were higher in the alcohol group, except in comparison to FAG12. However, alcohol intake increased the fraction of very low-density lipoprotein and triglycerides in FAG12 and MAG18. The findings demonstrate that, due to its high ethanol content, sugarcane alcohol is a complex beverage and the harm it causes to nutritional status and biochemical parameters in rats varies with age and between genders.

Keywords: Alcoholism, sugarcane alcohol, nutritional status, biochemical profile, ageing, rats

*“Foi a tua mão que encontrei estendida, quando realmente precisei de ajuda. Foram teus olhos que fixei, quando me senti só. Tuas palavras me orientaram, mostrando o caminho correto, que eu não encontrava. Teu sorriso consolou-me. Sua força era tudo que precisava”². Minha profunda gratidão a **Deus**, que me permitiu galgar o caminho do doutoramento, há algum tempo atrás um sonho, repleto de esperanças, hoje uma linda realidade. Meu eterno agradecimento...*

² Autor: desconhecido.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
OBJETIVOS	14
HIPÓTESES	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
<i>Envelhecimento: impacto demográfico.....</i>	<i>17</i>
<i>Alcoolismo no idoso: dados epidemiológicos</i>	<i>19</i>
<i>Bioquímica do álcool com o avanço da idade: um recorte</i>	<i>21</i>
<i>Aguardente de cana-de-açúcar: bebida típica do povo brasileiro</i>	<i>25</i>
<i>Modelos animais como método de investigação dos efeitos tóxicos do álcool.....</i>	<i>30</i>
<i>Hepatotoxicidade do álcool com o avanço da idade</i>	<i>32</i>
<i>Alcoolismo: efeitos nutricionais no envelhecimento</i>	<i>38</i>
3 MÉTODOS.....	43
<i>Estrutura geral.....</i>	<i>43</i>
<i>Animais e grupos experimentais.....</i>	<i>44</i>
<i>Dieta experimental</i>	<i>45</i>
<i>Análises da aguardente de cana-de-açúcar</i>	<i>46</i>
<i>Oferta de líquidos</i>	<i>48</i>
<i>Peso Corporal</i>	<i>48</i>
<i>Sacrifício dos animais e análises bioquímicas.....</i>	<i>49</i>
<i>Índice do Peso Relativo do Fígado</i>	<i>49</i>
<i>Procedimentos para estudo histológico do fígado.....</i>	<i>49</i>
<i>Análise estatística</i>	<i>50</i>
4 RESULTADOS – ARTIGOS ORIGINAIS.....	52
Nutritional Effects of Sugar Cane Alcohol on Ageing Rats.....	53
Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age	82
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
6 PERSPECTIVAS	114
REFERÊNCIAS.....	116
ANEXOS	125
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	126
ANEXO B - DOCUMENTAÇÃO DA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	127
ANEXO C – DOCUMENTAÇÃO DE ENCAMINHAMENTO DO ARTIGO “NUTRITIONAL EFFECTS OF SUGAR CANE ALCOHOL ON AGEING RATS” AO PERIÓDICO	128
ANEXO D– DOCUMENTAÇÃO DE ENCAMINHAMENTO DO ARTIGO “EFFECTS OF SUGARCANE ALCOHOL ON NUTRITIONAL STATUS AND LIPEMIA IN MALE AND FEMALE RATS IN FUCTION OF AGE” AO PERIÓDICO	129
ANEXO E – ARTIGOS ORIGINAIS: VERSÃO EM PORTUGUÊS	130

INTRODUÇÃO

1. Introdução

Com o aumento da expectativa de vida, mais do que nunca cresce o interesse em se identificar os fatores que contribuem para um envelhecimento sadio, assim como os que interferem negativamente na saúde do indivíduo.

Os idosos constituem a mais heterogênea população, quando comparados a indivíduos de outras faixas etárias, apresentando capacidades totalmente variáveis, além de diferentes níveis de funcionamento orgânico. Apesar do envelhecimento ser um processo natural e gradual que vai acontecendo aos poucos, ao longo de algumas décadas, as diversas alterações fisiológicas relacionadas à idade tornam esse segmento da população vulnerável a algumas influências ambientais (LAMEU, 2005), entre estas, o uso abusivo de bebidas alcoólicas .

Em geral, quando ingeridas em baixa quantidade e frequência, essas bebidas não geram problemas físicos ou psíquicos, na maioria das pessoas (FERREIRA; MELLO; FORMIGONI, 2004). No entanto, o uso abusivo é bastante prejudicial, considerado um grave problema de saúde pública, contribuindo fortemente na etiologia e manutenção de vários problemas sociais, econômicos e de saúde (GALDURÓZ; CAETANO, 2004).

Apesar dos problemas, em diferentes níveis, que o consumo do álcool pode provocar no homem, o alcoolismo chega aos dias atuais sem que haja ainda um consenso sobre a sua definição; entretanto, segundo a Décima Classificação Internacional de Doenças (CID-10) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993), ele é entendido como “o uso padronizado de uma substância alcoólica que causa dano físico ou mental”.

O alcoolismo ou síndrome de dependência alcoólica é hoje uma realidade na vida da população, com o avanço da idade; o número de idosos envolvidos com o álcool tem aumentado progressivamente, numa proporção preocupante, tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento (ALMEIDA, 1999; CASTILLO et al., 2008; O'CONNELL et al., 2003; RIGO et al., 2005). Embora pouco diagnosticado e não adequadamente avaliado, o problema merece uma maior atenção, pelo crescente aumento desse grupo etário.

Em humanos, estudos epidemiológicos revelaram associação entre o uso abusivo de álcool e uma maior susceptibilidade a doenças, má nutrição (BODE; BODE, 1997; BRODY, 1998; LIEBER, 1976) e alterações psicológicas e cognitivas (ALMEIDA, 1999; O'CONNELL et al., 2003), tornando o envelhecer um período de alto risco para as pessoas que têm por hábito este tipo de consumo. Para completar este quadro adverso, uma queda no funcionamento dos órgãos normalmente acompanha o processo de envelhecimento e atua

negativamente sobre as comorbidades existentes, como as doenças crônico-degenerativas: diabetes, doença cardiovascular, osteoporose, e alguns tipos de câncer, que interferem muito e prejudicam a qualidade e expectativa de vida destes indivíduos (LAMEU; BUKSMAN; HAGEMEYER, 2005).

A partir destes resultados epidemiológicos, estudos experimentais com modelos animais de laboratório estão sendo utilizados com a finalidade de avaliar os efeitos adversos do uso do álcool.

Em ratos, modelos de exposição ao álcool em curto ou em longo prazo são utilizados para investigar as consequências das agressões induzidas pela ingestão desta substância. Os estudos em animais têm indicado forte evidência de que o álcool tem um papel negativo no processo de envelhecimento. Os achados mais consistentes de estudos com roedores referem que o consumo excessivo de álcool aumenta a vulnerabilidade aos fatores negativos do envelhecimento, em comparação com animais controles. A idade de início e a duração da exposição à droga são importantes na determinação da resposta ao álcool (CAHILL et al., 2005; GIAVAROTTI et al., 2002; HAYAKAWA et al., 1992; PFEFFERBAUM et al., 1992; UNNO et al., 2002; WOODS, DRUSE, 1996).

Na Região Nordeste do Brasil, embora se trate de um costume bastante disseminado, não há referências sobre o padrão de consumo alcoólico da população, em especial dos idosos. Não obstante, sabe-se que é bastante difundido o consumo de “aguardente de cana-de-açúcar”, o que poderá acarretar riscos sociais, econômicos e de saúde para a população, com complicações negativas sobre a qualidade de vida. Toda a fundamentação teórica relativa ao que foi descrito e ao que será relatado ao longo do trabalho será detalhada a seguir. Pretendemos, portanto, solidificar nossa hipótese com o que há de mais recente e aprofundado sobre o tema, na literatura.

Vale salientar que esta abordagem do alcoolismo é sumamente importante, sobretudo levando-se em conta o diferente tipo de bebida alcoólica objeto do estudo (aguardente de cana-de-açúcar), bem como a dieta, composta por uma mistura de alimentos regionais, ofertada aos animais.

Assim, em virtude do número cada vez maior de idosos consumidores de álcool e do crescimento acelerado desse grupo etário, identificar os efeitos nutricionais e bioquímicos do uso de aguardente durante o envelhecimento tem grande relevância científica e social, considerando as lacunas e dúvidas existentes acerca do impacto nutricional e metabólico deste consumo, bem como aspectos controvertidos deste hábito, cada vez mais frequente nas sociedades modernas.

Objetivos

Geral

Verificar os efeitos da ingestão de aguardente de cana-de-açúcar em ratos de diferentes gêneros, com o avanço da idade.

Específicos

- Avaliar os efeitos da aguardente de cana-de-açúcar sobre os aspectos nutricionais e bioquímicos;
- Investigar a possível correlação dos efeitos da aguardente de cana-de-açúcar entre os gêneros.

Hipótese

A ingestão crônica de aguardente de cana-de-açúcar exerce efeito adverso sobre o status nutricional de ratos em envelhecimento, de ambos os gêneros.

_____REVISÃO DA LITERATURA

2. Revisão da literatura

Envelhecimento: impacto demográfico

O envelhecimento é um processo universal, evolutivo e gradual, que envolve um somatório de fatores, dentre os quais devem ser enfatizados os sociais, psíquicos, ambientais e biológicos, que estão intrinsecamente relacionados e podem acelerar ou retardar esse processo.

O envelhecimento populacional é uma realidade atual em diferentes países. A Organização das Nações Unidas (ONU) considera o período entre 1975 e 2025 a “Era do Envelhecimento”, quando haverá na população idosa um crescimento de 54% nos países desenvolvidos, enquanto nos países em desenvolvimento alcançará 123% (ROSA et al., 2010).

Estima-se que, a cada mês, a população mundial sofre um acréscimo de 800.000 pessoas acima dos 65 anos de idade, representando atualmente 12% da população mundial (CHAIMOWICZ, 1997). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), esse segmento cresce mais rapidamente que qualquer outra faixa etária. Além disso, a proporção da população “mais idosa”, ou seja, de 80 anos ou mais, também está aumentando, alterando a composição dentro do próprio grupo. Em outras palavras: a população considerada idosa também vem envelhecendo (CAMARANO, 2002; LAMEU; BUKSMAN; HAGEMEYER, 2005).

O envelhecimento demográfico da população é uma realidade que não se restringe apenas aos considerados países do Primeiro Mundo, onde a expectativa de vida sempre foi bem mais elevada. Hoje, no grupo de países do Terceiro Mundo, onde se inserem os países latinos, cresce a expectativa de vida e há um consequente aumento da população idosa (ROSA et al., 2010). Em 2050, estima-se que haverá, no mundo, 7,7 bilhões de idosos (MEYDANI; AHMED; MEYDANI, 2005).

No Brasil, o processo de envelhecimento populacional iniciou-se a partir de 1960, com o declínio da fecundidade, tanto nas áreas urbanas quanto nas rurais, sendo o aumento da população idosa menos acentuado nas faixas etárias acima dos 80 anos e mais acelerado nas faixas de pouco mais de 60 anos (CHAIMOWICZ, 1997). Dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) sobre o crescimento da população idosa apontam que o Brasil se apresentará, em 2025, como o país com a sexta maior população nessa faixa etária,

com 31,8 milhões de idosos. Este aumento, segundo a OMS, deverá ser de 15 vezes, enquanto a população total aumentará cinco vezes (CARVALHO; GARCIA, 2003).

Outros fatores apontados como influenciadores deste crescimento significativo na população idosa, nos países em desenvolvimento como o Brasil, são: melhores condições de higiene, saúde, nutrição e acesso aos serviços assistenciais, promovendo uma redução nas taxas de mortalidade infantil e na segunda metade da vida, resultando num processo contínuo de estreitamento da pirâmide etária (CARVALHO; GARCIA, 2003; CHAIMOWICZ, 1997;).

Na atualidade, a expectativa de vida no Brasil tem aumentado, chegando aos 68 anos e cinco meses, com projeções para 72 anos, nos próximos 30 anos. Essa expectativa de vida ocorre de forma diferenciada, segundo o gênero, sendo maior para as mulheres, o que caracteriza o fenômeno de “feminização da velhice”, ou seja, a população idosa é composta, em sua maior parte, por mulheres (CAMARANO, 2002).

Na Região Nordeste, em apenas 21 anos (1970/1991) a população com idade superior a 60 anos duplicou, passando de 3% para 6% do total. Este fenômeno pode ser atribuído tanto à migração de jovens em idade produtiva como a declínios nas taxas de mortalidade e fecundidade (COELHO FILHO; RAMOS, 1999).

A OMS classifica o indivíduo como idoso quando sua idade é igual ou superior a 65 anos, em países desenvolvidos, e acima de 60 anos, em países em desenvolvimento (WHO, 1998).

Em termos fisiológicos, o envelhecimento é um processo natural e gradual, dinâmico e progressivo de alterações morfológicas, bioquímicas e psicológicas que determinam contínua perda da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente, aumentando sua vulnerabilidade a agentes estressores (CARVALHO FILHO, 1996). Desta forma, o grande desafio deste século será “cuidar” de uma população envelhecida, buscando sempre a saúde, a preservação da capacidade funcional, mantendo o idoso independente e com capacidade de determinar e executar seus próprios desígnios (RAMOS, 2003).

Assim, o planejamento, a execução e a implementação de políticas públicas e programas de atenção que concentrem ações na promoção, proteção, recuperação e manutenção da saúde e da capacidade funcional do indivíduo idoso são sempre importantes e se sobrepõem como prioridades.

Alcoolismo no idoso: dados epidemiológicos

O envelhecimento populacional exige preparação, considerando as consequências sociais e econômicas que dele resultam. No entanto, países em desenvolvimento, como o Brasil, ainda não estão preparados para esse crescimento, nem tampouco para os diferentes problemas comuns neste estágio de vida.

Tem sido preocupação constante das autoridades públicas, especialmente do setor de saúde, familiares, dentre outros, a problemática do alcoolismo em indivíduos, com o avanço da idade. O abuso do álcool tornou-se um problema de saúde, por seu contínuo aumento e ainda pelos efeitos que o consumo desta droga acarreta na saúde e qualidade de vida da população idosa.

Entre os idosos norte-americanos, o uso de bebidas alcoólicas é um dos principais problemas de abuso de substâncias, com estimativa alarmante de crescimento (21% da população, em 2030) (RIGO et al., 2005). A prevalência estimada de alcoolismo nesse segmento populacional é de 10% na comunidade, 14% nas urgências hospitalares, 18% nas internações em enfermarias e 23 a 44% em unidades psiquiátricas (O'CONNELL et al., 2003).

Estudo realizado por Castillo et al. (2008), em 112 idosos mexicanos maiores de 60 anos, registrou o consumo diário de álcool em 37,5% dos entrevistados.

Sulski et al. (1990) estudaram, em Boston, 173 homens e 317 mulheres com idades entre 60 e 95 anos, registrando que 55% dos homens e 44% das mulheres reportaram consumir álcool semanalmente.

Estudo epidemiológico sobre mortalidade por consumo de álcool, realizado em 2001, na Alemanha, constatou uma prevalência de mortalidade de 25% para homens e 13% para mulheres, com nível mais elevado na faixa de 35-64 anos (JOHN; HANKE, 2002).

Apesar de serem comuns e frequentes os problemas associados ao consumo de álcool por idosos, no Brasil ainda são escassos os estudos específicos realizados sobre a frequência do uso desta droga entre pessoas idosas e os fatores negativos a ela associados.

Na década de 90, alguns pesquisadores avaliaram o padrão de consumo alcoólico em idosos, por gênero, constatando diferença na quantidade e frequência, com predomínio para os homens (FRONE; COOPER; RUSSEL, 1994; GLASS et al., 1995). Achados esses que seriam corroborados por Castillo et al. (2008), estudando 112 idosos mexicanos, com um consumo alcoólico de 31% para as mulheres e 62,2% para os homens; ambos os gêneros reportaram ingerir bebidas alcoólicas diariamente.

Almeida (1999) avaliou 5.434 atendimentos em urgência psiquiátrica na Santa Casa de São Paulo, constatando que 7,3% dos pacientes tinham de 60 a 96 anos de idade. Dentre estes, foi registrado alcoolismo em 4,1% dos casos.

Castro-Costa et al. (2008) também investigaram o consumo de álcool no Brasil, um estudo pioneiro em avaliar o padrão de consumo de álcool em brasileiros mais velhos, utilizando os dados de Laranjeira et al. (2007). O estudo abrangeu 400 indivíduos com 60 ou mais anos, dos quais 55,80% eram do sexo feminino, na faixa etária entre 60 e 69 anos (63,50%). Consumo excessivo de álcool foi constatado em 12,40% dos participantes e 2,90% dependência da droga.

Não obstante serem mais susceptíveis ao desenvolvimento do alcoolismo, o consumo do álcool por mulheres maiores de 65 anos também foi menos pronunciado, quando comparado com o de homens do mesmo grupo etário. Entretanto, na atualidade, a ingestão de bebidas alcoólicas, incluindo o consumo excessivo de álcool em mulheres, tem sido mais aceito socialmente do que em anos anteriores (HELMUT; SEITZ; STICKEL, 2007).

Alguns fatores contribuem para que se agrave a problemática de beber a medida que se envelhece: perda do papel social, viuvez, morar sozinho (HULSE, 2002), divórcio, problemas econômicos e de saúde, má comunicação entre os membros da família, morte de um membro familiar e ainda problemas no trabalho. Os cinco últimos foram os fatores mais frequentemente referenciados pelos idosos mexicanos que participaram de pesquisa realizada por Castillo et al. (2008).

Não obstante o uso abusivo do álcool constituir também um problema presente na terceira idade, ações em saúde pública têm direcionado a identificação do alcoolismo prioritariamente entre adultos jovens. No entanto, as consequências físicas, sociais, psicológicas e cognitivas do alcoolismo também abrangem os idosos, e os efeitos deletérios resultantes do consumo desta substância psicoativa parecem ser mais contundentes nesta parcela da população, por sua maior sensibilidade ao álcool (SMITH, 1995).

Independente do gênero, o consumo excessivo do álcool pode influenciar negativamente a capacidade funcional, bem como a habilidade psicomotora e cognitiva dos idosos, o que aumenta o risco de acidentes, ferimentos e isolamento.

Pesquisas demonstram maior vulnerabilidade ao uso do álcool por idosos do que por jovens (BUCHOLZ; SHELINE; HELZER, 1995; CASTILLO et al., 2008; SMITH, 1995). Ao envelhecer, o indivíduo pode tornar-se mais sensível à intoxicação alcoólica com doses que, no passado, eram bem toleradas (HULSE, 2002), o que torna o consumo de bebidas alcoólicas

concomitante ao avanço da idade um fator de risco à saúde e à qualidade de vida desses indivíduos.

Bioquímica do álcool com o avanço da idade: um recorte

O metabolismo do etanol diminui com o avanço da idade, mas o porquê desta alteração metabólica é uma questão ainda a responder. Essa maior vulnerabilidade do idoso ao álcool pode ser em parte explicada por alguns fatores, como: alterações orgânicas naturais, que modificam a resposta aos efeitos desta substância (HULSE, 2002), redução na água corporal e filtração glomerular, diminuição da tolerância ao etanol, além da redução do metabolismo da droga no sistema digestório.

No idoso, a redução da massa corporal magra está associada ao aumento proporcional da gordura corporal e, por ser hidrossolúvel, o álcool ingerido alcança maior concentração sanguínea (aumento na alcoolemia) (CASTILLO et al., 2008; HULSE, 2002).

Outro fator que explica esta diferença na sensibilidade ao álcool entre jovens e idosos é a redução da álcool-desidrogenase (ADH) gástrica, que tem seu metabolismo dificultado e exige mais atividade de enzimas hepáticas, que também se reduzem em número e ação durante o envelhecimento (SMITH, 1995).

Em ambos, humanos e roedores, a ADH tem uma função primária no metabolismo do etanol. Laure-Achagiotis, Poussard e Louis-Sylvestre (1990) sugerem que existe um limite para a ação desta enzima, em ratos, em torno de 1,1g etanol/dia. Outra rota metabólica para oxidação do etanol é a atividade do citocromo P-450, o sistema microssomal de oxidação do etanol (Meos), que tem uma significativa função no metabolismo desta substância, quando em altas concentrações. A literatura refere declínio, tanto da atividade da ADH quanto da reação metabólica dependente do citocromo P-450, com o avanço da idade (KATO; YAMAZOE, 1992; LUCEY et al., 1999).

Alguns resultados contraditórios têm sido observados em estudos sobre os efeitos do aumento da idade na toxicidade do etanol. Em geral, pessoas idosas ou animais velhos têm uma menor tolerância ao álcool, quando comparados aos jovens contrapartes (HARTFORD; SAMORAJSKI, 1982; MENDENHALL et al., 1989).

A literatura refere ainda existir significativa diferença em relação ao gênero, nos efeitos do aumento da idade no metabolismo do etanol (BERESFORD; LUCEY, 1995; RIKANS et al., 1990; RIKANS; SNOWDEN, 1989; SEITZ et al., 1989).

Estudos experimentais com animais de laboratório têm demonstrado uma diminuição na eliminação do etanol, bem como na atividade da ADH com o avanço da idade, em ratos machos; entretanto, esses achados não foram observados em ratas (BERESFORD; LUCEY,

1995; SEITZ et al., 1989). Esses resultados confirmam os achados de Rikans e Snowden (1989) e Rikans et al. (1990), que observaram, em ratos Fischer-344 (F344), que o aumento da idade retardou o metabolismo do etanol em machos, mas não em fêmeas. Como prováveis fatores explicativos da diminuição na eliminação do etanol em ratos F344 podem ser mencionados: aumento no peso corporal em relação ao peso do fígado, redução da atividade da ADH hepática, e ainda uma diminuição da utilização da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+), um cofator para a ADH (SEITZ et al., 1989).

Vale também referir que o acúmulo de gordura hepática induzida pela administração crônica de etanol aumentou com o avanço da idade, em ratos machos, porém a idade não afetou a injúria hepática induzida por álcool, em ratas (SEITZ et al., 1992). À proporção que a idade avança, ocorre um decréscimo na funcionalidade do retículo endoplasmático liso e, como consequência, diminui a oxidação microsomal do etanol e o metabolismo de outras drogas, que acontece no citocromo P-450 (SCHMUCKER, 1979; SCHMUCKER; WANG, 1980). Assim, o Meos (citocromo P-450) é significativamente reduzido com a idade, o mesmo acontecendo com a função mitocondrial, incluindo a atividade da acetaldeído desidrogenase, de localização intramitocondrial (SEITZ et al., 1989) (Figura 1).

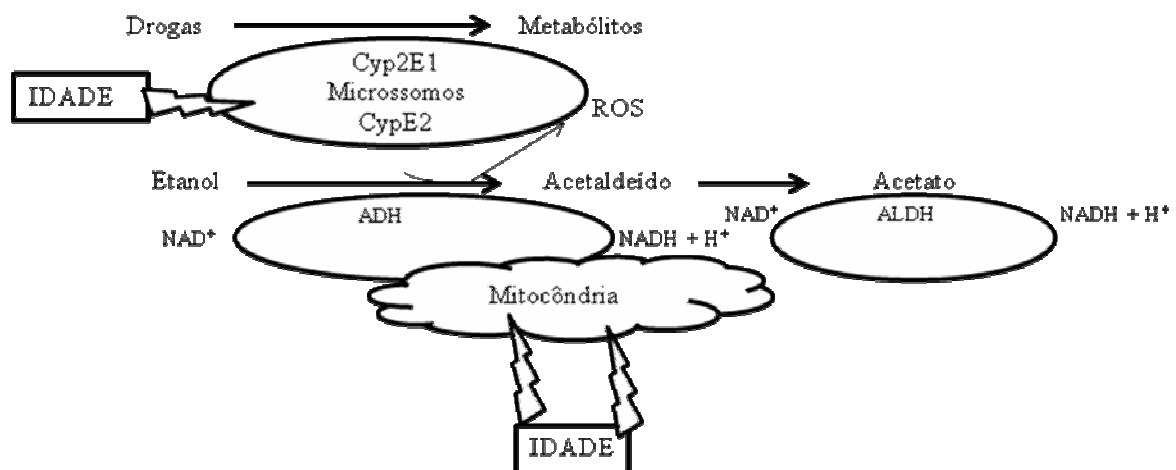


Figura 1. Idade e metabolismo do etanol.

Com a idade, diminui a função microssomal e mitocondrial. Como as drogas e etanol são metabolizados pelo citocromo P-450 no sistema microssomal, uma interação entre esses componentes possivelmente ocorre mais facilmente com o avanço da idade, resultando em aumento da toxicidade. Mitocôndrias são importantes para a reoxidação da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH); entretanto, com a idade o metabolismo do etanol álcool-desidrogenase (ADH) dependente é diminuído, assim como a oxidação de ácidos graxos, resultando em fígado gorduroso. ROS: Espécie reativa de oxigênio.

Fonte: Seitz, e Stickel. (2007)

Em humanos, as modificações na anatomia e fisiologia do fígado à proporção que aumenta a idade, como diminuição do tamanho, o que resulta em redução do número de hepatócitos (unidade funcional hepática) (THOMPSON; WILLIAMS, 1965), assim como o menor fluxo sanguíneo para o tecido hepático, têm um efeito negativo na eliminação de etanol pelo organismo (VESTAL et al., 1979).

A idade também afeta o padrão de atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do álcool (HELMUT SEITZ; FELIX, 2007) a exemplo da sigma-ADH, que é expressa predominantemente na mucosa gástrica e se responsabiliza pelo primeiro caminho metabólico do etanol (PEDROSA et al., 1996; SEITZ, EGERE; SIMANOWSKI, 1990). A literatura registra diferenças na atividade desta enzima, de acordo com o gênero. Mulheres jovens já exibem uma menor atividade da sigma-ADH, quando comparadas com homens jovens. Entretanto, a maior atividade enzimática da ADH observada em homens decresce, quando comparada com mulheres depois dos 60 anos de idade (SEITZ, EGERE; SIMANOWSKI, 1990; SEITZ et al., 1993).

Neste contexto, é interessante referir que a atividade da ADH gástrica é extremamente prejudicada no caso de uma gastrite atrófica crônica (SEITZ et al., 1993), uma patologia que ocorre quase que exclusivamente com o avanço da idade, prejudicando, assim, o metabolismo inicial da droga.

Desta forma, é inquestionável que o avanço da idade resulta na elevação da concentração sanguínea de álcool (alcoolemia) (GÄRTNER et al., 1996; VESTAL et al., 1977). Achado este comprovado por Gärtner et al. (1996), ao oferecer semelhante quantidade de álcool, por grama de kilograma de peso corporal, a pais e filhos ou mães e filhas, tendo sido registrado significativo aumento na alcoolemia dos pais.

Além disso, existem diferenças na forma de uso do álcool e na resposta ao etanol entre os idosos e, devido à maior prevalência das doenças crônicas nessa categoria populacional, a vulnerabilidade aos efeitos negativos do álcool é mais acentuada (BUCHOLZ; SHELINE; HELZER, 1995).

Em relação aos indivíduos idosos sadios, o uso abusivo de álcool os torna mais susceptíveis ao risco de hipertensão arterial, arritmias cardíacas, infarto do miocárdio, cardiomiopatia, acidente vascular encefálico hemorrágico, redução da resposta imunitária, hepatopatias, depressão, sangramento gastrointestinal, má nutrição, redução da massa óssea, fraturas e alterações cognitivas, tornando a senectude um estágio de vida “crítico” induzido pelo álcool (VICTOR; ADAMS; COLLINS, 1989).

Assim, a problemática do alcoolismo tem maior relevância nestes indivíduos, pelo fato de o diagnóstico ser mais dificilmente estabelecido nos idosos que em adultos jovens (HULSE, 2002), bem como devido às alterações orgânicas próprias do envelhecimento.

Aguardente de cana-de-açúcar: bebida típica do povo brasileiro

As bebidas alcoólicas são tão antigas quanto a humanidade e tão numerosas como as etnias. Fenícios, assírios, babilônios, hebreus, egípcios, chineses, gregos, romanos e germanos mencionaram-nas e cada povo praticamente tem as suas bebidas específicas, a partir das fontes naturais próprias de açúcares e amiláceos, como frutas, cana, milho, trigo, arroz, batata, centeio, aveia, cevada e mesmo raízes e folhas (REIS; RODRIGUES, 2003).

O decreto nº 2.134, do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1997) define bebida como todo produto industrializado, destinado à ingestão humana, em estado líquido sem finalidade medicamentosa ou terapêutica. Já a legislação brasileira define bebida alcoólica como um produto líquido, refrescante, aperitivo ou estimulante, destinado ao consumo humano, contendo 0,5% de álcool etílico e que não seja usada como medicamento. As bebidas com baixos teores de etanol são normalmente denominadas refrescantes, como é o caso das cervejas, de alguns vinhos espumantes e das sidras, enquanto as que contêm teores alcoólicos altos, como vinhos tintos, licores, aguardentes, runs, entre outras, são chamadas estimulantes (REIS; RODRIGUES, 2003).

As bebidas alcoólicas podem ser classificadas, de uma maneira geral, em fermentadas e destiladas. Contudo, a legislação faz uma classificação mais específica: fermentadas por mistura e fermento-destiladas (REIS; RODRIGUES, 2003). De acordo com Mendonça et al. (1999), as bebidas alcoólicas possuem características próprias de aroma e sabor conferidas pela presença de diversos constituintes do processo fermentativo. Além do etanol, compostos orgânicos, como álcoois superiores, ácidos orgânicos e ésteres, podem estar presentes e interferir em tais características.

Das bebidas fermentadas e não-destiladas, obtidas a partir de grãos ou cereais maltados, denominados malte, ou de frutas ricas em açúcares, as mais importantes são as cervejas, os vinhos e a sidra. Já as bebidas destiladas são oriundas de mosto de frutos, cereais, tubérculos, raízes e gramíneas, como é o caso da aguardente de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), em que uma diversidade de leveduras, com predominância de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, transformam as fontes energéticas em álcool etílico e outros produtos metabólicos, separados por destilação, e por isso são denominadas bebidas fermento-destiladas (BOZA; HORII, 1998). Vários são os fatores que podem interferir na qualidade das bebidas alcoólicas destiladas, tais como: a matéria-prima, a fermentação, o método de condução do processo fermentativo, a destilação e o envelhecimento (SOUZA, 2005).

Dependendo do país e da disponibilidade de matérias-primas, produz-se em maior quantidade um determinado tipo de bebida alcoólica característica da região, como o uísque,

nos Estados Unidos e na Escócia, a vodca, na Rússia, o saquê, no Japão, o rum, em Cuba, e a aguardente, no Brasil, entre outras (REIS; RODRIGUES, 2003).

A produção de aguardente, no Brasil, destina-se quase totalmente ao mercado interno, em que o consumo atende a um hábito amplamente difundido, especialmente entre a população de baixo poder aquisitivo, visto ser uma bebida de preço relativamente baixo (LIMA NETO et al. 1994). Entretanto, Pataro et al. (2002) relataram que, atualmente, a aguardente está presente em todos os segmentos sociais, no Brasil. Paradoxalmente, a parcela de produção destinada ao mercado externo é pouco significativa (LIMA NETO et al. 1994), embora em ascensão, e vem aos poucos conquistando o paladar internacional de bebidas destiladas, pelo seu sabor especial e exótico (SOUSA, 2005). Em 2003, foram exportados 5,2 milhões de litros de aguardente e cachaça, e em 2004 esse volume aumentou para 10,2 milhões de litros (BRASIL, 1974), sendo os principais países importadores: Alemanha, Portugal e Estados Unidos (LÓPEZ, 2004). Em 2008 foram exportados US\$ 16.418.978,00 (11.092.088 litros) para aproximadamente 60 países (CBRC, 2009).

Conhecida também como “branquinha”, “caninha”, “cachaça”, “pinga” e “pura”, a aguardente (água + ardente) pode ser obtida pela fermentação e posterior destilação de mostos açucarados (todo líquido açucarado apto a fermentar), oriundos do caldo e de macerados vegetais ou não. O fluxograma da figura 2 representa o processo de produção de cachaça.

Assim, a definição de aguardente é genérica e, como tal, pode-se encontrar aguardentes de frutas, de cereais, de raízes e tubérculos e ainda de colmos, como cana-de-açúcar, obtendo-se uma bebida com cerca de 42% de etanol (BOZA; HORII, 1998).

A aguardente é composta por água, etanol e quantidades menores de compostos orgânicos diversos, como álcoois superiores, ésteres, aldeídos, compostos carbonílicos, acetais, fenóis, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados e sulfurados, açúcar e outros. O gosto, “flavour” de uma bebida alcoólica são atribuídos, em pequena parte, ao conteúdo de etanol da bebida. Para o paladar, a principal atração de uma bebida alcoólica é a grande variedade de combinações de compostos orgânicos presentes em baixas concentrações, por ação de leveduras (ABREU-LIMA et al. 2005; ROSE, 1977; SUOMALAINEN; LEHTONEN, 1979).

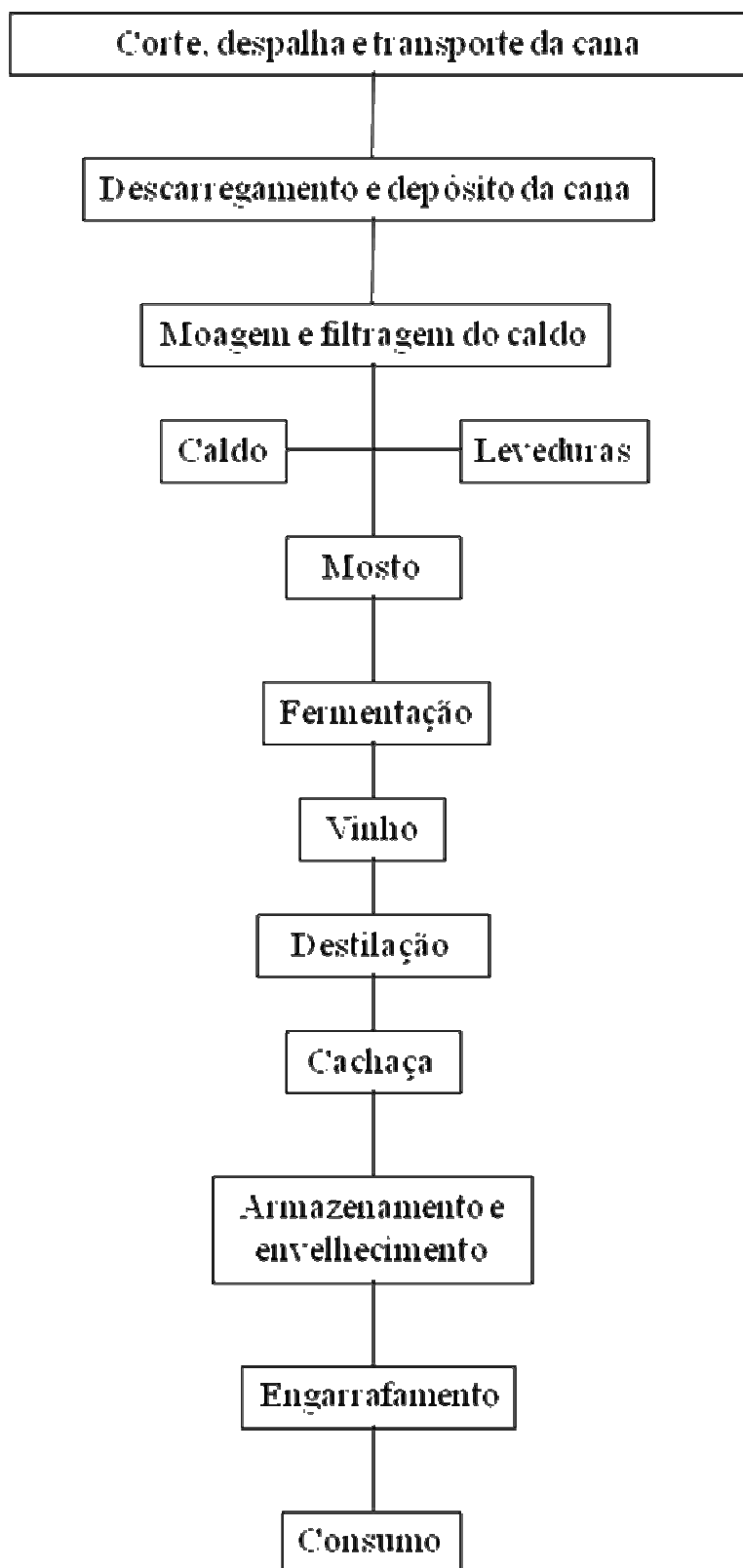


Figura 2. Fluxograma do processo produtivo de cachaça.

Fonte: a autora.

A aguardente de cana-de-açúcar é um tipo de bebida produzida no Brasil que recebe a denominação típica e exclusiva de cachaça e apresenta graduação alcoólica de 38 % vol (trinta e oito por cento em volume) a 48% vol (quarenta e oito por cento em volume) a 20°C (vinte graus Celsius), sendo obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6g/L⁻¹, expressa em sacarose. Quando a quantidade adicionada de açúcares é superior a esta e inferior a 30g/L⁻¹, a bebida passa a ser denominada cachaça adoçada (BRASIL, 2005). Assim, a cachaça é, sem margem para contestação, a bebida típica do povo brasileiro, haja vista ser o Brasil o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, matéria-prima bastante utilizada em sua produção, seguido pela Índia e Cuba (BARROS; RIBEIRO; ROLIM, 1989).

A cana-de-açúcar é uma planta que pertence à classe das Monocotiledôneas, família Poaceae (Gramineae), gênero *Saccharum* e espécie *Saccharum* spp, cuja composição química é de: 65% a 75% de água, 11% a 18% de sacarose, 0,2% a 1,0% de glicose, 0,0% a 0,6% de frutose, 8% a 14% de cinzas e o restante constituído por compostos nitrogenados, minerais, gorduras, ceras e compostos pécticos (SANTANA, 1995).

A produção da cachaça no Brasil ocorre de uma forma pulverizada, em quase todos os estados. Segundos dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), existem cerca de 1.800 estabelecimentos produtores de cachaça registrados e mais de 30 mil produtores, em todo o país. A maior parte está localizada nos estados de São Paulo, Pernambuco, Ceará, Rio de Janeiro, Goiás e Minas Gerais, que respondem por cerca de 75% da produção nacional (BRASIL, 2005).

A aguardente de cana tem seus padrões de identidade e qualidade definidos pela Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005, segundo a qual o coeficiente de congêneres deve situar-se entre 200 e 650 mg por 100mL de álcool anidro (AA) (BRASIL, 2005). Entende-se por coeficiente de congêneres (componentes secundários ou componentes voláteis “não álcool”, ou substâncias voláteis “não-álcool”, ou impurezas voláteis “não-álcool”) a somatória de: acidez volátil (expressa em ácido acético), aldeídos (expressos em acetaldeído), ésteres totais (expressos em acetato de etila), álcoois superiores (expressos pela soma do álcoois n-propílico, isobutílico e isoamílicos), furfural, mais hidroximetilfurfural.

Os componentes voláteis não alcoólicos da aguardente de cana deverão obedecer aos limites expressos na tabela 1. O teor máximo de metanol permitido em cachaça é de 200mg/100mL, a 100% de álcool anidro, e o conteúdo de cobre na bebida final não deve ultrapassar 5mg/L de produto (Cardoso, 2003).

Tabela 1 - Teores máximos permitidos pela legislação brasileira de cada componente volátil na aguardente (Cardoso, 2003)

Parâmetros	Teor máximo
	(mg/100 mL de álcool anidro)
Acidez volátil em ácido acético	150
Ésteres, em acetato de etila	200
Aldeídos, em aldeído acético	30
Furfural	5
Álcoois superiores	360

Sem dúvida alguma, a aguardente é muito apreciada, por possuir aroma e sabor característicos, e não há exagero em afirmar que não é possível o conhecimento da cultura do povo brasileiro sem a inclusão da “branquinha”, tão significativa é a sua presença no dia-a-dia desta população, independentemente de classe social.

Modelos animais como método de investigação dos efeitos tóxicos do álcool

O alcoolismo, em seres humanos, interage com vários fatores, dentre eles o nutricional, o social e o genético, ao contrário do que ocorre em animais, em que muitas dessas questões podem ser simplificadas quando os experimentos são conduzidos sob circunstâncias controladas. Infelizmente, essas vantagens de simplificação e controle experimental são contrabalançadas por outras dificuldades e limitações inerentes aos modelos animais. Criando, assim, a necessidade de adoção de novos modelos que se assemelhem ao máximo à condição humana (HANNIGAN, 1996; SIEGMUND et al. 2003).

Em 1940, foi demonstrado que roedores consumiam álcool voluntariamente, em laboratório. Sabe-se que este comportamento em relação a determinados alimentos é comum nestes animais e em outros mamíferos silvestres, devido ao odor e sabor, o que torna os ratos e camundongos animais propícios para o estudo de vários aspectos do alcoolismo humano (SPANAGEL, 2000).

Modelos animais têm sido utilizados para estudar os vários aspectos do alcoolismo. Estes desenhos experimentais são traçados com vista a 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”) (KARTNER; MAGALONG; WEISS, 1999), efeito-álcool-deprivação-ADE e o “The Point-of-no-return model” (WOFFGRAMM; HEYNE, 1995) investigando, em roedores, os 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 (ROOD et al., 2004).

Muitos modelos experimentais têm sido validados em estudos farmacológicos, demonstrando como se processam as mudanças neuroquímicas e celulares, face ao alcoolismo. Esses desenhos experimentais têm estudado a preferência pelo etanol no regime voluntário (livre acesso), possibilitando aos roedores a livre escolha entre água e/ou álcool, apurando-se as quantidades consumidas de cada fluído, sendo 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 (CRABBE; WAHLSTEN; DUDEK, 1999; SPANAGEL, 2000).

Os modelos experimentais são os mais diversos: em alguns, os animais são expostos ao álcool por inalação (SLAWECKY et al., 2005), em outros, por gavagem (VELVIZHI et al., 2002), por via intraperitoneal (MARKWIESE et al., 1998), ou ainda por sistema de livre acesso a esta droga, como descrito anteriormente (BELL et al., 2003; PEPINO et al., 2004;

PIANO et al., 2001). Dessa forma, ao pesquisar os efeitos do álcool sob diferentes aspectos e metodologias, os autores chegam a resultados bastante variados (BELL et al., 2003; MARKWIESE et al., 1998; PEPINO et al., 2004; PIANO et al., 2001; SLAWECKY et al., 2005; VELVIZHI et al., 2002). Neste trabalho, foi adotado como modelo experimental de exposição ao álcool o livre acesso, conhecido como “ad libitum”. Esta escolha se justifica pelo fato deste esquema experimental ser mais representativo do comportamento humano frente ao álcool.

Os experimentos com animais constituem, portanto, uma ferramenta essencial na investigação das alterações orgânicas relacionadas ao álcool, pois permitem acompanhar variáveis de difícil controle nos estudos com indivíduos, bem como possibilitam utilizar alguns procedimentos que não seriam éticos se aplicados em humanos.

Hepatotoxicidade do álcool com o avanço da idade

O etanol é uma droga de estrutura química simples e de ação farmacológica fraca, em comparação com outras drogas, porém produz, sem dúvida, efeitos nocivos sobre órgãos e sistemas (FADA; ROSETTI, 1998).

Entre os vários órgãos e sistemas cuja saúde e funcionamento podem ser prejudicados pelo uso do álcool destaca-se o trato gastrointestinal, em particular o fígado, o órgão que é atingido em maior concentração pelo álcool, por ser responsável pela desintoxicação desta droga no organismo (SEIZE, 1996).

O fígado é um órgão versátil, desempenha funções fundamentais na manutenção da homeostase metabólica, tais como: metabolismo de aminoácidos, carboidratos, lipídeos e vitaminas, a fagocitose de material insolúvel proveniente da circulação esplênica, síntese de proteínas séricas, dentre outras (ROBBINS; COTRAN; KUMAR, 1994). Na digestão e absorção de alimentos e nutrientes, compete a este órgão a produção da bile, num volume de 500 a 1000ml por dia, armazenado pela vesícula biliar (STRANGE, 1984). Os constituintes da bile incluem os fosfolipídios, o colesterol, os sais inorgânicos e o seu pigmento principal da bile, a bilirrubina (produto residual da destruição dos eritrócitos), a qual possui importante papel na determinação da função hepática (TAVOLINI, BERK, 1993).

O fígado desempenha ainda outras funções não relacionadas com a digestão, como a hematopoiese, a coagulação sanguínea, a fagocitose e a desintoxicação. Os sistemas enzimáticos do fígado também desativam drogas e desintoxicam várias substâncias químicas provenientes do meio ambiente, tais como corantes, ingredientes alimentares, medicamentos e diversos tipos de drogas, entre estas o álcool (GUYTON, HALL, 2002)

Diversas drogas, incluindo o álcool, produzem alterações metabólicas e podem causar prejuízo hepatocelular pela interação de complexos mecanismos. Os hepatócitos submetidos aos estímulos nocivos do etanol podem ser danificados, estrutural ou funcionalmente, de forma transitória ou permanente, dependendo da intensidade e duração do estímulo (BORINI et al., 2003). Assim, o risco de desenvolver doença hepática é diretamente proporcional ao tempo total de duração do consumo do álcool, sendo fator agravante a ingestão regular e diária (MAHER, 1997).

Os trabalhos realizados a partir de 1960 possibilitaram demonstrar a hepatotoxicidade do etanol (MINCIS, 2002; MINCIS et al., 1995). Alguns autores verificaram que o etanol produziu esteatose, com evidentes alterações ultraestruturais em ratos e no homem, assim

como fibrose e cirrose em macacos. Dados epidemiológicos também reforçam os argumentos a favor da existência de efeito hepatotóxico do álcool (MANN et al., 1991; SMART, MANN, 1993).

O efeito da idade e do consumo crônico do etanol (short-term) na deposição de gordura do fígado foi estudado experimentalmente em ratos machos Fisher 344 x Brown Norway (F344BN), com idades 2 e 24 meses (jovem e idoso, respectivamente), consumindo dieta líquida com o etanol constituindo 36% das calorias, por 21 dias. À análise histológica os fígados dos animais idosos tratados com etanol apresentavam significativa deposição de gordura nos tecidos, o que não ocorreu após o mesmo procedimento, nos ratos jovens e nos animais-controle, que apresentaram uma arquitetura normal do tecido. O fato de os animais idosos-controle não terem desenvolvido gordura no fígado sugere que a idade predispõe este órgão à deposição de gordura induzida pelo etanol (CAHILL et al., 2005). São vários os fatores envolvidos na gênese da esteatose alcoólica: acentuada síntese de ácidos graxos livres (AGL) (lipogênese hepática), devido ao metabolismo do etanol resultar na produção de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e em mudança no estado redox do fígado, favorecendo assim a síntese de triglicerídeos e de AGL; diminuição da funcionalidade mitocondrial atribuída à injúria provocada pelo etanol, resultando em decréscimo na β oxidação e na eliminação de gordura (SEITZ; STICKEL, 2007); diminuição da síntese e liberação hepática de lipoproteínas; aumento da mobilização de tecido adiposo periférico e da entrada hepática dos lipídios circulantes e produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), com consecutiva peroxidação lipídica e lesão celular (GIAVAROTTI et al., 2002). Outro fator importante na patogenia da esteatose alcoólica é a secreção de citocinas a partir de células de Kupffer hepáticas, induzida pelo influxo de endotoxinas do intestino para o fígado (SEITZ et al., 2006; THURMAN, 1998). Com a lesão da barreira da mucosa intestinal, associada ao etanol, bactérias e metabólitos bacterianos podem migrar para a circulação portal e alcançar o fígado. Diversas citocinas, incluindo interleucinas 1 e 6 (IL1, IL6), fator de crescimento β 1 (TGF β 1), e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) são liberados (MCCLAIN, C. et al., 2005; URBASCHEK et al., 2001), tendo o TNF- α e IL1 efeitos citotóxicos contra hepatócitos, levando à necrose, enquanto o TGF β 1 ativa a fibrogênese hepática.

Em seu metabolismo o álcool forma moléculas que causam dano ao fígado, como o acetaldeído e os radicais livres. O acetaldeído tem a capacidade de se ligar a enzimas, proteínas microssomais e microtúbulos, prejudicando a secreção de proteínas pelos hepatócitos, levando a hepatomegalia (ZAKARI, 2006). Além do prejuízo na síntese proteica

do fígado, o álcool favorece o acúmulo de proteínas de exportação. Estas proteínas, sintetizadas normalmente no fígado (albumina, transferrina), não seriam exportadas adequadamente para a circulação pelo processo de desestruturação dos sistemas de canais em hepatócitos aumentados de tamanho (BARAONA et al., 1975; LARKIN; OSWALD; McNIVEN, 1996). A ligação do acetaldeído com as proteínas forma compostos antigênicos que estimulam a resposta imune celular e humoral, favorecendo a lesão tecidual hepática. Estudos em animais mostraram que o consumo crônico do álcool aumenta o estresse oxidativo celular, associado com a geração de radicais livres (superóxido O_2 , peróxido de hidrogênio H_2O_2 e radical hidroxila OH), como descrito anteriormente no texto (PONNAPA; RUBIN, 2000).

Embora a esteatose hepática constitua geralmente o dano inicial, chegando a ser a mais comum das manifestações das doenças alcoólicas, a mesma pode vir a desenvolver esteatohepatite, acompanhada por um severo dano hepatocelular e cirrose (CAHILL et al., 2005). Estas condições podem existir independentemente e não necessariamente representam uma mudança contínua (ROBBINS; COTRAN; KUMAR, 1994). Aproximadamente 55% dos alcoolistas apresentam evidência de esteatose hepática, sendo que cerca de 10 a 35% desenvolvem hepatite alcoólica e 10 a 20% cirrose (REIS; COPLE, 2003).

A esteatose hepática é reversível com a abstinência e a hepatite alcoólica tanto pode ser fatal como reversível com a abstinência (BARROS; GALPERIM; GRÜBER, 1997). Já a cirrose é progressiva e fatal, podendo estabilizar com a abastinência (GORDIS, 1993).

O efeito tóxico do álcool sobre o tecido hepático foi observado por Keegan; Martini; Batey (1995), que ofereceram a ratos etanol na água de beber, em uma concentração de 40% , por um período 13 semanas, constatado alterações histológicas de esteatose, inflamação, necrose dos hepatócitos e esclerose pericentral no fígado dos ratos. Porém, alterações mitocondriais, relacionadas a um leve aumento na peroxidação lipídica, podem ser observadas em ratos recebendo, por 8 semanas, baixas concentrações de etanol (3% - consumindo 4g/kg de etanol por dia) (PUZZIFERRI et al., 2000), sugerindo um possível início de um dano maior observado em animais expostos a altas doses desta substância.

A maioria das lesões hepáticas induzidas por drogas como o álcool são cálcio dependentes e envolvem interação com o citocromo P-450, promovendo formação de metabólitos e radicais livres que podem ser altamente reativos e tóxicos para as células (BELOMO et al., 1991; KRAUSFRIEDMANN, 1990; NISHIKAWA et al., 1994; TOMAS, REED, 1989). Esses radicais livres se ligam covalentemente em pontos críticos da membrana celular dos hepatócitos, promovendo peroxidação lipídica, desintegrando o citoesqueleto,

alterando a morfofuncionalidade mitocondrial, modificando o cálcio intracelular com ativação de enzimas catabólicas, com efeitos celulares potencialmente deletérios (GINCEL; ZAID; SHOSHAN, 2001; NICOTERA; BELOMO; ORRENIUS, 1990). Dentre as enzimas ativadas pelo cálcio incluem-se as fosfolipases, proteases e as ATPases envolvidas no transporte transmembrana, síntese de proteínas, lipogênese e reações de desacilação/reacilação necessários à renovação de fosfolipídios, e as endonucleases, que associadas à fragmentação de cromatina (GINCEL; ZAID; SHOSHAN, 2001; NICOTERA; BELOMO; ORRENIUS, 1990;). Como consequência desse processo, ocorrem alterações nas concentrações de diversas enzimas, proteínas, lipídios e fosfolipídios plasmáticos, como, por exemplo, Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Gama-Glutamiltransferase (GGT), Fosfatase Alcalina (ALP), Proteínas totais (PT), Albumina (ALB), entre outros. Dessa forma, as determinações bioquímicas dos níveis destas enzimas e proteínas, inter-relacionadas, constituem importantes marcadores da agressão hepática.

Nanji et al. (2002) registraram maiores valores séricos de ALT para ratos de ambos os gêneros que receberam, durante 4 semanas, infusão intragástrica de etanol (10 – 16g/kg/dia) em relação aos animais do grupo controle; tendo ainda sido observado, através de análise histológica, comprometimento hepático, caracterizado por: esteatose hepática, necrose, inflamação e fibrose. É importante destacar que esses efeitos hepatotóxicos do etanol foram mais proeminentes nas fêmeas.

Ratificando estes resultados, Imuro et al. (1997) constataram níveis séricos elevados de AST em ratos machos e fêmeas tratados por 4 semanas com dieta líquida, na qual 28-35% das calorias eram provenientes do etanol (11 – 13g/kg/dia). Entretanto, embora tenha sido observada diferença significativa entre os ratos do grupo etanol e seus respectivos controles, em ambos os gêneros, ao final do período os níveis enzimáticos nas ratas do grupo etanol foram significativamente maiores que nos machos do mesmo grupo.

O que as pesquisas parecem demonstrar é que ratos fêmeas apresentam maior susceptibilidade à injúria hepática induzida pelo etanol (IMURO et al., 1997; NANJI et al., 2002).

Tem sido ainda relatado na literatura que, após a ingestão crônica de etanol, a atividade plasmática de outra enzima, a GGT, se eleva, e que seus níveis estão relacionados com o grau do dano hepático, o que torna útil a sua determinação como indicador do consumo excessivo e dos efeitos do etanol (MARTIN et al., 1988).

Outra enzima importante na avaliação da agressão hepática é a fosfatase alcalina (FA). O aumento sérico de seus níveis se relaciona predominantemente com distúrbios do fígado e

ósseos. Para se diferenciar a elevação sérica de origem hepática da de origem óssea, recomenda-se determinar também os níveis da gama glutamil transferase (GGT), cuja elevação é concomitante à da FA nas doenças hepáticas (e não nas de origem óssea) (MINCIS; MINCIS, 2007).

Martin et al. (1988), investigando os efeitos da ingestão crônica (9 semanas) de etanol na atividade sérica da GGT em ratos machos, constataram um significativo e progressivo aumento, a partir da terceira semana de experimento.

A GGT foi também utilizada como marcador de abuso alcoólico, em trabalho realizado com ratos machos Sprague-Dawley recebendo, por 16 semanas, dieta líquida com o etanol constituindo 36% das calorias. Os níveis de GGT se elevaram significativamente, já a partir da quarta semana, sendo este aumento constante até o final do experimento. Neste mesmo trabalho, foram dosados os níveis séricos de FA que, embora tenham diminuído no grupo de animais que receberam álcool ao longo das semanas, foram significativamente maiores que os dos animais do grupo controle. Desta forma, a associação dessas alterações enzimáticas no grupo etanol é indicativa de dano hepático, que posteriormente é fortalecido por análise histológica de secções do fígado que demonstraram depósito de gordura (MINCIS; MINCIS, 2007)

Embora seja bem aceito que os efeitos deletérios fisiopatológicos do uso abusivo do álcool sejam também decorrentes do aumento na produção de radicais livres, pouca atenção tem sido direcionada para o estudo das repercussões do consumo desta droga no organismo idoso (GIAVAROTTI et al., 2002).

Giavarotti et al. (2002), com o intuito de investigar o estresse hepático oxidativo como produto da ingestão alcoólica, estudaram, em ratos *Wistar* machos com 3, 6, 12, 18 e 24 meses de idade, os níveis plasmáticos das transaminases e alguns outros parâmetros: glutathione reduzida (GSH) e Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), estes últimos através da análise histológica do tecido hepático. A GSH é um marcador da saúde celular e sua queda é indicativa de lesão oxidante. Seu déficit acarreta diminuição da resistência às drogas, entre estas se destaca o etanol; enquanto que o TBARS é um indicador da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo (HALLIWEL; GUTTRIDGE, 1989). Os ratos jovens (3 meses de idade) não foram afetados pelo tratamento alcoólico com relação às transaminases, entretanto, apresentaram uma diminuição do total do GSH e um aumento na formação do TBARS hepático. Já os ratos com mais de 3 meses de idade foram intensamente afetados pelo tratamento; respostas similares às desses animais foram detectadas com o avanço da idade, acrescidas de alguns agravantes,

como: diminuição nos níveis plasmáticos e hepáticos de beta-caroteno e plasmático de alfa-tocoferol (importantes antioxidantes não enzimáticos), elevação da atividade das transaminases, o que desperta para um possível dano hepático nestes grupos de animais, posteriormente confirmado no estudo histológico, tendo os animais com 12, 18 e 24 meses de idade apresentado maior área de necrose tecidual (GIAVAROTTI et al., 2002).

Em estudo realizado com ratos fêmeas F344, com 4, 14 e 25 meses de idade (adulto-jovem, meia-idade e idoso, respectivamente), no qual foi administrado 4.0g/Kg de etanol por via intraperitoneal, os níveis de GSH diminuíram 6 horas após a administração do etanol, embora não tenha sido observada diferença idade-dependente. Entretanto, o conteúdo de GSH no fígado dos animais adultos-jovens se aproximou dos níveis detectados no grupo controle após 16 horas do tratamento, enquanto nos ratos idosos os valores continuaram deprimidos. Foi ainda verificado um aumento significativo nos níveis séricos das enzimas hepáticas 6h após a administração da droga, observando-se maiores níveis nos ratos de meia-idade e nos idosos (RIKANS; SNOWDEN, 1989). Esses resultados sugerem que os animais de meia-idade e idosos são mais susceptíveis do que os adultos-jovens à toxicidade do etanol.

O que a literatura parece demonstrar é que, independente do gênero, o etanol e a idade, combinados, podem causar deterioração na integridade estrutural e funcional do fígado (Figura 3).

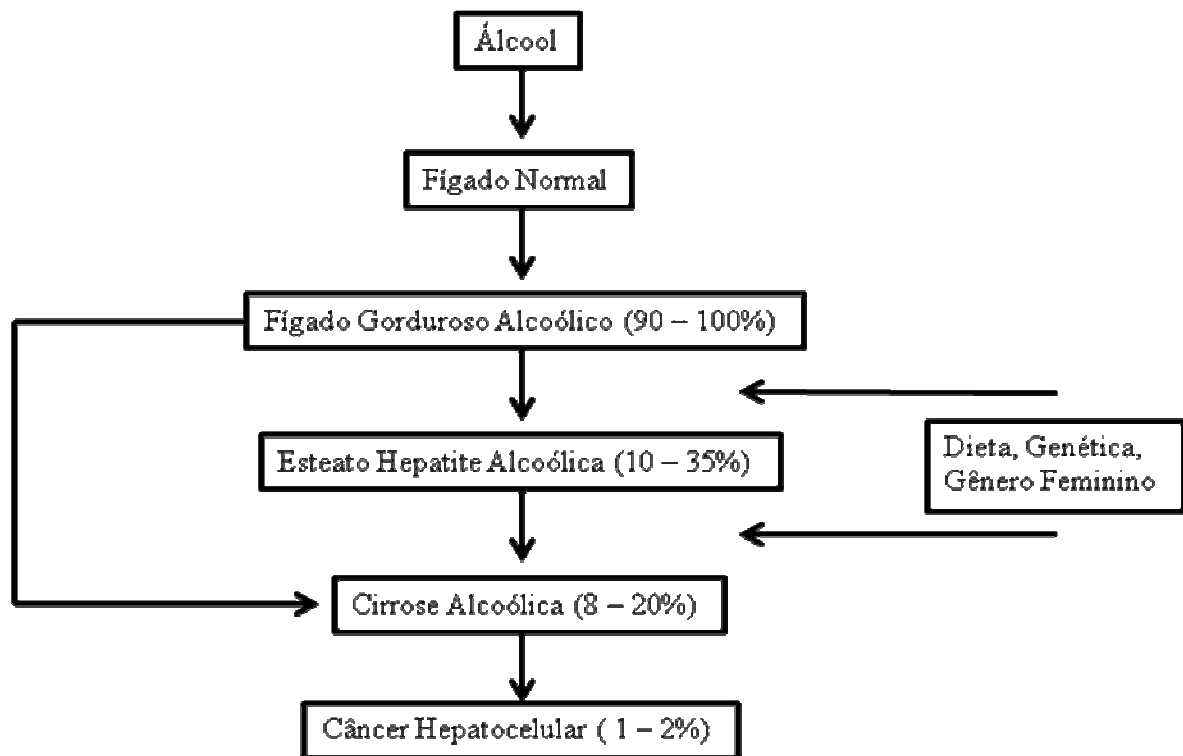


Figura 3. Curso natural da doença hepática alcoólica. Dieta, genética e gênero possivelmente modificam o curso da doença. Fonte: Seitz e Stickel. (2007)

Alcoolismo: efeitos nutricionais no envelhecimento

Muito embora problemas físicos e os relacionados ao uso do álcool possam estar associados tanto ao envelhecimento quanto ao uso excessivo desta substância, o impacto da interação destes fatores ainda é pouco estudado, em especial os efeitos nutricionais e bioquímicos decorrentes deste consumo.

A manutenção de um estado nutricional adequado e uma alimentação equilibrada estão associadas a um processo de envelhecimento saudável. O envelhecimento pode vir acompanhado de mudanças que podem alterar a ingestão de alimentos e, conseqüentemente, levar à deficiência de nutrientes e a prejuízos nutricionais. Somado a essas mudanças (fisiológicas, enfermidades, situação econômica e familiar), o consumo de álcool em grandes quantidades e cronicamente afeta o estado nutricional como um todo, incluindo redução do apetite e da absorção, metabolismo e excreção de nutrientes (LIEBER, 1988).

Além da falta de apetite, podem contribuir para as deficiências nutricionais as complicações clínicas do alcoolismo no aparelho digestivo: esofagite de refluxo, lesões hemorrágicas na mucosa gástrica, gastrite, esteatose hepática, hepatite e pancreatites (BODE; BODE, 1997). Assim, a ingestão crônica de bebidas alcoólicas está relacionada a profundos efeitos no estado nutricional, podendo levar à desnutrição, uma variável intimamente associada ao alcoolismo (LIEBER, 1976). Esta relação alcoolismo-desnutrição constitui um ciclo vicioso, com a desnutrição, inicialmente provocada pelo álcool, potencializando os efeitos hepatotóxicos do álcool (Figura 4).

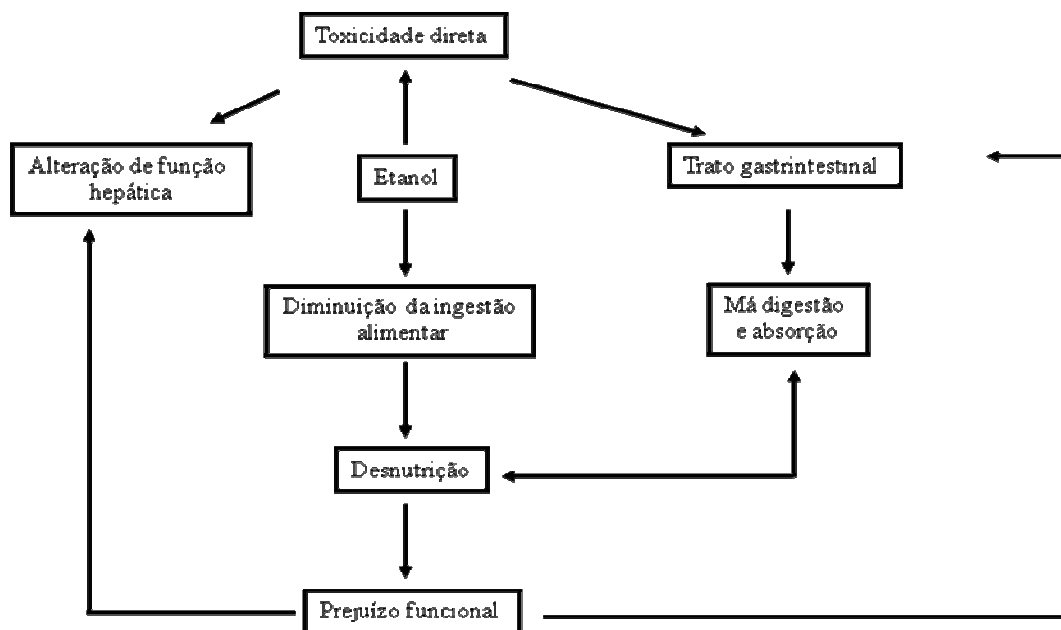


Figura 4. Aspectos relacionados ao álcool e à desnutrição.
Fonte: Reis (1993)

O consumo de álcool, em si, pode levar ao desenvolvimento de duas formas de desnutrição, a primária e a secundária, já bem fundamentadas na literatura. A desnutrição primária pode ser causada por vários mecanismos: 1) pela alta densidade calórica (7,1 kcal/g), o etanol pode substituir as calorias da dieta em até 80%, em alcoolistas (ADDOLORATO et al., 1997). Suas calorias vazias parecem não ser aproveitadas para o crescimento corporal, uma afirmação ainda em discussão (ADDOLORATO et al., 1997, AGUIAR; DA-SILVA; BOAVENTURA, 2004), mas certamente não são acompanhadas de vitaminas e sais minerais (LIEBER, 1991); 2) por aumentar a liberação do hormônio colecistoquinina (CCK), que provoca saciedade (SEELEY; SHARON; WOODS, 1997) pela alteração no trânsito intestinal, em consequência da influência do etanol no aumento da secreção de ácido clorídrico no estômago (LUZ et al., 1996). Já a desnutrição secundária ocorre pela má-digestão e má-absorção dos nutrientes, causadas por complicações pancreáticas, hepáticas e deficiência enzimática intestinal consequentes do consumo de etanol (ADDOLORATO et al., 1997). Deficiências específicas podem ser geradas por indução de enzimas microssomais como, por

exemplo, a enzima que degrada a vitamina A, contribuindo para a depleção desta vitamina no organismo (LEO; LIEBER, 1999; LIEBER, 1991).

Acrescente-se a esses efeitos o fato de que boa parte da população de baixa renda, usualmente desnutrida, por todos os condicionantes da pobreza, consome elevados níveis de bebidas alcoólicas (SILVA, 2000). Segundo Brody (1998), esses indivíduos desenvolvem severas deficiências nutricionais, com maior susceptibilidade para as folatos, tiamina, riboflavina, piridoxina e magnésio, principalmente quando a ingestão dessas substâncias é baixa. Nesses casos, constituem fatores determinantes da maior importância a anorexia, induzida pelo etanol, e o desvio de recursos financeiros para a compra da bebida alcoólica, em detrimento da aquisição de alimentos (PALENCIA et al., 1994).

Poucos são os estudos empenhados em investigar a relação etanol e idade e o impacto desta interação no estado nutricional; e seus resultados são bastante controversos.

O efeito adverso do álcool no consumo alimentar foi observado por Aguiar; Da-Silva; Boaventura (2004), ao ofertarem, como única fonte de líquido, soluções crescentes de etanol (0, 5, 10, 20 e 40%, v/v) a ratos *Wistar* fêmeas, por um período de 5 semanas. Os resultados demonstram que a ingestão de etanol reduziu o consumo alimentar *ad libitum* de maneira dose-dependente. Os animais que receberam a maior dose de etanol (40%, v/v) consumiram apenas 32% em relação aos que beberam água (ratos controle: $17,4 \pm 4$ vs ratos etanol: $5,6 \pm 1,8$ g, $p = 0,000$). Woods et al. (1996), também relataram um consumo de dieta significativamente menor ($\approx 50\%$) em ratos machos Fischer com 14 meses de idade, que ingeriram, em média, 13 a 16g de etanol/kg/dia, durante 6 semanas, quando comparados ao grupo controle.

O consumo do álcool repercute ainda negativamente no peso corporal, como foi constatado por Mobarhan et al. (1991), que pesquisaram, em ratos machos Fisher 344, jovens e idosos, de 2 e 19 meses de idade, respectivamente, a interação da idade e etanol no status nutricional. Os animais receberam, por um período de 3 semanas, dieta de Lieber-De-Carli contendo 36% de energia proveniente do etanol, 11% de carboidrato, 18% de proteína e 35% de lipídio. Ao final do período experimental, todos os animais jovens ganharam peso; entretanto, o aumento de peso foi maior nos controles, comparados aos ratos que consumiram etanol ($p < 0,001$). Entre os animais idosos, a média de peso do grupo controle permaneceu estável, enquanto no grupo etanol houve uma leve, mas significativa perda de peso ($p < 0,01$). Este estudo reforça o achado de que há maior sensibilidade do organismo idoso à injúria alcoólica, em especial no que se refere ao status nutricional.

Entretanto, Cahill et al. (2005) não constataram alteração ponderal em ratos de mesma linhagem (F344) e gênero, com idades de 2, 12 e 24 meses, tratados por igual período de tempo (3 semanas) em semelhante regime alcoólico (dieta Lieber-De-Carli). Um paradoxo cuja explicação seriam necessárias maiores investigações.

Além dos aspectos controvertidos ainda existentes, persistem algumas lacunas, uma delas referente à alteração ponderal às vezes percebida: é produto de um déficit alimentar induzido pelo álcool ou do prejuízo no aproveitamento dos alimentos e nutrientes ingeridos, ou da soma desses dois fatores? Assim, cabe à comunidade científica pesquisar os efeitos do uso do álcool na ingestão alimentar, bem como o aproveitamento da dieta e a repercussão ponderal e bioquímica do consumo desta substância.

MÉTODOS

3. Métodos

Estrutura geral

Nenhuma outra substância é objeto tão frequente de investigação científica como o etanol, seja para o estudo do seu efeito sobre o organismo ou dos distúrbios funcionais a ele associados. Justifica-se o interesse, de um lado, pela multiplicidade de ações tóxicas sobre órgãos e tecidos, desencadeando mecanismos lesionais associados a diferentes patologias que afetam a saúde e, de outro, pela repercussão social e econômica que o seu uso abusivo acarreta (ABEL & SOKOL, 1991; KOREN & NULMAN, 1994). E, ainda, por ser a problemática do alcoolismo uma realidade atual nos diferentes segmentos populacionais, em destaque para os idosos.

Todos os procedimentos experimentais posteriormente descritos foram realizados no Laboratório de Nutrição Experimental (LNE) do Departamento de Nutrição (DN) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), exceto o estudo histológico do fígado dos animais, realizado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Lika) da UFPE e a análise bioquímica do sangue, realizada no Laboratório da Unidade de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE.

Desde 1999, o LNE vem se empenhando em estudar as repercussões nutricionais e bioquímicas decorrentes do uso do álcool em diferentes ciclos de vida de ratos, sendo este o objetivo dos estudos do grupo engajado na linha de pesquisa intitulada: “*Nutrição e Álcool*”. As pesquisas desenvolvidas nesta linha abrangem os temas: bebidas alcoólicas durante a lactação e seus efeitos na nutrição e metabolismo: estudo em ratos; ingestão alcoólica com múltiplas concentrações em ratos periadolescentes de diferentes gêneros; álcool: efeitos nutricionais e metabólicos em ratos adolescentes; ingestão de bebida alcoólica e mistura alimentar do Nordeste brasileiro – efeitos em ratos de meia-idade, trabalhos estes de doutorado, mestrado e conclusão de curso, respectivamente.

O grupo de pesquisa reúne professores, nutricionistas e outros profissionais, além de alunos de doutorado e mestrado, acadêmicos de graduação (estagiários), bem como técnicos de laboratório interessados na área. Sob a liderança da professora Dr^a Francisca Martins Bion, o grupo visa estimular a pesquisa e o estudo do álcool, desenvolvendo projetos de pesquisas para disseminar evidências sólidas sobre os efeitos nutricionais e bioquímicos do abuso dessa substância. Os resultados dos projetos de pesquisa desenvolvidos pelo referido grupo no LNE

têm sido publicados como pôsteres científicos em congressos e reuniões científicas afins, e na forma de artigos em periódicos nacionais e internacionais.

A seguir, serão apresentados os materiais utilizados na presente tese com algumas de suas características e propriedades físicas e a metodologia empregada, bem como as técnicas utilizadas durante a fase experimental, indicando os parâmetros considerados e os objetivos de cada uma delas.

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 80 ratos de ambos os gêneros, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade *Albinus*), recém – desmamados aos 21 dias de idade. Após o desmame até o 12º/18º mês de vida, os ratos foram alimentados com dieta comercial para roedores (Labina – Purina do Brasil S/A) e água. Os animais foram provenientes do Biotério de Criação do DN da UFPE. O protocolo experimental foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (Ceea) do Centro de Ciências Biológicas, UFPE – processo nº 23076.002080/2008-15(ANEXO A).

Após o desmame, durante todo o período experimental os ratos permaneceram em gaiolas individuais, em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura controlada ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dotado de sistema de exaustão.

Os ratos de 12 e 18 meses de idade, de ambos os gêneros (N=40) foram randomizados, em quatro grupos de 10, de acordo com o desenho experimental abaixo (Figura – 5).

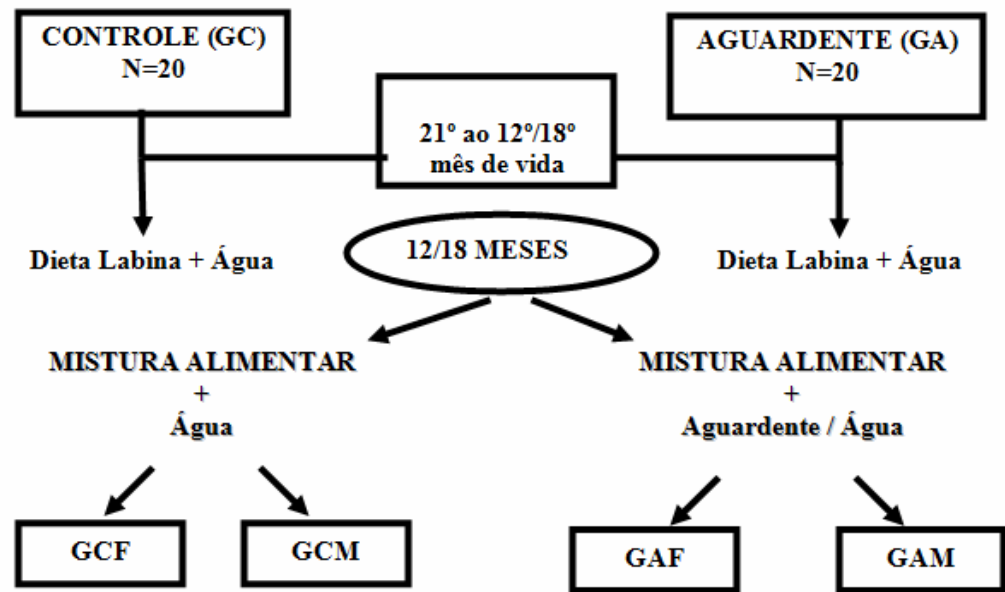


Figura 5 – Animais e grupos experimentais. GCF: grupo controle de fêmeas, GCM: grupo controle de machos, GAF: grupo aguardente de fêmeas, GAM: grupo aguardente de machos. N: número de animais em cada grupo.

Dieta experimental

Durante todo o período experimental (5 semanas) a partir dos 12/18 meses de idade todos os grupos foram alimentados de forma exclusiva, *ad libitum*, com uma mistura baseada na ingestão alimentar da população do Nordeste brasileiro, composta por: feijão cariquinho (*Phaseolus vulgaris* L.), arroz polido (*Oriza sativa* L.), farinha de mandioca (*Manihot esculenta crantz*), frango de granja (*Gallus galináceo*) e óleo de soja. Esta dieta foi adotada com o objetivo de avaliar as repercussões do uso da aguardente, sobre o organismo de ratos nutridos com os alimentos comumente consumidos pela população nordestina. A composição centesimal dos alimentos foi determinada segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz – IAL (2005) (tabela 1), apresentando a dieta experimental um balanço entre os nutrientes, ou seja, as seguintes características: normocalórica, normoprotéica, normolipídica e normoglicídica para ratos em envelhecimento. O feijão, o arroz e o frango foram cozidos em água, separadamente, durante duas horas, posteriormente dessecados em estufa (60°C), por 12h, e pulverizados em moinho (Floor Grind – Chuo Boeki Kaisha), para obtenção das respectivas farinhas. A dieta foi preparada no LNE do DN/UFPE, e estocada em temperatura

adequada. Esta dieta já foi anteriormente descrita e utilizada em estudos prévios do nosso grupo (Burgos et al., 2005; Orange et al., 2009).

O consumo da dieta foi monitorado semanalmente. Para o cálculo da ingestão alimentar foram utilizados os dados quantitativos relativos a quota oferecida e rejeitada, 7 dias após o oferecimento.

Tabela 2 – Composição da dieta experimental

g/100				
Constituintes	Quantidade	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
Feijão ^a	10,00	2,28 ^c	6,19 ^c	0,14 ^c
Arroz ^a	8,00	0,61 ^c	7,06 ^c	0,01 ^c
Frango ^a	10,00	7,88 ^c	1,25 ^c	0,43 ^c
Óleo de soja ^b	4,00	-	-	4,00
Farinha de mandioca ^b	68,00 ^c	0,95 ^c	56,00 ^c	0,06 ^c
Total	100,00	11,72	71,10	4,58
Kcal/100 g	372,50	46,88	284,40	41,22

^aCozido, desidratado e moído. ^bObtido no comércio local. ^cDeterminações realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (Universidade Federal de Pernambuco), segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005) (2005).

Análise da aguardente de cana-de-açúcar

A aguardente de cana-de-açúcar, caninha ou cachaça, objeto deste estudo, é uma bebida tipicamente brasileira, intensamente apreciada no Nordeste, e vem aos poucos conquistando o paladar internacional de bebidas destiladas, pelo seu sabor especial e exótico. Entretanto, pelo seu alto percentual alcoólico, o consumo excessivo torna-se um fator de risco à saúde, em especial dos indivíduos idosos, pela maior sensibilidade ao álcool. Desta forma, julgou-se oportuna a investigação do impacto da ingestão desta bebida no organismo de ratos em envelhecimento.

Foram analisadas duas amostras de aguardente de cana-de-açúcar adoçada (cachaça), de um mesmo lote, adquiridas no comércio da cidade do Recife – Pernambuco, para verificar a adequação da bebida alcoólica aos parâmetros estabelecidos pela legislação em vigor quanto aos componentes secundários (BRASIL, 2005). As garrafas de aguardente referentes às amostras foram mantidas em suas embalagens originais, à temperatura ambiente, até o momento da análise, realizada através de cromatografia, no Laboratório de Cromatografia Instrumental, do Departamento de Engenharia Química do Centro de Tecnologia e Geociências da UFPE. (Figura 2) (ANEXO B).

Solventes e reagentes

O padrão de acetaldeído utilizado foi da marca Fluka; de n-propanol e isobutanol, Sigma; de 3-pentanol (padrão interno) e acetato de etila, Merck; os padrões de 2-metilbutanol e de 3-metilbutanol foram da marca Aldrich. O solvente empregado foi etanol, grau cromatografia líquida de alta performance (HPLC), Merck.

Soluções-padrão para análise de componentes secundários de cachaça

As soluções-padrão dos componentes secundários (acetaldeído, acetato de etila, n-propanol, isobutanol, 2-metilbutanol e 3-metilbutanol) foram preparadas a partir de diluições de soluções-estoque de padrões e de solução estoque de padrão interno (3-pentanol). A solução-estoque de padrões continha os componentes secundários nas seguintes concentrações, em mg/100ml de solução: acetaldeído: 3080 acetato de etila: 3169, n-propanol: 2481, isobutanol: 2459, 2-metilbutanol: 640 e 3-metilbutanol: 1127. A solução-estoque de padrão interno continha 2661 mg de 3-pentanol/100ml de solução. Foi utilizado etanol grau HPLC como solvente no preparo das soluções. Alíquotas das duas soluções-estoque foram misturadas e diluídas em etanol a 40%, obtendo-se cinco concentrações diferentes; estas

soluções foram utilizadas para construção das curvas de calibração de cada componente secundário.

A solução diluída de padrão interno em etanol a 40% foi preparada a partir da solução-estoque (em álcool absoluto); a concentração de 3-pentanol obtida foi de 240mg/100ml.

Preparo das amostras

As amostras foram pesadas (cerca de 9 mL) e adicionadas de solução diluída de padrão interno (1mL), previamente destiladas em destilador de álcool.

Análise cromatográfica

As soluções de calibração e de amostras foram injetadas em cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama, marca CG (modelo Master), *software* PeakSimple II, com temperatura do forno isotérmica a 50°C . Foi utilizada a coluna *megabore* (30 m × 0,53 mm × 0,5 µm) com polietilenoglicol (Carbowax 20M); volume de injeção: 2 µL; gás de arraste: hidrogênio (5 mL/min). A quantificação foi feita por padronização externa. A partir das curvas de calibração, as concentrações de cada analito foram obtidas em mg/100ml; entretanto, para expressar os resultados conforme exigido pela legislação em vigor, estes valores foram convertidos para mg/100mL de álcool anidro (AA) utilizando-se a densidade absoluta e a graduação alcoólica de cada bebida (BRASIL, 2005).

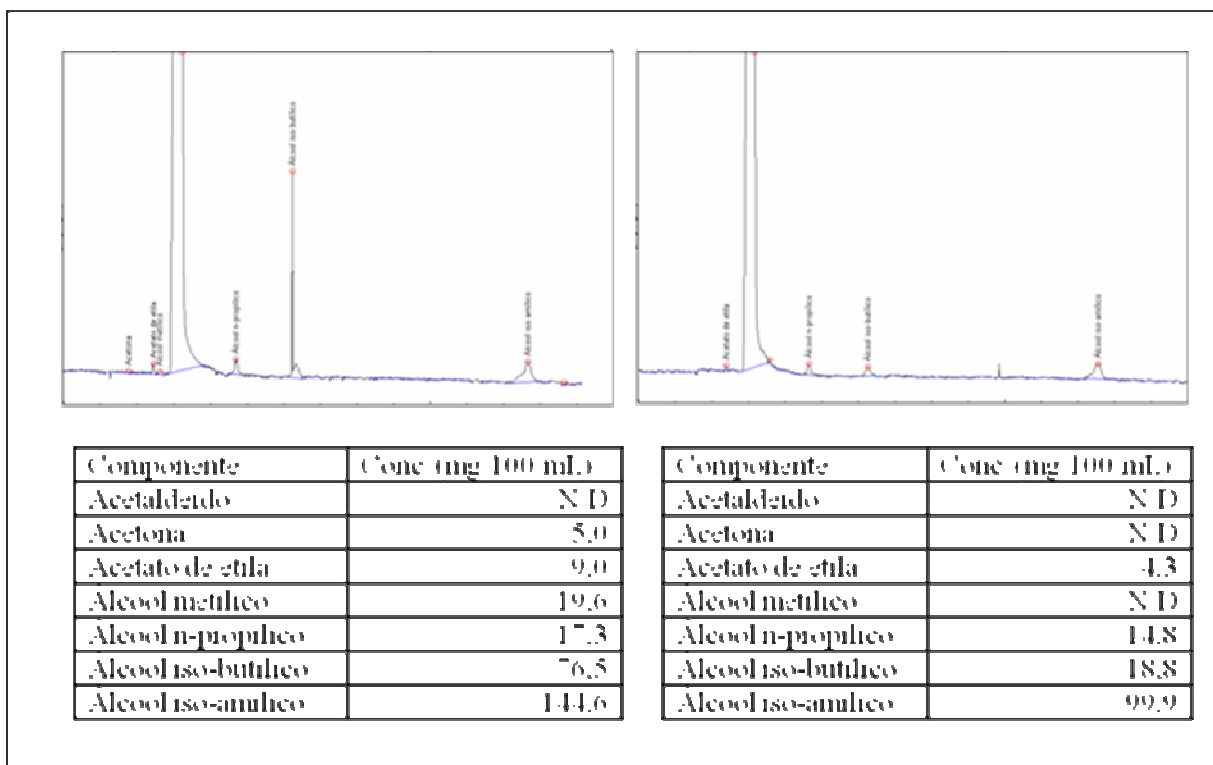


Figura 6. Amostra 1 e 2 - Cromatograma de componentes secundários e metanol em amostra de aguardente de cana-de-açúcar adoçada (cachaça), coluna *megabore* (30 m × 0,53 mm × 0,5 μm) com polietilenoglicol (Carbowax 20M); volume de injeção: 2 μL; gás de arraste: hidrogênio (5 mL/min). N/D = não detectado.

Oferta de líquidos

Os animais do GA receberam os líquidos, água e aguardente de cana-de-açúcar adoçada (cachaça adoçada) em bebedouros distintos; os do GC receberam água, ambos os grupos *ad libitum*, por um período de 5 semanas. A ingestão hídrica e etílica, que correspondeu à quantidade (ml) de água e aguardente ingeridas diariamente, pelo animal, foi calculada por diferença entre o volume de água/bebida alcoólica oferecida e o volume rejeitado, registrados 24 horas após a oferta. O consumo etílico foi obtido pela relação g de etanol/ kg de peso corporal/ dia.

Para o cálculo do conteúdo calórico proveniente do etanol, obteve-se o volume em mililitro de etanol ingerido pelo animal, de acordo com o percentual presente na bebida (40% v/v – aguardente de cana-de-açúcar); posteriormente o valor foi corrigido pela constante de densidade do etanol (0,8), para obtenção da quantidade de etanol em gramas e, por fim, multiplicou-se este valor por 7,1 (kcal/grama de etanol) (AGUIAR; SILVA; BOAVENTURA, 2007).

Os alimentos constituintes da mistura alimentar, assim como a bebida alcoólica, foram adquiridos de uma única vez, no comércio local.

Peso corporal

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, aos 12/18 meses de idade e ao final de cada semana de experimentação, sendo dessa forma, registrado o peso corporal semanalmente. Já o ganho de peso total correspondeu à diferença entre o peso do animal ao final do experimento e o peso no início do tratamento.

Sacrifício dos animais e análises bioquímicas

Ao final do período experimental, os animais, em jejum de 12 horas, foram pesados e posteriormente sacrificados sob anestesia (Cloridrato de Ketamina: 25mg/Kg intra-muscular (IM) e Cloridrato de Xilasina: 1-3 mg/Kg IM). Antes da aplicação dos anestésicos, os ratos permaneceram na sala do sacrifício por, no mínimo, 30 minutos, para ambientação, reduzindo assim o estresse para o animal. Em sequência, foram submetidos à punção cardíaca, para retirada das amostras de sangue destinadas às dosagens bioquímicas realizadas no Laboratório da Unidade de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE, através de kits comerciais, utilizando protocolos padrão de acordo com as instruções dos fabricantes. As dosagens foram realizadas de acordo com os seguintes métodos: glicose (Glicose-oxidase), colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) (Método enzimático), frações lipoproteicas: de alta densidade (HDL-C) (Polietilenoglicol), de muito baixa densidade (VLDL-C) e de baixa densidade (LDL-C) e albumina (ALB) (Verde de bromocresol).

Índice do Peso Relativo do Fígado

Imediatamente após a coleta do sangue foi realizada uma incisão na cavidade abdominal para a retirada do fígado, visando à obtenção do peso relativo, calculado pelo quociente entre o peso do animal e o peso total do órgão. Este artifício foi utilizado com o objetivo de estabelecer se o tratamento com a aguardente provocou aumento ou diminuição da massa hepática. A pesagem foi realizada em balança de precisão elétrica, marca Ohaus, capacidade para 2.6/oz.

Procedimentos para estudo histológico do fígado

Imediatamente após a pesagem do fígado, para controle da efetiva ação da aguardente sobre o tecido hepático foram retirados segmentos transversais de maior diâmetro dos lobos do órgão dos animais dos vários grupos. Para tanto, comparou-se, de forma qualitativa, amostras histológicas de animais, machos e fêmeas, que ingeriram aguardente com amostras dos controles. Em seguida, os cortes foram imersos em formalina, tamponada em PBS a 10%, para fixação. Após 48 horas, o segmento tecidual foi submetido à rotina histológica: desidratação e clarificação gradativa em banhos de álcool, iniciando em 50%, progredindo até o álcool absoluto (100%). Em sequência à série de banhos, os cortes foram tratados com xilol, visando à translucidez do tecido e, finalmente, emblocados em parafina. Através de microtomia obtiveram-se cortes histológicos com 4µm de espessura, que foram corados pela Hematoxilina-Eosina (HE), montados em lâminas albuminizadas e avaliados através de microscopia óptica convencional e fotografadas através de sistema de microfotografia.

Análise estatística

A análise dos dados foi realizada por meio de média e desvio padrão (Técnicas de estatística descritiva) sendo utilizados os testes estatísticos: t-Student, com variâncias iguais e desiguais, ou Mann-Whitney, F (Anova), para medidas repetidas com um fator, e F (Anova), para medidas repetidas num modelo de três fatores (Técnicas de estatística inferencial). O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%. O “software” estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), na versão 13.

RESULTADOS

4 RESULTADOS – ARTIGOS ORIGINAIS

No presente trabalho de tese, foram examinadas as consequências da ingestão da aguardente de cana-de-açúcar sobre o status nutricional e bioquímico de ratos em envelhecimento. Dois artigos científicos originais foram submetidos a revistas internacionais. Doravante, serão apresentados, em ordem cronológica, os artigos em suas versões originais.

Nutritional effects of sugar cane alcohol on ageing rats

O primeiro artigo deste estudo é intitulado: “**NUTRITIONAL EFFECTS OF SUGAR CANE ALCOHOL ON AGEING RATS**”. Foi submetido, como artigo original, à revista: **Biological Research**. Publicada pela Editora Elsevier como revista oficial da Sociedade Chilena de Biología, é classificada como qualis internacional B2, pela Capes (ano de 2010) (ANEXO C).

Em resumo, neste artigo foi avaliada a toxicidade da ingestão crônica de aguardente de cana-de-açúcar sobre o *status* nutricional de ratos em envelhecimento de ambos os gêneros. As ingestões de água e aguardente durante o período de 5 semanas foram significativamente maiores nos machos do que nas fêmeas. Embora a bebida não tenha interferido no consumo alimentar, em ambos os gêneros, exerceu um efeito tóxico sobre o fígado, caracterizado pela presença de esteatose e de áreas de necrose nos ratos de ambos os gêneros, tendo refletido em alterações no perfil bioquímico dos animais como: elevação da glicose sérica, distúrbios no metabolismo lipídico e hipoalbuminemia, o que pode levar ao desencadeamento de diversas patologias. A ingestão crônica de aguardente por ratos em envelhecimento de ambos os gêneros parece interferir na integridade e funcionalidade do tecido hepático, com implicações negativas sobre o metabolismo dos nutrientes.

TITLE PAGE

Title: **Nutritional Effects of Sugar Cane Alcohol on Ageing Rats**

Authors:

*CYBELLE R. LIMA¹

FRANCISCA M. BION²

FABIOLA K. A. X. PONZI²

PEDRITA MIRELLA ALBUQUERQUE QUEIROZ²

NICODEMOS T. P. FILHO³

LUCIANA GONÇALVES DE ORANGE¹

NONETE B. GUERRA⁴

¹ Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória, Núcleo de Nutrição, Recife, Pernambuco – Brazil

² Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição - Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), Recife, Pernambuco – Brazil

³ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Patologia - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Lika), Recife, Pernambuco – Brazil

⁴ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição – Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), Recife, Pernambuco – Brazil

This study was conducted as the Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Brazil

***Author for correspondence:** Departamento de Nutrição, Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), CCS, UFPE, Av. Professor Moraes Rego, s/n, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife/PE, Brazil; Tel.: +55 81 2126 8470; fax: +55 81 2126 8473. E-mail address: cybellerolim@yahoo.com.br (C. Rolim de Lima)

ABSTRACT

The toxicity of the chronic intake of sugar cane alcohol and its effect on nutritional status during ageing was assessed in male and female Wistar rats 12 months of age randomized into four groups of 10 animals: water control group [CG – female control group (FCG) and male control group (MCG)] and alcohol group [AG – female control group (FAG) and male control group (MAG)]. The animals were fed a blend of foods based on the typical diet of northeastern Brazil and had free access to water and/or sugar cane alcohol throughout the study (5 weeks). Food intake, fluid intake and body weight were determined on a weekly basis. Biochemical indices and histology of the liver was determined at the end of the experiment. Regardless of the treatment, males consumed more ration, water and sugar cane alcohol and had a greater body weight than females throughout the study. Both male and female rats in the AG had higher serum glucose and lower levels of triglycerides and very low-density lipoprotein in comparison to CG. Although sugar cane alcohol did not affect food intake, it significantly affected body weight and had a toxic effect on the liver, with negative implications regarding the metabolism of nutrients.

Keywords: alcoholism, sugar cane alcohol, ageing rats, nutritional status, biochemical profile, liver

INTRODUCTION

Alcoholism is a chronic disease with a multifactor etiology combining genetic, biological, psychological and environmental components (Addolorato et al., 2005). In Brazil, nearly 11% of the population has an alcohol dependency (17.1% of the male population and 5.7% of the female population (Carlini et al., 2002). A survey on the types of alcoholic beverages most consumed in the country reports beer occupying first place, with a yearly *per capita* intake of 54 liters, followed by sugar cane alcohol (12 liters) and wine (1.8 liters) (Galduróz and Caetano, 2004).

The alcohol content in sugar cane alcohol (known locally as *cachaça*) is between 38% and 48%. *Cachaça* is obtained through the distillation of fermented sugarcane juice and has peculiar sensory characteristics. Sugars may be added. When this addition of sucrose is greater than 6g/L⁻¹ and less than 30g/L⁻¹, the drink is denominated sweetened *cachaça* (López, 2004). According to López (2004), the estimated production of sugar cane alcohol in Brazil is 1.3 billion liters per year, with more than five thousand registered brand names and approximately 30 thousand producers throughout the country. In 2003, 5.2 million liters of sugar cane alcohol were exported; this figure rose to 10.2 million in 2004 (López, 2004). According to Moraes (2001), in countries such as Germany, Italy, France, the United States and Japan, sugar cane alcohol is mainly consumed in the form of a cocktail, especially *caipirinha*, whereas nearly 70% of sugar cane alcohol is consumed in its pure form in Brazil.

Alcoholism is not limited by social class, gender, age or ethnic background. There is a greater prevalence of alcoholism in the adult and elderly population (Soldara et al., 2004). According to the literature, the elderly population is more vulnerable alcohol dependency than young people (Castillo et al., 2008). Upon ageing, an individual becomes more sensitive to alcohol intoxication with the same doses that were well tolerated in the past (Hulse, 2002). This makes alcohol intake a risk factor for poor health and a lower quality of life among elderly individuals.

In vivo studies have assessed the effects of alcohol intake on nutrition. Mobarhan et al. (1991) studied the nutritional impact of alcohol intake in elderly male Fischer 344 (F344) rats (19 months of age) for a period of three weeks and found a reduction in body weight. However, Cahill et al. (2005) studied the same lineage (F344) and gender of rats aged 12 and 24 months treated with alcohol for the same amount of time and did not find a reduction in body weight. These discrepancies regarding the impact of alcohol intake on the nutritional

status of ageing rats has piqued a growing interest in the topic, given the numerous implications.

Concerning alcohol toxicity, most studies indicate that intake can induce morphological and functional alterations in liver cells, even with the use of small doses of the drug (Brzóśka et al., 2003; Ito et al., 2007). Puzziferri et al. (2000) found that chronic exposure to 3% alcohol (v/v) in Wistar rats resulted in a slight, but significant increase in mitochondrial lipid peroxidation. This indicates that more extensive damage may be caused when higher doses of this drug are offered.

The scarcity of investigations on the effects of the chronic intake of alcoholic beverages with high concentrations of ethanol and its toxicity to target organs such as the liver demonstrates the importance of the present study, the aim of which was to assess the harmful effects of sweetened sugar cane alcohol intake on the nutritional status and biochemical profile of ageing male and female rats.

MATERIALS AND METHODS

Animals and Experimental Groups

Forty male and female Wistar rats (*Rattus norvegicus*, *Albinus*) 12 months of age were obtained from the animal lodging sector of the Nutrition Department of the Universidade Federal de Pernambuco (UFPE, Brazil). Through the study period, the animals remained in individual cages in an environment with a 12-hour photoperiod, controlled temperature ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) and exhaust system, in compliance with the ethical guidelines established by the Brazilian College of Animal Experimentation. The rats were randomly allocated to four groups of 10 animals according to the treatment: water control group [CG – female control group (FCG) and male control group (MCG)] and alcohol group [AG – female control group (FAG) and male control group (MAG)]. All components of the ration and the alcoholic beverage were acquired on a single occasion in the local marketplace. The study received approval from the Ethics Committee on Animal Experimentation of the Center for Biological Sciences, UFPE (process nº: 23076.002080/2008-15).

Feeding Regimen

All groups were fed exclusively with a blend of typical foods found in the diet of the population of northeastern Brazil and had free access to the ration (Burgos and Bion, 2005; Orange et al., 2009). The composition of the ration was determined based on the methodology of the Adolfo Lutz Institute (2005) and is listed in Table 1. The diet was prepared at the Experimental Nutrition Laboratory of the Department of Nutrition, as described in previous studies (Burgos and Bion, 2005; Orange et al., 2009). Dietary intake was monitored on a weekly basis, considering the amount offered and amount rejected.

Offer of Fluids

The animals in the AG received water and sweetened sugar cane alcohol in separate drink dispensers and those in the CG only received water. Both groups drank *ad libitum* for a period of five weeks. Water and alcohol intake (ml) was determined on a daily basis and calculated by the amount offered and amount rejected. Alcohol intake was determined considering g of alcohol/kg of body weight/day.

Body Weight

Body weight was determined on an electronic precision scale, with a capacity of 2.6/oz. The variation in body weight based on the initial body weight at 12 months of age was recorded on a weekly basis.

Sacrifice of Animals and Biochemical Analysis

At the end of the experimental period, the animals were weighed after fasting for 12 hours and then sacrificed under anesthesia (Ketamine and Xylazine). A heart puncture was performed for the collection of blood samples for the biochemical determination of glucose, total cholesterol (TC) and tryglycerides (TG), using the Trinder enzyme method (1969). Lipoprotein fractions [high-density (HDL-C), very low-density (VLDL-C) and low-density (LDL-C)] were determined using the Rautela and Liedtke (1978) method. Albumin (ALB) was determined using the bromocresol green method (Peters et al., 1982).

Histological Analysis of Liver

Transversal segments were removed from the liver of the animals in the different groups to determine the effects of sugar cane alcohol intake on liver tissue, with qualitative comparisons of the histological samples from the male and female rats that ingested sugar cane alcohol and those that ingested water alone. Immediately following blood collection, an incision was made in the abdominal cavity for the removal of the liver. The left lobe was sectioned at its greatest diameter for the acquisition of the transversal segment, which was immersed in formalin buffered in 10% PBS for fixation. After 48 hours, the tissue segment was embedded in paraffin and submitted to routine histological analysis. Histological slices 4 μ m in thickness were cut on a microtome, stained with hematoxylin-eosin, mounted on albuminized slides and analyzed under a conventional optical microscope.

Statistical Analysis

Data analysis was performed using descriptive methods (mean and standard deviation), employing the Student's t-test with equal and unequal variances or the Mann-Whitney test and F test (Analysis of Variance - ANOVA) for repeated measurements with one factor and the F test (ANOVA) in a three-factor model (inferential methods) (Zar, 1999), one with repeated measurements and Bonferroni comparisons between evaluation times. The Student's t-test was chosen when the data demonstrated normal distribution in each analysis category and the Mann-Whitney test was used when the data did not exhibit normal distribution. Equality of

variance was determined using Levene's F test. The level of significance on all statistical tests was set at 5.0%. The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version13, Chicago, IL, USA) was employed for all calculations.

RESULTS

Food Intake

There was a significant difference between genders regarding food intake ($p < 0.001$). Males had a higher mean intake (CG: 132.55 ± 29.20 g/day; AG: 137.71 ± 27.53 g/day) than females (CG: 116.2 ± 35.86 g/day; AG: 111.01 ± 35.41 g/day). For both genders, there were also significant differences between evaluation times, except between Weeks 2 and 3 (Table 2).

Body Weight

In the weekly analyses, the males had significantly heavier body weight than the females (Table 3). The paired comparison tests revealed significant differences between weeks only among the females. In the FCG, there were significant differences between the beginning of the study and Weeks 2 and 3 as well as between Week 1 and Weeks 2 and 3 ($p < 0.009$). In the FAG, there was a significant difference between the beginning of the study and Week 3 ($p < 0.002$). Regarding weight gain at the end of the five week period, there was no significant difference between the two groups of males, but there was a significant difference between the two groups of females (CG: $p = 0.028$; AG: $p = 0.014$) (Figure 1).

Water and Sugar Cane Alcohol Intake

There was a significant difference in water intake between the two groups of females in Week 2, when the FCG ingested a greater amount of water than the FAG ($p < 0.001$). Mean water intake was significantly higher among males than females, except in Week 3, when the difference did not achieve statistical significance (Table 4). Throughout the study, there were statistically significant differences in water intake in the MCG ($p = 0.021$) between Weeks 1 and 2 as well as between Weeks 2 and 4; in the FCG, there were significant differences ($p < 0.001$) between Weeks 3 and 4 as well as between Weeks 3 and 5; in the FAG, there were significant differences ($p = 0.005$) between Weeks 2 and 3 as well as between Weeks 3 and 4.

The males ingested significantly greater amounts of sugar cane alcohol than the females throughout the study, except in Week 4 (Table 4). Figure 2 displays the preference ratios for alcohol over water, which was higher in Week 1 among the males ($44.45 \pm 10.67\%$)

and higher in Week 2 among the females ($45.86 \pm 7.84\%$). Among the females, there was a significant difference in preference ratio between Weeks 2 and 3 ($p = 0.040$).

Biochemical Profile

Chronic sugar cane alcohol intakes led to a significant increase in glycemia in both male and female rats as well as significant increases in TC and TC/HDL in the males. VLDL and TG values were significantly lower in both genders in the AG in comparison to the CG, whereas albumin was significantly lower only in the females of the AG (Table 5).

Histological Analysis of Liver Tissue

The histological analysis of the liver samples revealed liver impairment in the AG, characterized by steatosis and areas of necrosis, which increased proportionally in rats that ingested larger amounts of sugar cane alcohol. The frequency and intensity of the necrotic lesions were similar to those of steatosis (Figure 3).

DISCUSSION

The results of the present study indicate that the ingestion of sweetened sugar cane alcohol did not alter food intake in rats, regardless of gender. However, it did have an effect on body weight. Chronic exposure to alcohol in ageing rats of both genders did not demonstrate the expected anorexic effect. These findings differ from those described by Woods and Druse (1996), who report significantly lower food intake by 14-month-old male rats treated with alcohol over a period of six weeks, and those described by Aguiar et al. (2004), who offered increasing solutions of alcohol (0, 5, 10, 20 and 40%, v/v) as the only source of fluid to female Wistar rats for five weeks.

The greater food intake of the males in both groups is likely due to the faster metabolism in this gender, which requires greater food consumption (Mezadri et al., 2004). Although the animals in the MAG consumed more food than those in the FAG, this behavior did not result in weight gain, which may be attributed to the faster metabolism and consequently greater energy expenditure among males (Mezadri et al., 2004) or a reduction in the utilization of the diet. The latter hypothesis may be partially explained by the greater amount of sugar cane alcohol ingested by males, which, while not reducing their appetite, may have affected the utilization of the diet. According to Bode and Bode (1997), alcohol toxicity results in poor digestion and/or the malabsorption of nutrients.

Although the greater ingestion of alcohol on the part of the males provided additional caloric intake, these calories do not appear to have been used for weight gain (Lieber, 1994). However, in a previous study involving malnourished animals with a 50% ration restriction, the calories from a 20% alcohol solution (v/v) were efficiently used to maintain body weight (Aguiar et al., 2006). The authors cited subsequently published similar results on the offer of an alcohol solution at a lower concentration (5%) to female rats submitted to a similar ration restriction. These findings suggest that the calories from alcohol may attenuate malnutrition in rats and that the toxic profile of this drug depends on the nutritional status of the animal.

Regarding male body weight in both groups, the results of the present study are similar to those reported by Cahill et al. (2005) for Fischer rats (F344) of the same gender and age

that received the Lieber-de-Carli diet for three weeks, in which 36% of the calories came from alcohol. In contrast, Mobarhan et al. (1991) studied 19-month-old rats fed with the Lieber-de-Carli and similar alcohol content and found significant weight loss. These results suggest that the age of the animals is an important factor in triggering the negative nutritional effects caused by alcohol. Body weight in the FAG also contradicts previous studies on female rats treated chronically with alcohol, the weight gain of which was significantly lower (Aguiar et al., 2004; Stewart and Kennedy, 1999).

The animals in the MAG ingested 45% more fluids (water and sugar cane alcohol) than those in the FAG. Water intake was higher in the GC than the GA for both genders. This may be explained by the fact that the water and alcohol were offered separately in the GA, making the alcohol more attractive due to its concentration of sugars. The significantly greater alcohol intake on the part of males differs from findings described by Orange et al. (2009) and Lancaster & Spiegel (1992), who report that females ingested greater quantities of alcohol. However, considering alcohol intake per kilogram of body weight per day (g/kg/day), there was no significant difference between genders, as mean intake was 21.16 ± 6.78 g/kg/day for males and 20.31 ± 2.60 g/kg/day for females. These values are similar to the 24.01 g/kg/day reported by Aguilar et al. (2006), who offered female rats a water/alcohol solution with a similar percentage to that offered in the present study (40% v/v).

The significantly high glycemia values in both genders in the AG are similar to those described in previous studies (Sforzin et al., 1997; Strbák et al., 1998). According to the literature, chronic alcohol intake alters glycemic homeostasis and is associated to the development of insulin resistance. Kang et al. (2007) found that chronic exposure to alcohol produced insulin resistance associated to impairment in the suppression of hepatic glucose production. According to Wellen (2005), there may be a strong relation between chronic inflammation and insulin resistance, as many inflammatory factors directly affect the signaling of this hormone. Thus, steatosis and hepatitis, which normally occur following chronic alcohol intake, may contribute toward hyperglycemia (Mezey, 1991).

The ingestion of high doses of alcohol is considered a risk factor for atherogenesis (Stipp et al., 2007) and induces changes in lipid homeostasis (Marmillot et al., 2007). In the present study, serum TC in the MAG (221.78 ± 148.16) was 170% higher than that in the MCG (97.70 ± 63.10). The significantly lower VLDL values in both males and females in the AG confirm the toxicity of alcohol to the liver, as acetaldehyde, which is a subproduct of the metabolism of this drug, can damage the microtubule system of the liver, resulting in

inadequate fat secretion in the form of VLDL from the liver and leading to low levels of this lipoprotein in the blood (Seitz and Stickel, 2006).

The low levels of serum albumin in the FAG are in agreement with those reported by Aguiar et al. (2006) in female rats that ingested increasing concentrations of alcohol. Low levels of plasma proteins, such as albumin, may indicate visceral protein depletion and liver damage, as this protein is used when calculating the degree of liver failure (Pugh et al., 1973).

The toxic effect of sugar cane alcohol on liver tissue was characterized by steatosis and areas of necrosis in both male and female rats. Keegan et al. (1995) report histological alterations of steatosis, inflammation and necrosis in the liver cells of rats that ingested a water/alcohol solution (40%v/v). A number of factors are involved in the genesis of alcoholic steatosis, such as the accentuated synthesis of free fatty acids and reduction mitochondrial functionality attributed to damage caused by alcohol, resulting in a decrease in β oxidation, the elimination of fat and the production of reactive oxygen species, with consequent lipid peroxidation and cell damage. Another important factor in the pathogenesis of this disease is the secretion of cytokines from hepatic Kupffer cells, induced by the influx of endotoxins from the intestine (Seitz and Stickel, 2006). A number of cytokines are released, such as interleukin 1 and 6 (IL1, IL6), transforming growth factor β 1 (TGF β 1) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) (McClain et al., 2005). TNF- α and IL1 have cytotoxic effects on liver cells, leading to necrosis, whereas TGF β 1 activates hepatic fibrogenesis.

In summary, due to its high ethanol content, sugar cane alcohol is a complex beverage and the degree of damage stemming from its ingestion may vary according to gender. Although sugar cane alcohol did not affect food intake in either gender, it had a toxic effect on the liver, with repercussions on the biochemical profile of the animals, which may lead to diverse diseases.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Laboratory of the Clinical Analysis Unit of the Department of Pharmaceutical Sciences of the Universidade Federal de Pernambuco; librarian Maria Cristina Malta for the linguistic and documental revision; Dr. Ediones França, veterinarian of the Central Animal Lodging of the Department of Nutrition; and technician José Paulino Ventura for assistance in handling the animals.

REFERENCES

- ADDOLORATO G, LEGGIO L, ABENAVOLI L, GASBARRINI G (2005) Neurobiochemical and clinical aspects of craving in alcohol addiction: a review. *Addict Behav* 30: 1209 – 1224.
- AGUIAR AS, BOAVENTURA GT, MALHEIROS LR, DA-SILVA VA (2006) Behavioral toxicity of increasing doses of ethanol in malnourished rats. *Nutr Neurosc* 9: 113-119.
- AGUIAR AS, DA-SILVA VA, BOAVENTURA GT (2004) Can calories from ethanol contribute to body weight preservation by malnourished rats? *Braz J Med Biol Res* 37: 841-846.
- BODE C, BODE C (1997) Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders. *Alcohol Health Res World* 21:76-83.
- BRZÓSKA MM, MONIUSZKO-JAKONIUK J, PILATMARCINKIEWICZ B, SAWICKI B (2003) Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol Alcohol* 38: 2-10.
- BURGOS MGPA, BION F M (2005) Bebidas alcoólicas durante a lactação e seus efeitos na nutrição e metabolismo: estudo em ratos. *Rev Bras Saúde Mat Infant* 5: 247-248.
- CAHILL A, HERSHMAN S, DAVIES A, SYKORA P (2005) Ethanol feeding enhances age-related deterioration of the rat hepatic mitochondrion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289: G1115-G1123.
- CARLINI FA, GALDURÓZ JCF, NOTO AR, NAPPO SA (2002) I levantamento domiciliar sobre o uso de drogas no Brasil – 2001. Brasília: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas - Departamento de Psicobiologia da Escola Paulista de Medicina, Secretaria Nacional Antidrogas).
- CASTILLO B A A, MARZIALE, MHP, CASTILLO, MMA, FACUNDO FRG, MEZA MVG (2008) Stressful situations in life, use and abuse of alcohol and drugs by elderly in Monterrey, Mexico. *Rev Latino-Am Enferm* 16: 509-516.
- GALDURÓZ JCF, CAETANO R (2004) Epidemiologia do uso de álcool no Brasil. *Rev Bras Psiq* 26:3-6.

HULSE GK Alcohol, drugs and much more in later life (2002) Rev Bras Psiquiatr 24 (S1): S34-S41.

INSTITUTO ADOLF LUTZ (2005) Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ªed. São Paulo, v.1.

ITO DT, MOLINA HM, ANDRIOLO A, BORGES DR (2007) The combination of atorvastatin and ethanol is not more hepatotoxic to rats than the administration of each drug alone. Br J Med Biol Res 40: 343-348.

KANG L, SEBASTIAN BM, PRITCHARD MT, PRATT BT, PREVIS SF, NAGY LE (2007) Chronic ethanol-induced insulin resistance is associated with macrophage infiltration into adipose tissue and altered expression of adipocytokines. Alcohol Clin Exp Res 31:1581-1588.

KEEGAN A, MARTINI R, BATEY R (1995) Ethanol-related liver injury in the rat a model of steatosis, and pericentral fibrosis inflammation. J Hepatol 23: 591-600.

LANCASTER FE, SPIEGEL KS (1992) Sex difference in pattern of drinking. Alcohol 9:415-420.

LIEBER CS (1994) Alcohol and liver. Gastroenterol 106: 1085-1105.

LÓPEZ R (2004) Cachaça amplia potencial de consumo no mercado externo. Engarrafador Mod 18-24. Disponível em:
<http://www.engarrafadormoderno.com.br/arquivo/110dr.pdf> Acesso em: 10 set. 2009.

MARMILLOT P, MUNOZ J, PATE S, GARIGE M, ROSSE RB, LAKSHMAN MR (2007) Long-term ethanol consumption impairs reverse cholesterol transport function of high-density lipoproteins by depleting high-density lipoprotein spingomyelin both in rats and in humans. Metab Clin Exp 56: 947-953.

MCCLAIN C, BARYE S, JOSHI-BARVE S, SONG Z, DEACIUC I, CHEN T, HILL D (2005) Dyregulated cytokine metabolism, altered hepatic methionine metabolism and proteasome dysfunction in alcoholic liver disease. Alcohol ClinExp Res 29 (S11):180S–8S.

MEZADRI TJ, TOMÁZ VA, AMARAL VLL (2004) Animais de laboratório: cuidados na iniciação experimental. (Florianópolis)

MEZEY E (1991) Interaction between alcohol and nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 11: 340-348.

MOBARHAN S, SEITZ HK, RUSSELL RM, MEHTA R, HUPERT J, FRIEDMAN H, LAYDEN TJ, MEYDANI M, LANGENBERG P (1991) Age-related effects of chronic ethanol intake on vitamin A status in Fisher 344 rats. *J Nutr* 121: 510-517.

MORAES F V (2001) Como controlar a qualidade da cachaça. *Engarrafador Mod10*: 24-29.

ORANGE LG, BION FM, LIMA CR (2009) Effects of different concentrations of sugar cane alcohol on food intake and nutritional status of male and female periadolescent rats. *Alcohol* 43: 137-146.

PETERS T, BIAMON GT, DOUMAS BT (1982) Albumin in serum. In: FAULKNER WR, MEITES E (eds) *Selected methods of clinical chemistry*. Washington: AACC. v.9, p.319.

PUGH RNH, MURRAY-LYON IM, DAWSON JL, PIETRONI MV, WILLIAMS R (1973) Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 60: 646-649.

PUZZIFERRI I, SIGNORILE A, GUERRIERI F, PAPA F, CUOMO V, STEARDO L (2000) Chronic low dose ethanol intake: biochemical characterization of liver mitochondria in rats. *Life Sci* 66: 477-484.

RAUTELA GS, LIEDTKE RJ (1978) Automated enzymic measurement of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 24: 108-114.

SEITZ HK, STICKEL F (2006) Risk factors and mechanism of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress. *Biol Chem* 387:349–360

SFORCIN JM, MONTEIRO CMR, LOPES CEF, SAPATERA AC, FERREIRA WJN (1997) Perfil bioquímico e análise morfológica do ovário de ratas submetidas a consumo prolongado de álcool. *Rev Ciênc Bioméd* 18: 69-81.

SOLDERA M, DALGALARRONDO P, CORRÊA-FILHO HR, SILVA CAM (2004) Uso pesado de álcool por estudantes dos ensinos fundamental e médio de escolas centrais e periféricas de Campinas (SP): prevalência e fatores associados. *Rev Bras Psiquiatr* 26: 174-179.

STIPP MAC, ASSIS LS, LEITE JL, ANDRADE MP, CUNHA NM, SIMÕES RD (2007) O Consumo do álcool e as doenças cardiovasculares – uma análise sob o olhar da enfermagem. *Esc Anna Nery Rev Enferm* 11 (4): 581 – 585.

STRBÁK V, BENICKÝ J, MACHO L, JEZOVÁ D, NIKODÉMOVÁ M (1998) Four-week ethanol intake decrease food intake and body weight but does not affect plasma leptin, corticosterone, and insulin levels in pubertal rats. *Metabolism* 47: 1269-1277.

TRINDER P (1969) *Ann Clin Bioch* 6: 24.

WOODS JM, DRUSE MJ (1996) Effects of chronic ethanol consumption and aging on dopamine, serotonin, and metabolites. *J Neurochem* 66: 2168-2178.

ZAR JH (1999) *Biostatistical Analysis*, 4^a ed., New Jersey: Prentice Hall.

TABLE I
Composition of experimental diet

Components (g)	Quantity	Proteins (g)	Carbohydrates (g)	Lipids (g)
Beans ^a	10.00	2.28 ^c	6.19 ^c	0.14 ^c
Rice ^a	8.00	0.61 ^c	7.06 ^c	0.01 ^c
Chicken ^a	10.00	7.88 ^c	1.25 ^c	0.43 ^c
Soybean oil ^b	4.00	-	-	4.00
Cassava flour ^b	68.00 ^c	0.95 ^c	56.00 ^c	0.06 ^c
Total (g)	100.00	11.72	71.10	4.58
Kcal/100 g	372.50	46.88	28.40	41.22

Blend based on typical diet of population of northeastern Brazil, composed of *Phaseolus vulgaris L*, *Oriza sativa L.*, *Manihot esculenta crantz*, *Gallus galináceo* and soybean oil; ^a The beans, rice and chicken were cooked separately in water for two hours, dried in a hothouse (60°C) for 12 h and ground (Floor Grind – Chuo Boeki Kaisha) for the obtainment of the respective flours; ^bObtained in local marketplace; ^cDeterminations performed by the Experimental Nutrition Laboratory, UFPE, following the methodology of the Adolfo Lutz Institute (2005)

TABLE II

Food intake of ageing rats ingesting water and/or sugar cane alcohol according to gender and evaluation time

Gender	Evaluation time (week)	Group		p-value**
		CG (g) (Mean $\pm$ SD)	AG (g) (Mean $\pm$ SD)	
• Male	1 ^(A)	92.64 $\pm$ 4.06	94.35 $\pm$ 3.82	p ⁽¹⁾ = 0.480
	2 ^(B)	140.04 $\pm$ 7.46	137.36 $\pm$ 9.67	p ⁽²⁾ < 0.001*
	3 ^(B)	138.78 $\pm$ 20.68	138.15 $\pm$ 29.64	p ⁽³⁾ < 0.001*
	4 ^(C)	119.40 $\pm$ 21.42	123.33 $\pm$ 29.93	p ⁽⁴⁾ = 0.452
	5 ^(D)	171.92 $\pm$ 11.15	170.40 $\pm$ 3.84	p ⁽⁵⁾ = 0.740
• Female	1 ^(A)	67.72 $\pm$ 12.61	69.80 $\pm$ 24.10	p ⁽⁶⁾ = 0.073
	2 ^(B)	118.57 $\pm$ 14.82	114.17 $\pm$ 25.42	p ⁽⁷⁾ = 0.492
	3 ^(B)	115.64 $\pm$ 16.62	113.82 $\pm$ 21.38	
	4 ^(C)	110.40 $\pm$ 35.59	92.05 $\pm$ 20.53	
	5 ^(D)	168.67 $\pm$ 4.80	165.22 $\pm$ 7.35	

CG: control group; AG: alcohol group.

(*): Significant difference at 5.0%.

(1): Comparison between groups using F test (ANOVA).

(2): Comparison between genders using F test (ANOVA)

(3): Comparison between evaluation times using F test (ANOVA)

(4): Hypothesis of group x gender interaction

(5): Hypothesis of group x evaluation time interaction

(6): Hypothesis of gender x evaluation time interaction

(7): Hypothesis of group x gender x evaluation time interaction

Note: Different letters in parentheses denote significant difference between corresponding evaluation times through paired Bonferroni comparisons

(**): Three-factor ANOVA

Table III

Body weight of ageing rats ingesting water and/or sugar cane alcohol according to gender and evaluation time

Evaluation time (week)	Gender	Group	
		CG (g) (Mean $\pm$ DP)	AG (g) (Mean $\pm$ SD)
• 0	Male	528.43 $\pm$ 55.54	544.14 $\pm$ 36.33
	Female	289.11 $\pm$ 28.13	298.90 $\pm$ 32.35
	p-value	$p^{(1)} < 0.001^*$	$p^{(1)} < 0.001^*$
• 1	Male	525.19 $\pm$ 52.32	527.09 $\pm$ 39.68
	Female	297.10 $\pm$ 28.76	310.72 $\pm$ 31.57
	p-value	$p^{(1)} < 0.001^*$	$p^{(1)} < 0.001^*$
• 2	Male	540.62 $\pm$ 58.62	540.68 $\pm$ 31.65
	Female	309.70 $\pm$ 32.35	319.89 $\pm$ 35.41
	p-value	$p^{(1)} < 0.001^*$	$p^{(1)} < 0.001^*$
• 3	Male	538.59 $\pm$ 45.67	546.69 $\pm$ 49.11
	Female	320.05 $\pm$ 35.97	329.65 $\pm$ 38.89
	p-value	$p^{(1)} < 0.001^*$	$p^{(1)} < 0.001^*$
• 4	Male	534.34 $\pm$ 63.00	535.73 $\pm$ 81.72
	Female	314.62 $\pm$ 45.55	324.24 $\pm$ 40.05
	p-value	$p^{(1)} < 0.001^*$	$p^{(2)} < 0.001^*$
• 5	Male	527.15 $\pm$ 61.62	525.70 $\pm$ 101.23
	Female	313.82 $\pm$ 51.77	322.54 $\pm$ 38.51
	p-value	$p^{(1)} < 0.001^*$	$p^{(2)} = 0.002^*$

CG: control group; AG: alcohol group

(*): Significant difference at 5.0%

(1): Student's t-test with equal variances

(2): Mann-Whitney test

TABLE IV

Fluid intake (water and/or sugar cane alcohol) by ageing rats according to gender and evaluation time

Gender	Evaluation time (week)	Group			
		CG (ml) (Mean $\pm$ SD)	AG water (ml) (Mean $\pm$ SD)	p-value	AG alcohol (ml)
• Male	1	40.22 $\pm$ 6.10 ^(A)	37.99 $\pm$ 7.22	p ⁽¹⁾ = 0.467	31.12 $\pm$ 10.11
	2	48.21 $\pm$ 10.21 ^(B)	42.66 $\pm$ 9.70	p ⁽¹⁾ = 0.229	29.51 $\pm$ 11.39
	3	42.82 $\pm$ 11.60 ^(AB)	38.29 $\pm$ 8.08	p ⁽¹⁾ = 0.325	23.97 $\pm$ 9.65
	4	37.61 $\pm$ 7.26 ^(A)	34.05 $\pm$ 8.94	p ⁽¹⁾ = 0.340	21.49 $\pm$ 12.70
	5	41.14 $\pm$ 9.60 ^(AB)	36.12 $\pm$ 10.35	p ⁽¹⁾ = 0.276	26.36 $\pm$ 8.36
	p-value	p ⁽³⁾ = 0.021*	p ⁽³⁾ = 0.068		p ⁽²⁾ = 0.218
• Female	1	24.97 $\pm$ 4.37 ^(AB)	27.48 $\pm$ 8.84 ^(AB)	p ⁽¹⁾ = 0.432	18.14 $\pm$ 3.74
	2	31.20 $\pm$ 6.30 ^(AC)	20.76 $\pm$ 4.16 ^(A)	p ⁽²⁾ < 0.001*	17.64 $\pm$ 4.20
	3	32.27 $\pm$ 5.60 ^(C)	30.81 $\pm$ 8.21 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0.647	15.12 $\pm$ 3.86
	4	23.24 $\pm$ 4.95 ^(B)	21.32 $\pm$ 6.52 ^(A)	p ⁽¹⁾ = 0.470	15.08 $\pm$ 5.69
	5	24.42 $\pm$ 4.14 ^(B)	24.16 $\pm$ 7.95 ^(AB)	p ⁽²⁾ = 0.315	16.28 $\pm$ 7.82
	p-value	p ⁽³⁾ < 0.001*	p ⁽³⁾ = 0.005*		p ⁽²⁾ = 0.391
	p _I	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ = 0.009*		p ⁽¹⁾ = 0.003*
	p _{II}	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽²⁾ < 0.001*		p ⁽¹⁾ = 0.010*
	p _{III}	p ⁽¹⁾ = 0.018*	p ⁽¹⁾ = 0.055		p ⁽¹⁾ = 0.020*
	p _{IV}	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ = 0.002*		p ⁽²⁾ = 0.151
	p _V	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽²⁾ = 0.009*		p ⁽²⁾ = 0.003*

CG: control group; AG: alcohol group

(*): Significant difference at 5.0%.

(1): Student's t-test with equal variances for comparison between groups at each evaluation time and in each gender

(2): Mann-Whitney test for comparison between groups at each evaluation time and in each gender

(3): F test (ANOVA) for repeated measurements for comparison between evaluation times

p_I: for comparison between genders at end of Week 1

p_{II}: for comparison between genders at end of Week 2

p_{III}: for comparison between genders at end of Week 3

p_{IV}: for comparison between genders at end of Week 4

p_V: for comparison between genders at end of Week 5

Note: Different letters in parentheses denote significant difference between corresponding evaluation times through paired Bonferroni comparisons

TABLE V

Biochemical indices of ageing rats ingesting water and/or sugar cane alcohol according to gender

Variable	Gender	Group		p-value
		CG (mg/dL) (Mean $\pm$ SD)	AG (mg/dL) (Mean $\pm$ SD)	
• Glucose	Male	44.80 $\pm$ 8.24	193.89 $\pm$ 82.78	p ⁽¹⁾ < 0.001*
	Female	55.50 $\pm$ 8.28	100.00 $\pm$ 41.80	p ⁽¹⁾ = 0.002*
	p-value	p ⁽¹⁾ = 0.015*	p ⁽¹⁾ = 0.001*	
• TC ^a	Male	82.00 $\pm$ 14.76	221.78 $\pm$ 148.16	p ⁽²⁾ = 0.022*
	Female	84.00 $\pm$ 6.58	97.70 $\pm$ 63.10	p ⁽¹⁾ = 0.218
	p-value	p ⁽¹⁾ = 0.053	p ⁽²⁾ = 0.041*	
• HDL ^b	Male	20.10 $\pm$ 3.67	42.39 $\pm$ 25.77	p ⁽¹⁾ = 0.243
	Female	21.30 $\pm$ 4.76	20.60 $\pm$ 12.88	p ⁽¹⁾ = 0.393
	p-value	p ⁽¹⁾ = 0.079	p ⁽²⁾ = 0.042*	
• VLDL ^c	Male	18.50 $\pm$ 2.64	9.60 $\pm$ 3.46	p ⁽³⁾ < 0.001*
	Female	12.96 $\pm$ 1.45	10.74 $\pm$ 2.51	p ⁽³⁾ = 0.029*
	p-value	p ⁽³⁾ < 0.001*	p ⁽³⁾ = 0.419	
• LDL ^d	Male	43.40 $\pm$ 12.92	81.64 $\pm$ 82.93	p ⁽¹⁾ = 0.481
	Female	49.74 $\pm$ 5.97	64.34 $\pm$ 45.65	p ⁽²⁾ = 0.341
	p-value	p ⁽²⁾ = 0.183	p ⁽¹⁾ = 0.905	
• TG ^e	Male	92.50 $\pm$ 13.18	50.49 $\pm$ 5.81	p ⁽³⁾ < 0.001*
	Female	64.80 $\pm$ 7.25	52.60 $\pm$ 13.44	p ⁽³⁾ = 0.021*
	p-value	p ⁽³⁾ < 0.001*	p ⁽³⁾ = 0.669	
• Albumin	Male	3.49 $\pm$ 0.43	3.20 $\pm$ 0.43	p ⁽¹⁾ = 0.211
	Female	3.83 $\pm$ 0.32	2.98 $\pm$ 0.74	p ⁽¹⁾ < 0.001*
	p-value	p ⁽³⁾ = 0.059	p ⁽¹⁾ = 0.356	
• TC/HDL ^f	Male	4.15 $\pm$ 0.46	4.91 $\pm$ 0.67	p ⁽¹⁾ = 0.013*
	Female	4.03 $\pm$ 0.76	4.75 $\pm$ 0.77	p ⁽³⁾ = 0.051
	p-value	p ⁽³⁾ = 0.579	p ⁽¹⁾ = 0.400	

CG: control group; AG: alcohol group; ^aCholesterol; ^bHigh-density lipoprotein; ^cVery low-density lipoprotein; ^dLow-density lipoprotein; ^eTriglycerides; ^fCholesterol:high-density lipoprotein ratio; (*): Significant difference at 5.0%; (1): Mann-Whitney test; (2): Student's t-test with unequal variances; (3): Student's t-test with equal variances

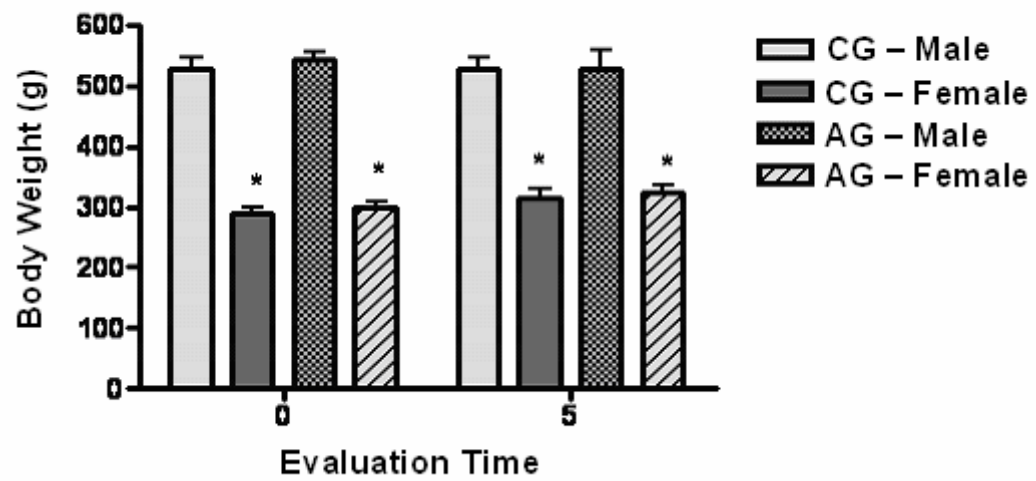


FIGURE 1

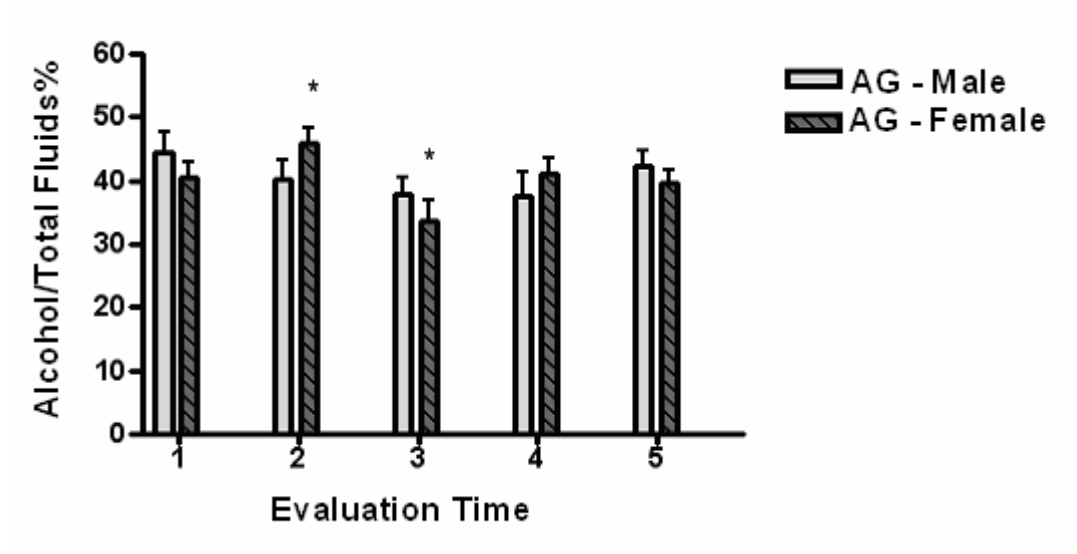


FIGURE 2

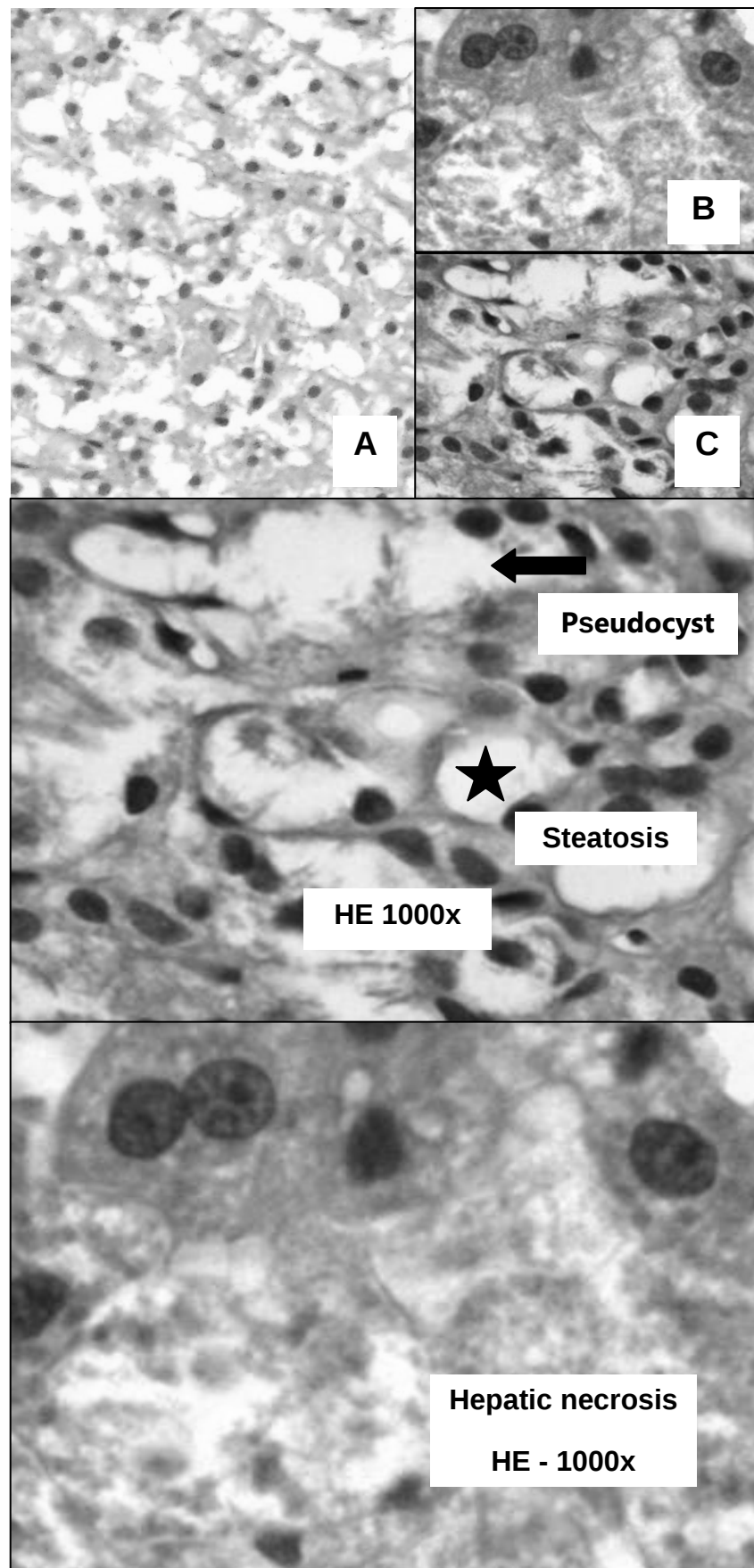


FIGURE 3

FIGURE LEGENDS

Figure 1 – Weight gain of ageing rats ingesting water and/or sugar cane alcohol according to gender and evaluation time; CG: control group; AG: alcohol group
(*) Significant difference at 5.0% through Student's t-test ($p < 0.05$).

FIGURE LEGENDS

Figure 2 – Preference for sugar cane alcohol in relation to total fluids in ageing rats ingesting water and/or sugar cane alcohol according to gender and evaluation time
(*) Significant difference at 5.0% through Student's t-test with equal variances and F test (ANOVA) for repeated measurements.

FIGURE LEGENDS

Figure 3 – Histological cuts of liver stained with hematoxylin-eosin of animals in alcohol group; severe steatosis with pseudocysts (400x) (A); details: area of necrosis (B); steatotic hepatocytes (C) (1000x).

Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age

O segundo artigo deste estudo é intitulado: **“EFFECTS OF SUGARCANE ALCOHOL ON NUTRITIONAL STATUS AND LIPEMIA IN MALE AND FEMALE RATS IN FUNCTION OF AGE”**. Foi submetido, como artigo original à revista: **Alcohol**. Publicada pela Editora Elsevier e classificada como qualis internacional A2, pela Capes (ano de 2010) (ANEXO D).

Em resumo, neste artigo, foram avaliados os efeitos nutricionais e lipêmicos da ingestão crônica de aguardente de cana-de-açúcar, em ratos de ambos os gêneros, em função da idade. A ingestão de aguardente contribuiu para um maior consumo calórico total, em ambas as idades e gêneros. Os animais machos, em ambas as idades, ingeriram maiores quantidades da bebida alcoólica; já a ingestão hídrica foi maior nos animais com 12 meses, em ambos os gêneros e tratamentos. Com exceção dos grupos GAF12 e GCF12, os demais apresentaram perda de peso e os animais do GAM12 apresentaram maior peso relativo do fígado. Os valores séricos de lipoproteína de alta densidade foram maiores nos animais dos GA, exceto no GAF12; entretanto, a bebida elevou a fração lipoproteína de muito baixa densidade e os triglicérides no GAF12 e no GAM18. Os achados permitem concluir que a aguardente de cana-de-açúcar, pelo seu alto teor de etanol, é uma bebida complexa, e os danos decorrentes de sua ingestão no *status* nutricional e lipemia de ratos podem variar, na dependência da idade e do gênero.

TITLE AND AUTHOR PAGE

Title of paper: **“Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age”**

Authors:

*CYBELLE ROLIM LIMA¹

FRANCISCA MARTINS BION²

LUCIANA GONÇALVES DE ORANGE¹

PEDRITA MIRELLA ALBUQUERQUE QUEIROZ²

FABIOLA KARINE ARRUDA XAVIER PONZI²

NONETE BARBOSA GUERRA³

¹ Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória , Núcleo de Nutrição, CEP: 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco – Brazil;

² Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição - Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco – Brazil;

³ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição – Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco – Brazil;

This study was carried out at the Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Brazil.

***Author for correspondence:** Departamento de Nutrição, Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), CCS, UFPE, Av. Professor Moraes Rego, s/n, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife/PE, Brazil. Tel.: +55 81 2126 8470; fax: +55 81 2126 8473.

E-mail address: cybellerolim@yahoo.com.br (C. Rolim de Lima)

ABSTRACT

The effects of sugarcane alcohol intake on nutritional status and lipemia in function of age were studied in male and female Wistar rats at 12 and 18 months of age, randomized into four groups of 10 animals: water control group [CG; female control group (FCG) and male control group (MCG); and alcohol group [AG; female alcohol group (FAG) and male alcohol group (MAG)]. The animals were fed exclusively a blend of foods based on the typical diet of the population of northeastern Brazil, with free access to water and/or alcohol throughout the five-week experimental period. Food intake, liquid intake, body weight were assessed. At the end of the experiment, the weight of the liver and lipid indices (cholesterol, high-density lipoprotein, cholesterol/high-density lipoprotein ratio, low-density lipoprotein, very low-density lipoprotein and triglycerides) were analyzed. Calorie intake was greater in the AG in both genders and at both ages. Alcohol intake was greater among males at both ages. Water intake was greater among the animals at 12 months of age in both genders and treatments. With the exception of FAG12 and FCG12, the other groups experienced weight loss and the MAG12 had the greatest relative weight of the liver. The serum values of high-density lipoprotein were higher in the AG, except in comparison to FAG12. However, alcohol intake increased the fraction of very low-density lipoprotein and triglycerides in FAG12 and MAG18. The findings demonstrate that, due to its high ethanol content, sugarcane alcohol is a complex beverage and the harm it causes to nutritional status and lipemia in rats varies with age and between genders.

Keywords: *Alcoholism, sugarcane alcohol, nutritional status, lipemia, ageing*

INTRODUCTION

Alcohol abuse has become a significant problem due to its continuous increase and the effects this drug has on health and the quality of life of the elderly population. There are more than three million alcoholics over 60 years of age in the United States (Gupta, 1993), with an alarming estimate of 21% of the elderly population affected by this disease by the year 2030 (Rigo et al., 2005).

Studies have demonstrated the greater vulnerability to alcohol among the elderly in comparison to young adults (Bucholz; Sheline; Helzer, 1995; Smith, 1995; Castillo et al., 2008). Upon ageing, an individual may become more sensitive to alcohol intoxication at doses that were well tolerated in the past (Hulse, 2002) due to the physical and cognitive changes that accompany the ageing process (Gupta, 1993). This makes the consumption of alcoholic beverages concomitant to ageing a risk factor to health. The effects of alcohol on elderly individuals may be accentuated by their altered pharmacokinetics, reduction in total body water and the occurrence of other health problems (Egbert, 1993). Chronic alcohol intake among individuals over 65 years of age is correlated with significantly higher rates of stroke, hypertension, dyslipidemia, cognitive dysfunction, weakness, daytime sleepiness, peptic ulcer, insomnia, diarrhea and urinary incontinence (Kaplan; Sadock, 2007; Colsher; Wallace, 1990; Brower et al., 1994).

Regarding alcohol intake patterns among the elderly in terms of gender, although women are more susceptible to developing alcoholism, men tend to have a significantly greater intake of this drug (Glass et al., 1995; Frone; Cooper; Russel, 1994). Regardless of gender, excessive alcohol intake can affect nutritional status, including a reduction in appetite and the adsorption, metabolism and excretion of nutrients, thereby causing nutrient deficiency and nutritional problems (Lieber, 1988).

There are few studies investigating the association between alcohol and age and the impact on nutritional status. Moreover, the results have been quite controversial. Using male F344 rats at two and 19 months of age, Mobarhan et al. (1991) investigated the interaction of age and alcohol on nutritional status, giving the animals a liquid Lieber-De-Carli diet with added alcohol for three weeks. At the end of the period, while all the two-month-old animals had gained weight, the increase was significantly greater in the control group. Among the 19-month-old animals, mean weight remained stable in the control group, whereas there was slight but significant weight loss in the alcohol group. This study reinforces the notion of the greater sensitivity of the elderly organism to harm from alcohol, especially with regard to nutritional status. However, Cahill et al. (2005) used a similar alcohol regimen for the same period of time (3 weeks) on the same gender and lineage of rats (F344) at two, 12 and 24 months of age and found no weight alterations.

With regard to the effect of alcohol on food intake, Woods and Druse (1996) report significantly less diet consumption ($\approx 50\%$) among male rats at 14 months of age who ingested an average of 13 to 16 g of ethanol/kg/day for six weeks. Aguiar et al. (2004) also report an adverse effect on food intake among rats treated with increasing concentrations of an alcohol solution over a five-week period. However, in a previous study carried out by our group, hydroalcoholic solutions of sugarcane alcohol at different concentrations had a positive effect on food consumption among rats (Orange; Bion; Lima, 2009).

Alcohol is a special drug in that it produces energy during its metabolism (7.1 kcal/g), making it a considerable source of calories in comparison to carbohydrates and proteins (4 kcal/g) and lipids (9 kcal/g). Its calories are considered “empty”, but this classification is not yet sufficiently defined in the literature. Some authors explain it as the lack of nutrients in alcoholic beverages, whereas others define it as the dissipation of these calories by the heat resulting from the metabolism of ethanol in the organism (Lands, 1993). Studies carried out

since the early 20th century have attempted to determine whether these calories are actually lost or used by the organism for weight gain. However, the results are conflicting and further investigations into this issue are needed.

With regard to alcohol use by country, Brazil is one of the largest consumers and occupies first place in the consumption of fermented-distilled beverages. Sugarcane alcohol (*cachaça*) alone has an average consumption of around 12.0 L/year (Galduróz; Caetano, 2004). The alcohol content in *cachaça* is between 38% and 48% by volume at 20 °C. This beverage is obtained from the distillation of sugarcane juice (*Saccharum officinarum* L.) and has peculiar sensory characteristics. Up to 6 g/L⁻¹ of sugars are added, expressed in sucrose. When the addition of sucrose is greater than 6 g/L⁻¹ and less than 30 g/L⁻¹, the beverage is denominated sweetened *cachaça* (López, 2004).

The hypothesis presented here is that sugarcane alcohol alters the nutritional status and lipid profile in male and female rats undergoing the ageing process. The aim of the present study was to assess the effects of the chronic ingestion of alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age.

MATERIALS AND METHODS

Animals and experimental groups

Eight male and female Wistar rats (*Rattus norvegicus*, variety Albinus) at 12 and 18 months of age were obtained from the animal lodging facility of the Department of Nutrition of the *Universidade Federal de Pernambuco* (UFPE, Brazil). Throughout the experiment, the animals remained in individual cages in an environment with a 12-hour light-dark photoperiod, exhaust system and controlled temperature (22 ± 2 °C), in compliance with the ethical recommendations of the Brazilian College of Animal Experimentation. The experimental protocol received approval from the Ethics Committee on Animal

Experimentation of the Center for Biological Sciences, UFPE (process n°: 23076.002080/2008-15).

The 12-month-old rats (N=40) were randomly allocated to four groups of 10 animals based on the treatment: water control groups [CG; female control group (FCG12) and male control group (MCG12)]; and alcohol groups [AG; female alcohol group (FAG12) and male alcohol group (MAG12)]. Likewise, the 18-month-old rats (N=40) were randomly allocated to four groups of 10 animals (FCG18, MCG18, FAG18, MAG18).

Feeding regimen

All groups were exclusively fed a blend of typical foods found in the diet of the population of northeastern Brazil and had free access to the chow. This diet was described and used in previous studies carried out by our group (Burgos et al., 2002; Orange, Bion, Lima, 2009). The composition of the chow was determined based on the methodology of the Adolfo Lutz Institute (2005) and is listed in Table 1. Dietary intake was monitored on a weekly basis, considering the difference between the amount offered and amount rejected. The components of the food blend were acquired on a single trip to the local market, at which time the alcoholic beverage was acquired as well.

Offer of Fluids

The animals in the AG received water and sweetened sugarcane alcohol in separate drink dispensers and those in the CG only received water. Both groups drank *ad libitum* for a period of five weeks. Water and alcohol intake (ml) was determined on a daily basis and calculated by the difference in the amount offered and amount rejected. Alcohol intake was determined considering g of alcohol/kg of body weight/day. For the calculation of calorie content from the alcohol, the volume of alcohol (ml) ingested by the animal was determined base on the percentage in the beverage (40% – sugarcane alcohol). This value was

subsequently corrected by the density constant of the alcohol (0.8) for the obtainment of the amount of alcohol in grams. This value was multiplied by 7.1 (kcal/gram of alcohol) (Aguilar; Silva; Boaventura, 2007).

Body Weight

Body weight was determined on an electronic precision scale, with a capacity of 2.6 oz. The variation in body weight was determined by the difference in weight between the beginning and end of treatment.

Sacrifice of Animals and Biochemical Analysis

At the end of the experimental period, the animals were weighed after fasting for 12 hours and then sacrificed under anesthesia (Ketamine and Xylazine). A heart puncture was performed for the collection of blood samples for the biochemical determination the lipid profile using commercial kits and following the standard protocols of the manufacturers' instructions. Total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) were determined using the enzyme method. The following lipoprotein fractions were determined: high-density (HDL-C) (polyethylene glycol), very low-density (VLDL-C) and low-density (LDL-C).

Relative liver weight

The relative liver weight (RLW) corresponded to the quotient between the body weight of the animal and total weight of the liver. This measure was used to determine whether the treatment with alcohol led to an increase or decrease in liver mass. The weight was determined on an electronic precision scale (Ohaus), with a capacity of 2.6 oz.

Statistical analysis

Mean and standard deviation values were calculated (descriptive statistical methods). The F test (ANOVA) was performed with three factors and two factors, the latter for variables only observed in the AG (inferential methods). A complete model was used to assess the

influence of the factors. In cases of significant interaction, all pairs of subgroups were compared by the combination of the levels (categories) of the factors. Comparisons were performed using Tukey's test when homogeneity of the variances was determined, Tamhane's T2 test when the hypothesis of homogeneity of the variances was not verified, and the Least Significant Difference was used when the F test did not demonstrate coherence with the results of the paired comparisons. The level of significance on all statistical tests was set at 5.0%. The Statistical Package for Social Sciences (version 15) was employed for all calculations.

RESULTS

Table 2 displays the data on daily calorie intake. Food intake was significantly greater ($p < 0.013$) in males among the 18-month-old animals, regardless of the treatment. There was a significant interaction between age and gender ($P = 0.001$), with FCG12 differing from MCG18, and between age and treatment ($P = 0.001$), with MCG12 differing from MAG12 and MCG18. There was a significant difference ($P < 0.001$) between genders with regard to alcohol intake (kcal/day), with males at both ages consuming greater quantities than females (Table 2).

Calorie intake was significantly greater ($P < 0.001$) in the AG than CG at both ages and in both genders. Males had a greater calorie intake than females at both ages and in both treatments, with the exception of MCG12, which ingested fewer total calories than FCG12. The majority of interactions were significant: age and treatment ($P = 0.001$), with MAG12 and MAG18 differing from their respective controls; gender and treatment ($P = 0.035$), with MCG12 differing from FAG12; and age x gender x treatment ($P = 0.023$), with MCG12 differing from all groups except FCG12 and FCG18.

There were significant differences between ages for the remaining variables [food intake (%CG), alcohol intake (%kcal/day) and total calorie intake (%CG)], with higher mean

values among the 12-month-old animals ($P < 0.001$, $P < 0.005$ and $P < 0.044$, respectively) (Table 2).

Water intake was greater among the 12-month-old animals in both genders and treatments. Water intake was greater among males at both ages and in both treatments. Water intake was greater in the CG than AG. Alcohol intake was greater among males at both ages. The ratio of the preference for alcohol over water was greater among the 18-month-old animals in both genders (Table 3).

Regarding weight, all groups except FAG12 and FCG12 experienced weight loss, with the greatest loss recorded in MAG18 (11%), followed by FAG18 (6%). FCG12 experienced the greatest weight gain (8.5%), followed by FAG12 (8%). There was a significant difference between FAG12 and all other groups except FCG12 and FCG18. Significant differences were also detected between FCG12 and the groups MAG18 and MCG12, between MAG12 and the group FAG12 and between MAG18 and the group FCG12.

Liver weight was significantly greater among males ($p < 0.001$) than females at both ages and in both treatments (Figure 1). Alcohol intake in MAG12 resulted in a 17% increase in liver weight. In the analysis of RLW, males at both ages and in both treatments had significantly greater weights ($p < 0.011$) than females, except in comparison of FCG12. The MAG12 had significantly greater RLW ($p < 0.004$). An interaction between the three factors was detected: age x gender x treatment, with MAG12 exhibiting a significantly greater RLW ($p = 0.013$) in comparison to FAG12, FCG12, MCG12 and FCG18. FCG18 had a significantly lower RLW than all groups except FAG12 and MCG18.

Table 4 displays the serum lipid levels. TC were greater in the AG than the CG at both ages and in both genders. These values were greater in males at both ages and in both treatment. The ratio TC/HDL was highest recorded in males in both ages and treatment, the highest value recorded in GAM12 (4.91 ± 0.67). The highest HDL-C value was in MAG12

(42.39 ± 25.77), with statistically significant differences between this group and all other groups in relation to the interactions age x gender ($p = 0.046$), gender x treatment ($p = 0.011$) and age x gender x treatment ($p = 0.029$). The highest VLDL-C value occurred in FAG12, with a statistically significant difference between this group and FAG18 in relation to the interaction age x gender ($p < 0.001$) as well as between FAG12 and all other groups except MAG18 in relation to the interaction age x gender x treatment ($p < 0.001$). The highest serum level of TG was recorded in MCG12 and the lowest was recorded in MAG12, with a statistically significant difference between these groups in relation to the interaction age x gender ($p < 0.001$) as well as between FAG12 and all other groups except MAG18 in relation to the interaction age x gender x treatment ($p < 0.001$).

DISCUSSION

The results of the present study demonstrate that the intake of sugarcane alcohol did not alter food consumption among rats, regardless of age and gender. However, it had a differentiated effect on body weight. The findings of the chronic exposure to alcohol on ageing male and female rats did not demonstrate an anorexic effect, as described by Woods and Druse (1996) in 14-month-old rats treated with a 6% hydroalcoholic solution for six weeks. Larue-Achagiotis, Poussard and Louis-Sylvestre (1990) also report a reduction in food intake among rats ingesting a 10% alcohol solution.

However, recent papers in the literature suggest that alcohol suppresses the release of neurotransmitters and neuropeptides, such as leptin, a glucagon-like peptide (GLP-1) and serotonin (5HT), which are anorexigenic neurochemicals (appetite inhibitors) (Pimentel; Bressan, 2010). Concomitantly, there is strong evidence that alcohol may stimulate some orexigenic peptides (appetite stimulators), such as γ -aminobutyric acid, endogenous opioids, neuropeptide Y (Yeomans; Caton; Hetherington, 2003) and ghrelin (Djurovic et al., 2007;

Kim et al., 2005; Konturek et al., 2004; Nicolàs et al., 2001). Therefore, due to its high ethanol content, sugarcane alcohol may have influenced different neurochemical and peripheral systems related to appetite control, thereby preserving the food intake of the animals. A previous study carried out by our research group corroborates reports in the literature, demonstrating greater food intake among rats treated with different concentrations of a hydroalcoholic solution of sugarcane alcohol (Orange; Bion; Lima, 2009).

In the determination of fluid intake, males at both ages ingested a greater amount of alcohol. This behavior is similar to that found among humans, as men more often consume a greater amount of alcoholic beverages and with a greater frequency than women (Wilsnack et al., 2000). In contrast, Orange, Bion and Lima (2009) and Lancaster and Spiegel (1992) report greater alcohol intake among females. However, considering alcohol intake per kilogram of body weight per day (g/kg/day), no difference was found between genders at either age. Offering rats a 40% hydroalcoholic solution, Aguiar et al. (2006) report a similar value to that of the present study (24.01 g/kg/day).

Water intake was greater among the males at both ages. This finding may be explained by their greater consumption of alcohol in comparison to the females. Alcohol modulates the secretion of antidiuretic hormone, which is also known as vasopressin, via the peripheral nervous system or directly in the central nervous system. The suppression of this hormone by alcohol results in greater water loss than normal. In order to avoid dehydration, the organism activates the thirst center, leading to an increase in water intake (Naves et al., 2003). One may therefore suppose that the animals in the AG attempted to compensate for the renal excretion of water by greater water intake. The greater water intake among both genders in the CG in relation to the AG may perhaps be explained by the offer of water and alcohol separately in the AG, making the sugarcane alcohol more attractive than water due to its sweet flavor stemming from the concentration of sugars.

In the present study, the findings among the animals in the AG at both ages and in both genders reveals that the consumption of sugarcane alcohol leads to greater total calorie intake, as the alcohol in this beverage (40%) provides 7.1 kcal/g when metabolized. Following fat, alcohol is the most caloric nutrient (Yeomans; Caton; Hetherington, 2003). Thus, the habit of consuming alcoholic beverages leads to ingesting a large number of calories, which are added to those from other nutrients in the diet (Marzzoco; Torres, 2007), thereby favoring a positive energy balance, which may contribute toward an increase in body weight (Pimentel; Bressan, 2010; Hetherington et al., 2001). However, there is as yet no consensus in the literature on the contribution of calories furnished by alcohol toward weight gain in either animals or humans.

It should be stressed that, although the animals in the AG had a greater total calorie intake than those in the CG, this behavior did not result in weight gain, except in FAG12. According to Hellerstedt et al. (1990), weight loss is expected when the calories from alcohol account for 22% of the total calorie intake. The results from the animals at both ages and in both genders exposed to sugarcane alcohol (alcohol – %Kcal/day: 40% to 54%) are in agreement with those reported in the literature, revealing a negative effect on body weight (Table 2).

Mobarhan et al. (1991) studied 19-month-old rats fed the Lieber-de-Carli diet, in which 36% of the calories came from alcohol. The animals exhibited significant weight loss. The present study corroborates the results reported by these authors with regard to weight loss in the AG. It should be stressed that alcohol consumption may have interfered in the adequate utilization of the diet. According to Bode and Bode (1997), alcohol-related toxicity results in the poor digestion and/or malabsorption of nutrients. Moreover, while the ingestion of the alcoholic beverage provided an additional source of calories to the animals in the AG, these calories do not seem to be utilized for weight gain (Lieber, 1994). However, in

malnourished animals with 50% dietary restriction, the calories from a 20% alcohol solution have been found to be efficiently used for the maintenance of body weight (Aguilar et al., 2006). In another study, Aguilar et al. (2009) obtained similar results in female rats submitted to an alcohol solution of a lesser concentration (5%) and similar dietary restriction. These findings suggest that calories from alcohol may attenuate malnutrition in rats due to the energy provided by the metabolism of the alcohol and that the toxic profile of this drug depends on the nutritional status of the animals.

Assessing the toxic effect of sugarcane alcohol on liver tissue, the influence of alcohol over hepatomegaly is evident (Figure 1). Chronic alcohol intake is associated to an increase in hepatocyte volume due to the greater retention of intracellular water (Israel; Orrego, 1983), reduced protein secretion (Baraona et al., 1975) and high fat deposits (Navder; Baraona; Lieber, 1997). The animals in MAG12, MAG18 and FAG18 had an increase in PLW of 21.8%, 6.3% and 37.6%, respectively, in comparison to the controls. Cahill et al. (2005) report similar findings in a study involving rats at two, 12 and 24 months of age treated with a liquid diet containing alcohol for three weeks. Alcohol intake resulted in a 34% increase in liver weight and in the body/liver weight ratio in the two-month old animals. However, these effects were not observed in the older animals. The divergence between studies in relation to the elderly animals may be associated to the period of exposure to the drug, which was more intense in the present study, the concentration of alcohol used or the amount of alcoholic solution ingested by the animals. Epidemiological data support the argument of the hepatotoxic effect of alcohol (Mann et al., 1991; Smart, Mann, 1993).

Besides the gastrointestinal tract and especially the liver, the health and functioning of the cardiovascular system can also be compromised by the use of alcohol. The high and frequent consumption of this drug is associated to an increase in blood pressure, deregulation of lipids and triglycerides and a greater risk for myocardial infarction and cerebrovascular disease.

Alcohol also raises the heart rate of occasional consumers, increasing the wear and tear of the heart at rest as well as the energy consumption by the myocardium (Kaplan; Sadock, 2007). Thus, the biochemical investigation of the effects of sugarcane alcohol on lipemia is pertinent and important.

The results of the present study demonstrate that the effect of sugarcane alcohol on lipemia varies with gender and age in rats. With regard to TC, sugarcane alcohol had a harmful effect, as both genders of the animals in the AG at both ages had higher serum levels than those in the CG. Raj et al. (2009) report similar results in rats that received alcohol at a proportion of 0.5 grams per kilogram of body weight (g/kg). Maneesh and Jayalekshmi (2005) also report hypercholesterolemia in Wistar rats treated with alcohol (1.6 g/kg/day) for four weeks. A recent study underscores the finding on the hypercholesterolemic effect induced by alcohol. Wang, Yao and Song (2010) fed Sprague-Dawley rats a liquid diet containing alcohol for four weeks and found an alteration in the homeostasis of cholesterol, characterized by an increase in hepatic and serum cholesterol levels.

While the idea that the regular intake of alcoholic beverages offers protection from cardiovascular diseases has been widespread, this protective effect likely depends on the type of beverage, consumption pattern (quantity and frequency) and environmental factors. The type of beverage and consumption pattern among the animals in the present study likely did not contribute favorably to cholesterolemia. The modification of lipoproteins is the most commonly described mechanism as a mediator of cardiovascular protection associated to alcohol intake, with the metabolism of circulating lipoproteins affected by alcohol in diverse phases. Regular consumption may be associated to an increase in lipoprotein synthesis (Nishiwaki, et al. 1994) as well as a reduction in HDL-C degradation and greater hepatic metabolism of LDL-C (Savolainen, Kesäniemi, 1995).

The animals in the AG had higher HDL-C values in relation to the controls, except FAG12. Raj et al. (2009) also report an increase HDL-C among rats treated with alcohol. Population-based evidence demonstrates higher levels of HDL-C among individuals who consume alcoholic beverages (Mänttari et al., 1997; Savolainen, Kesäniemi, 1995). However, it should be stressed that this beneficial effect depends on other factors, such as socio-demographic and cultural characteristics as well as eating habits, which may be partially responsible for the affects attributed to alcohol (Evans et al., 1995). The greater or lesser prevalence of other risk factors, such as smoking habits, obesity and a sedentary lifestyle, should also be taken into account (Wannamethee, Shaper, 1999).

In the present study, sugarcane alcohol also caused an increase in VLDL-C, which is an important triglyceride-carrying lipoprotein, among the rats in MAG18, still having this group displayed high levels of TG. In white rats exposed to alcohol, Raj et al. (2009) also found higher triglyceride values in comparison to control rats. In a study involving Wistar rats, the administration of alcohol (1.6 g/kg/day) for four weeks led to hypertriglyceridemia (Maneesh; Jayalekshmi, 2005). These results are supported by the literature, as alcohol is known to increase the hepatic synthesis of triglycerides (Baraona; Lieber, 1970; Lieber; Davidson, 1962). Moreover, alcohol-induced hyperlipemia may be attributed to an increase in the hepatic production of lipoproteins and/or a reduction in the removal of lipoproteins from the blood (Baraona; Lieber, 1970).

The lower VLDL-C values found among the animals in MAG12, FAG12 and FAG18 may be explained by the toxicity alcohol exerts on the liver, as acetaldehyde, which is a subproduct of the metabolism of this drug, can damage the microtubule system in this tissue, resulting in inadequate fat secretion in the form of VLDL-C from the liver to the blood and leading to low serum levels of this lipoprotein (Seitz and Stickel, 2006). It is likely that the greater intake of sugarcane alcohol among the animals in MAG12 and FAG18, as mentioned

above, was responsible for this greater liver damage, with consequences to the metabolism of this lipoprotein.

Despite the beneficial effect with relation to HDL-C, which is an important predictor of cardiovascular risk and plays a crucial role in the reverse transport of cholesterol, alcohol also exerts adverse effects on other lipids (VLDL-C and TG). Therefore, one should not encourage the consumption of alcoholic beverages due to the potential individual and social risks secondary to the harmful effects of excessive alcohol intake. The present study demonstrates that, due to its high ethanol content, sugarcane alcohol is a complex beverage and the harm it causes to nutritional status and lipemia varies in rats in function of age and gender.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Laboratory of the Clinical Analysis Unit of the Department of Pharmaceutical Sciences of the Universidade Federal de Pernambuco (UFPE, Brazil); librarian Maria Cristina Malta for the linguistic and documental review of the study; Dr. Ediones França veterinarian of the Central Animal Lodging Facilities of the Department of Nutrition (UFPE) and technician José Paulino Ventura for collaboration in the handling of the animals.

REFERENCES

- Aguiar, A.S., Da Silva, V.A., Boaventura, G.T. (2004). Can calories from ethanol contribute to body weight preservation by malnourished rats? *Braz J Med Biol Res* 37, 841-846.
- Aguiar, A.S., Da Silva, V.A., Boaventura, G.T. (2007). As calorias do etanol são aproveitadas pelo organismo? *Rev Nutr Pauta*, 45-49.
- Aguiar, A.S., Boaventura, G.T., Malheiros, L.R., Da-Silva, V.A. (2006). Behavioral toxicity of increasing doses of ethanol in malnourished rats. *Nutr Neurosc* 9, 113-119.
- Aguiar, A.S., Boaventura, G.T., Abrahão, R.F., Freitas, T.L., Takiya, C.M., Filho, P.J.S., Da Silva, V.A. (2009). Ethanol in low chronic dose level attenuates major organic effects in malnourished rats. *Biol Res* 42, 31-40.
- Baraona, E. and Lieber, C.S. (1970). Effects of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J Clin Invest* 49, 769-778.
- Baraona, E., Leo, M.A., Borowsky, S.A., Lieber, C.S. (1975). Alcoholic hepatomegaly: accumulation of protein in the liver. *Science* 190, 794-795.
- Bode, C. and Bode, C. (1997). Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders. *Alcohol Health Res World* 21, 76-83.
- Brower, K.J., Mudd, S., Blow, F.C., Young, J.P., and Hill, E.M. (1994). Severity and treatment of alcohol withdrawal in elderly versus younger patients. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 18, 196-201.
- Bucholz, K.K., Sheline, Y., Helzer, J.E. (1995). The epidemiology of alcohol use, problems and dependence in elders: a revision. In *Alcohol and aging*, T. P. Berford and E. Gomberg, eds. (New York: Oxford University Press), 19-41.
- Burgos, M.G.P.D.A; Medeiros, M.D.C; Bion, F.M; Pessoa, D.C.N.D.P. (2002). Efeitos de bebidas alcoólicas em mães lactantes e suas repercussões na prole. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 2(2), 129-135.
- Cahill, A., Hershman, S., Davies, A., Sykora, P. (2005). Ethanol feeding enhances age-related deterioration of the rat hepatic mitochondrion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289, G1115-G1123.
- Castillo, B.A.A, Marziale, M.H.P., Castillo, M.M.A., Facundo, F.R.G., Meza, M.V.G (2008). Stressful situations in life, use and abuse of alcohol and drugs by elderly in Monterrey, Mexico. *Rev Latino-Am Enferm* 16, 509-516.

Colsher, R.L. and Wallace R. B. (1990). Elderly men with histories of heavy drinking: correlates and consequences. *J Stud Alcohol* 51, 528-535.

Djurovic, S., Berge, K.E., Birkenes, B., Braaten, O., Retterstól, L. (2007). The effect of red wine on plasma leptin levels and vasoactive factors from adipose tissue: a randomized crossover trial. *Alcohol Alcohol* 42(6), 525-528.

Egbert, A.M. (1993). The older alcoholic: recognizing the subtle clinical clues. *Geriatrics* 48, 63-69.

Evans, A.E, Ruidavets, J., McCrum, E.E, Cambou, J.P., McClean, R., Douste-Blazy, P., McMaster, D., Bingham, A., Patterson, C.C., Richard, J.L., et al. (1995). Autres pays, autres coeurs? Dietary patterns, risk factors and ischaemic heart disease in Belfast and Toulouse. *Q J Med* 88, 469-477.

Frone, M., Cooper, M.L., Russel, M. (1994). Situaciones estresantes de la vida y uso de sustancias. *Phy Addict Behav* 8 (2), 59-69.

Galduróz, J.C.F. e Caetano, R. (2004). Epidemiologia do uso de álcool no Brasil. *Rev Bras Psiq* 26, 3-6.

Glass, T.A., Prigerson, H., Kasl, S.V., Leon, C.F.M. (1995). The effects of negative life events on alcohol consumption among older men and women. *J Gerontol* 50(4), 205-216.

Gupta, K. (1993). Alcoholism in the elderly: uncovering a hidden problem. *Alcoholism* 93, 203-206.

Hellerstedt, W.L., Jefferey, R.W., Murray, D.M. (1990). The association between alcohol intake and adiposity in the general population: reviews e commentary. *Amer J Epidemiol* 132(4), 594-611.

Hetherington, M.M., Cameron, F., Wallis, D.J., Pirie, L.M. (2001). Stimulation of appetite by alcohol. *Physiol Behav* 74 (3), 283-289.

Hulse, G.K. (2002). Alcohol, drugs and much more in later life. *Rev Bras Psiquiatr* 24 (S1), S34-S41.

Instituto Adolf Lutz (2005). Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ªed. (São Paulo, v.1).

Israel, Y. e Orrego, H. (1983). On the characteristics of alcohol-induced liver enlargement and its possible hemodynamic consequences. *Pharmacol Biochem Behav* 18 (S1), 433-437.

Kaplan H.I. e Sadock, B.J. (2007). *Compêndio de Psiquiatria*. 9ª edição. (Porto Alegre: Artmed).

Kim, D.J., Yoon, S.J., Choi, B., Kim, T.S., Woo, Y.S., Kim, W., Myrick, H., Peterson, B.S., Choi, Y.B., Kim, Y., et al. (2005). Increased fasting plasma ghrelin levels during alcohol abstinence. *Alcohol Alcohol* 40(1), 76-79.

Konturek, S.J., Konturek, J.W., Pawlik, T., Brzozowski, T. (2004). Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J. Physiol Pharmacol* 55 (1 Pt 2), 137-154.

Lancaster, F.E. and Spiegel, K.S. (1992). Sex difference in pattern of drinking. *Alcohol* 9, 415-420.

Lands, W.E.M. (1993). Summary of the workshop "Alcohol and Calories: a matter of balance". *The Journal of Nutrition* 123, 1338-1341.

Larue-Achagiotis, C., Poussard, A.M., Louis-Sylvestre, J. (1990). Alcohol drinking, food and fluid intakes and body weight gain in rats. *Phys Behav* 47, 545-548.

Lieber, C.S. (1988). The influence of alcohol on nutritional status. *Nutrition Reviews*, 46 (7), 241-254.

Lieber, C.S. (1994). Alcohol and liver. *Gastroenterol* 106, 1085-1105.

Lieber, C.S. and Davidson, C.S. (1962). Some metabolic effects of ethyl alcohol. *Amer J Med* 33, 319.

López, R. (2004). Cachaça amplia potencial de consumo no mercado externo. Engarrafador Mod 18-24. Disponível em: <http://www.engarrafadormoderno.com.br/arquivo/110dr.pdf> Acesso em: 10 set. 2009.

Maneesh, M. and Jayalekshmi, H. (2005). Effect of ascorbic acid, alpha-tocopherol, lecithin and L-ornithine-L-aspartate on ethanol induced hypoproteinemia and hyperlipidemia in rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 49(4), 422-426.

Mann, R.E., Smart, R.G., Anglin, L., Adlaf, E.M. (1991). Reductions in cirrhosis deaths in the United States: association with per capita consumption and AA membership. *J Stud Alcohol* 52(4), 361-365.

- Mänttari, M., Tenkanen, L., Alikoski, T., Manninen, V. (1997). Alcohol and coronary heart disease: the roles of HDL-cholesterol and smoking. *J Intern Med* 241, 157-163.
- Marzzoco, A. e Torres, B.B. (2007). *Bioquímica básica*. 3ª ed. (Rio de Janeiro: Guanabara Koogan).
- Mobarhan. S.K.M., Mehta, R., Hupert, J., Friedman, H., Layden, T.J., Meydani, M., Langenberg, P. (1991). Age-related effects of chronic ethanol intake on vitamin A status in Fisher 344 rats. *J Nutr* 121, 510-517.
- Navder, K.P., Baraona, E., Lieber, C.S. (1997). Polyenylphosphatidylcholine attenuates alcohol-induced fatty liver and hyperlipemia in rats. *J Nutr* 127, 1800-1806.
- Naves, L.A., Vilar, L., Costa, A.C.F., Domingues, L., Casulari, L. A. (2003). Distúrbios na secreção e ação do hormônio antidiurético. *Arq Bras Endocrinol Metab* 47(4), 467-481.
- Nicolás, J.M., Fernández-Solà, J., Fatjó, F., Casamitjana, R., Bataller, R., Sacanella, E., Tobias, E., Badía, R. (2001). Increased circulating leptin levels in chronic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 25(1), 83-88.
- Nishiwaki, M., Ishikawa, T., Ito, T., Shige, H., Tomiyasu, K., Nakajima, K., Kondo, K., Hashimoto, H., Saitoh, K., Manabe, M. (1994). Effects of alcohol on lipoprotein lipase, hepatic lipase, cholesteryl ester transfer protein, and lecithin: cholesterol acyltransferase in high-density lipoprotein elevation. *Atherosclerosis* 111, 99-109.
- Orange, L.G., Bion, F.M., Lima, C.R. (2009). Effects of different concentrations of sugarcane alcohol on food intake and nutritional status of male and female periadolescent rats. *Alcohol* 43, 137-146.
- Pimentel, G.D. e Bressan, J. (2010). O consumo de álcool altera os hormônios reguladores do apetite, aumentando a fome e o peso corporal. *Rev Bras Nutr Clin* 25 (1), 83-90.
- Raj, A., Praveen, K.V., Sheeba, V., Mukkadan, J.K., Joseph, P.K. (2009). Biochemical effects of feeding soft drink and ethanol. *Indian J Exper Biol* 47, 333-337.
- Rigo, J.C., Rigo, J.F.O., Faria, B.C., Stein, A., Santos, V.M. (2005). Trauma associado com uso de álcool em idosos. *Brasília Méd* 42 (1/2), 35-40.
- Savolainen, M.J. and Kesäniemi, Y.A. (1995). Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 6, 243-250.

Seitz, H.K. and Stickel, F. (2006). Risk factors and mechanism of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress. *Biol Chem* 387, 349–360.

Smart, R.G. and Mann, R.E. (1993). Recent liver cirrhosis declines: estimates of the impact of alcohol abuse treatment and alcoholics anonymous. *Addiction* 88(2), 193-198.

Smith, J.W. (1995). Medical manifestations of alcoholism in the elderly. *Intern J Addict* 30, 1749-1798.

Wang, Z., Yao, T., Song, Z. (2010). Chronic alcohol consumption disrupted cholesterol homeostasis in rats: down-regulation of low-density lipoprotein receptor and enhancement of cholesterol biosynthesis pathway in the liver. *Alcohol Clin Exp Res* 34(3), 471-478.

Wannamethee, S.G. and Shaper, A.G. (1999). Type of alcoholic drink and risk of major heart disease events and all-cause-mortality. *Am J Public Health* 89, 685-690.

Wilsnack, R.W., Vogeltanz, N.D., Wilsnack, S.C., Harris, T.R., Ahlström, S., Bondy, S., Csémy, L., Ferrence, R., Ferris, J., Fleming, J., et al. (2000). Gender differences in alcohol consumption and adverse drinking consequences: crosscultural patterns. *Addiction* 95(2), 251-265.

Woods, J.M. and Druse, M.J. (1996). Effects of chronic ethanol consumption and aging on dopamine, serotonin, and metabolites. *J Neurochem* 66 (5), 2168-2178.

Yeomans, M.R., Caton, S., Hetherington, M.M. (2003). Alcohol and food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 6 (6), 639-644.

Table 1 – Composition of experimental diet

Components (g)	Quantity	Proteins (g)	Carbohydrates (g)	Lipids (g)
Beans ^a	10.00	2.28 ^c	6.19 ^c	0.14 ^c
Rice ^a	8.00	0.61 ^c	7.06 ^c	0.01 ^c
Chicken ^a	10.00	7.88 ^c	1.25 ^c	0.43 ^c
Soybean oil ^b	4.00	-	-	4.00
Cassava flour ^b	68.00 ^c	0.95 ^c	56.00 ^c	0.06 ^c
Total (g)	100.00	11.72	71.10	4.58
Kcal/100 g	372.50	46.88	28.40	41.22

Blend based on typical diet of population of northeastern Brazil, composed of beans (*Phaseolus vulgaris* L), rice (*Oryza sativa* L.), cassava flour (*Manihot esculenta* crantz), range chicken (*Gallus galinaceo*) and soybean oil; ^a The beans, rice and chicken were cooked separately in water for two hours, dried in a hothouse (60°C) for 12 h and ground (Floor Grind – Chuo Boeki Kaisha) for the obtainment of the respective flours; ^bObtained in local marketplace; ^cDeterminations performed by the Experimental Nutrition Laboratory, UFPE, following the methodology of the Adolfo Lutz Institute (2005)

Table 2 – Daily calorie intake (food and alcohol) of male and female rats ingesting sugarcane alcohol and/or water in function of age

Variable	Age (months)	Gender	Treatment		p-value
			Alcohol + H ₂ O (AG) Mean ± SD	H ₂ O (CG) Mean ± SD	
FI (Kcal/day)	12	M	70.62 ± 7.02 ^(ac)	59.07 ± 5.90 ^(b)	p ⁽¹⁾ = 0,013*
		F	70.54 ± 4.70 ^(ac)	61.83 ± 5.81 ^(ab)	p ⁽²⁾ = 0,013*
	18	M	68.81 ± 6.89 ^(ab)	80.57 ± 6.57 ^(c)	p ⁽³⁾ = 0,481
		F	62.98 ± 9.42 ^(ab)	66.72 ± 11.63 ^(ab)	p ⁽⁴⁾ = 0,001*
					p ⁽⁵⁾ < 0,001*
					p ⁽⁶⁾ = 0,444
FI (% CG)	12	M	119.56 ± 11.88	100	p ⁽⁷⁾ = 0,110
		F	114.08 ± 7.61	100	p ⁽¹⁾ < 0.001*
	18	M	85.41 ± 8.55	100	p ⁽²⁾ = 0.766
		F	94.39 ± 14.11	100	p ⁽⁴⁾ = 0.155
Alcohol intake (Kcal/dia)	12	M	60.37 ± 13.41	0	
		F	37.33 ± 8.08	0	p ⁽¹⁾ = 0.579
	18	M	49.95 ± 19.03	0	p ⁽²⁾ = 0.001*
		F	42.95 ± 11.32	0	p ⁽⁴⁾ = 0.069
Alcohol intake (% Kcal/day)	12	M	45.70 ± 5.59	0	
		F	53.55 ± 14.75	0	p ⁽¹⁾ = 0.005*
	18	M	40.97 ± 9.64	0	p ⁽²⁾ = 0.260
		F	40.11 ± 5.66	0	p ⁽³⁾ = 0.163
TCI (Kcal/dia)	12	M	131.00 ± 17.03 ^(A)	59.07 ± 5.90 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0.296
		F	107.86 ± 6.50 ^(A)	61.83 ± 5.81 ^(B)	p ⁽²⁾ < 0.001*
	18	M	118.77 ± 19.25 ^(A)	80.57 ± 6.57 ^(C)	p ⁽³⁾ < 0.001*
		F	105.93 ± 18.61 ^(A)	66.72 ± 11.63 ^(BC)	p ⁽⁴⁾ = 0.588
					p ⁽⁵⁾ = 0.001*
					p ⁽⁶⁾ = 0.035*
TCI (% CG)	12	M	221.77 ± 28.82	100	p ⁽⁷⁾ = 0.023*
		F	174.45 ± 10.52	100	
	18	M	147.41 ± 23.90	100	p ⁽¹⁾ = 0.044*
		F	158.76 ± 27.89	100	p ⁽²⁾ = 0.113
					p ⁽⁴⁾ = 0.472

CG: control group; AG: alcohol group; FI: food intake; TCI: total calorie intake; M; male; F: female

(*): Significant difference at 5.0%

p⁽¹⁾: for comparison between ages

p⁽²⁾: for comparison between genders

p⁽³⁾: for comparison between treatments

p⁽⁴⁾: for age and gender interaction

p⁽⁵⁾: for age and treatment interaction

p⁽⁶⁾: for gender and treatment interaction

p⁽⁷⁾: for age, gender and treatment interaction

Note: Different lowercase letters in parentheses denote significant difference between corresponding groups through Tukey's paired comparisons

Note: Different uppercase letters in parentheses denote significant difference between corresponding groups through Tamhane's T2 paired comparisons

Table 3 – Liquid intake (sugarcane alcohol and/or water) and preference for sugarcane alcohol among male and female rats in function of age

Variable	Age (months)	Gender	Treatment		p-value
			Alcohol + H ₂ O (AG)	H ₂ O (CG)	
			Mean ± SD	Mean ± SD	
Water intake (ml/day)	12	M	37.83 ± 7.22	42.02 ± 7.66	p ⁽¹⁾ < 0.001*
		F	25.37 ± 6.83	27.14 ± 4.42	p ⁽²⁾ < 0.001*
	18				p ⁽³⁾ = 0.032*
		M	30.24 ± 6.68	31.93 ± 3.25	p ⁽⁴⁾ = 0.214
		F	19.32 ± 3.54	22.69 ± 3.89	p ⁽⁵⁾ = 0.846
					p ⁽⁶⁾ = 0.774
Sugarcane alcohol intake (ml/day)	12	M	26.57 ± 5.90	-	p ⁽¹⁾ = 0.579
		F	16.43 ± 3.55	-	p ⁽²⁾ = 0.001*
	18				p ⁽⁴⁾ = 0.069
		M	21.98 ± 8.37	-	
		F	18.9 ± 4.98	-	
Alcohol (g/kg/day)	12	M	20.19 ± 7.73	-	p ⁽¹⁾ = 0.962
		F	20.05 ± 2.16	-	p ⁽²⁾ = 0.474
	18				p ⁽⁴⁾ = 0.431
		M	18.76 ± 9.28	-	
		F	21.67 ± 5.71	-	
% Preference for alcohol	12	M	0.40 ± 0.07	-	p ⁽¹⁾ = 0.029*
		F	0.40 ± 0.04	-	p ⁽²⁾ = 0.118
	18				p ⁽⁴⁾ = 0.089
		M	0.42 ± 0.09	-	
		F	0.48 ± 0.05	-	

CG: control group; AG: alcohol group

(*): Significant difference at 5.0%

p⁽¹⁾: for comparison between agesp⁽²⁾: for comparison between gendersp⁽³⁾: for comparison between treatmentsp⁽⁴⁾: for age and gender interactionp⁽⁵⁾: for age and treatment interactionp⁽⁶⁾: for gender and treatment interactionp⁽⁷⁾: for age, gender and treatment interaction

Note: Different lowercase letters in parentheses denote significant difference between corresponding groups through Tukey's paired comparisons

Table 4 – Lipemia in male and female rats ingesting sugarcane alcohol and/or water in function of age

Variable	Age (months)	Gender	Treatment		p-value
			Alcohol + H ₂ O (AG) Mean ± SD	H ₂ O (CG) Mean ± SD	
TC ^a	12	M	221.78 ± 148.16 ^(a)	82.00 ± 14.76 ^(b)	p ⁽¹⁾ = 0.008*
		F	97.70 ± 63.10 ^(b)	84.00 ± 6.58 ^(b)	p ⁽²⁾ < 0.001*
	18	M	94.90 ± 14.44 ^(b)	71.90 ± 10.85 ^(b)	p ⁽³⁾ = 0.001*
		F	81.20 ± 11.14 ^(b)	69.25 ± 12.38 ^(b)	p ⁽⁴⁾ = 0.002*
					p ⁽⁵⁾ = 0.028*
					p ⁽⁶⁾ = 0.039*
					p ⁽⁷⁾ = 0.098
HDL ^b	12	M	42.39 ± 25.77 ^(A)	20.10 ± 3.67 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0.006*
		F	20.60 ± 12.88 ^(B)	21.30 ± 4.76 ^(B)	p ⁽²⁾ = 0.014*
	18	M	22.45 ± 2.95 ^(B)	17.35 ± 2.38 ^(B)	p ⁽³⁾ = 0.003*
		F	20.40 ± 3.47 ^(B)	17.08 ± 2.82 ^(B)	p ⁽⁴⁾ = 0.046*
					p ⁽⁵⁾ = 0.203
					p ⁽⁶⁾ = 0.011*
					p ⁽⁷⁾ = 0.029*
TC/HDL ^c	12	M	4.91 ± 0.67 ^(a)	4.15 ± 0.46 ^(ab)	p ⁽¹⁾ = 0.011*
		F	4.75 ± 0.77 ^(ab)	4.03 ± 0.76 ^(b)	p ⁽²⁾ = 0.002*
	18	M	4.25 ± 0.85 ^(ab)	4.09 ± 0.28 ^(ab)	p ⁽³⁾ = 0.440
		F	4.01 ± 0.56 ^(b)	4.01 ± 0.17 ^(b)	p ⁽⁴⁾ = 0.043*
					p ⁽⁵⁾ = 0.827
					p ⁽⁶⁾ = 0.719
					p ⁽⁷⁾ = 0.830
LDL ^d	12	M	81.64 ± 82.93	43.40 ± 12.92	p ⁽¹⁾ = 0.160
		F	64.34 ± 45.65	49.74 ± 5.97	p ⁽²⁾ = 0.057
	18	M	60.55 ± 12.93	40.55 ± 9.26	p ⁽³⁾ = 0.166
		F	53.21 ± 9.18	40.84 ± 9.51	p ⁽⁴⁾ = 0.144
					p ⁽⁵⁾ = 0.492
					p ⁽⁶⁾ = 0.316
					p ⁽⁷⁾ = 0.607
VLDL ^e	12	M	9.60 ± 3.46 ^(A)	18.50 ± 2.64 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0.696
		F	10.74 ± 2.51 ^(A)	12.96 ± 1.45 ^(A)	p ⁽²⁾ = 0.054
	18	M	15.06 ± 5.97 ^(AB)	12.96 ± 3.14 ^(A)	p ⁽³⁾ = 0.078
		F	10.68 ± 2.15 ^(A)	11.95 ± 1.77 ^(A)	p ⁽⁴⁾ < 0.001*
					p ⁽⁵⁾ = 0.227
					p ⁽⁶⁾ = 0.262
					p ⁽⁷⁾ = 0.001*
TG ^f	12	M	50.49 ± 5.81 ^(A)	92.50 ± 13.18 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0.661
		F	52.60 ± 13.44 ^(AC)	64.80 ± 7.25 ^(AC)	p ⁽²⁾ = 0.053
	18	M	77.60 ± 28.96 ^(ABC)	63.70 ± 12.70 ^(AC)	p ⁽³⁾ = 0.015*
		F	53.50 ± 10.89 ^(AC)	59.75 ± 8.83 ^(AC)	p ⁽⁴⁾ < 0.001*
					p ⁽⁵⁾ = 0.181
					p ⁽⁶⁾ = 0.469
					p ⁽⁷⁾ < 0.001*

CG: control group; AG: alcohol group; ^aTotal cholesterol. ^bHigh-density lipoprotein; ^cTotal cholesterol/high-density lipoprotein ratio; ^dLow-density lipoprotein; ^eVery low-density lipoprotein; ^fTriglycerides; M: male; F: female.

(*): Significant difference at 5.0%

p⁽¹⁾: for comparison between ages

p⁽²⁾: for comparison between genders

p⁽³⁾: for comparison between treatments

p⁽⁴⁾: for age and gender interaction

p⁽⁵⁾: for age and treatment interaction

p⁽⁶⁾: for gender and treatment interaction

p⁽⁷⁾: for age, gender and treatment interaction

Note: Different lowercase letters in parentheses denote significant difference between corresponding groups through Tukey's paired comparisons

Note: Different uppercase letters in parentheses denote significant difference between corresponding groups through Tamhane's T2 paired comparisons

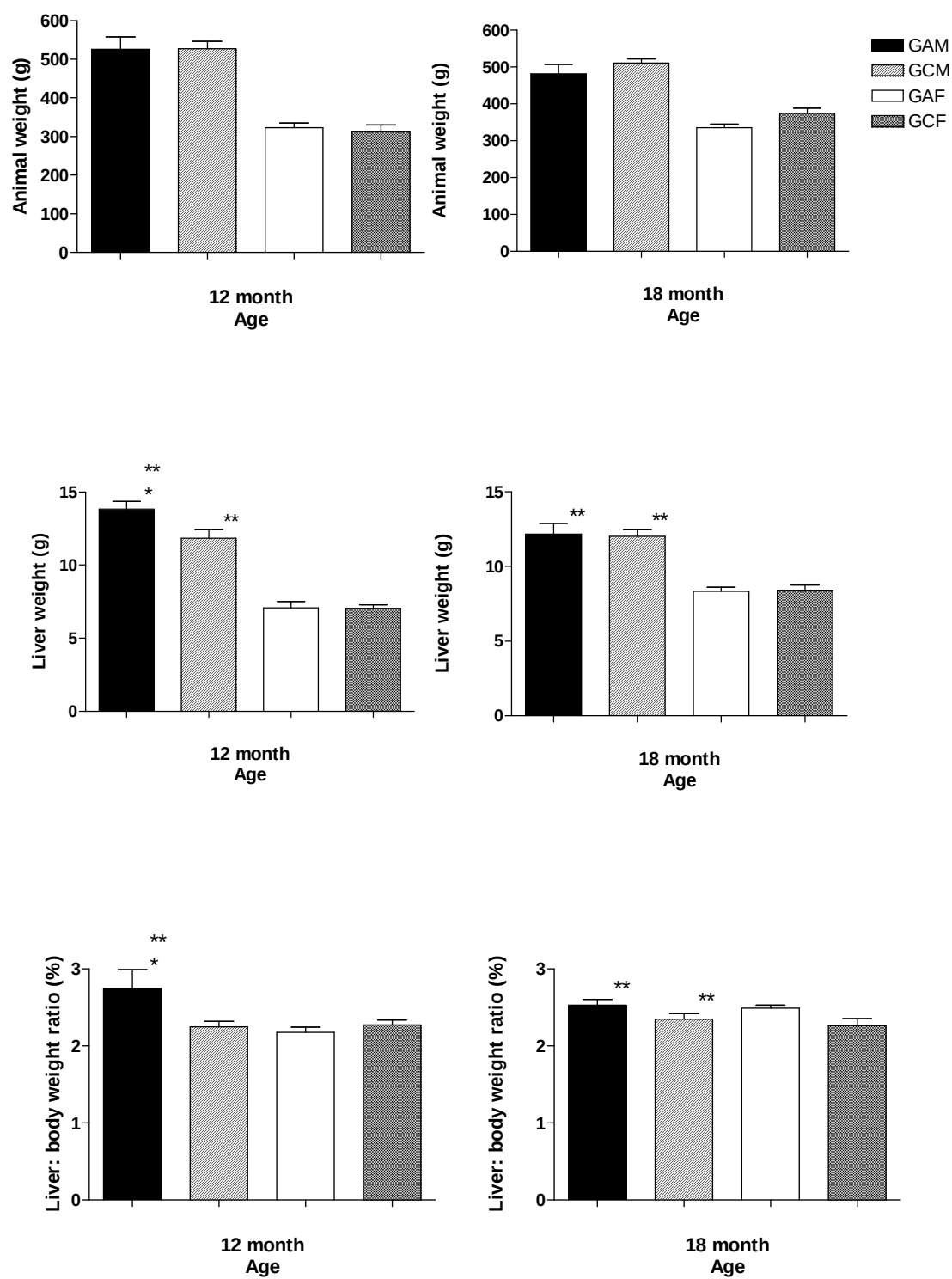


FIGURE 1

FIGURE 1 LEGEND

Figure 1 – Body and liver weight alterations in male and female rats ingesting sugarcane alcohol and/or water in function of age; A: weight of animal; B: weight of liver; C: relation between body weight and liver weight; MAG: male alcohol group; MCG: male control group; FAG: female alcohol group; FCG: female control group; results expressed as mean $\pm$ SD of 10 animals per group; statistically significant difference ($p < 0.05$) (*) between treatments and (**) between genders; F test (ANOVA), followed by Tukey's test.

_____CONSIDERAÇÕES FINAIS

5. Considerações finais

Os dados coletados no trabalho, através de análises e inferências, permitem algumas considerações finais sobre o tema estudado:

- A tendência a uma sociedade mais idosa é nos dias atuais, uma realidade universal. Assim, se acentua a problemática do alcoolismo, vez que este grupo etário é mais susceptível aos efeitos do álcool. Em outras palavras: ao envelhecer, o indivíduo pode tornar-se mais sensível à intoxicação alcoólica, o que torna o consumo de bebidas alcoólicas concomitante ao avanço da idade um fator de risco à saúde e à qualidade de vida desses indivíduos;
- Por ser uma droga complexa, o álcool exerce inúmeros efeitos sobre diversos órgãos e sistemas, em especial nos idosos, por encontrar uma maior vulnerabilidade a agentes agressores;
- Entre os vários órgãos e sistemas cuja saúde e funcionamento podem ser prejudicados pelo uso do álcool destaca-se o trato gastrointestinal, em particular o fígado, o órgão que é atingido em maior concentração pelo álcool, por ser responsável pela desintoxicação desta droga no organismo. Nós observamos a hepatotoxicidade exercida pela aguardente caracterizada por alterações na massa hepática e histológica;
- Em síntese, a aguardente de cana- de -açúcar, pelo seu alto teor de etanol, é uma bebida complexa, e os danos decorrentes de sua ingestão no *status* nutricional e bioquímico de ratos podem variar, na dependência da idade e do gênero. Embora não tenha interferido sobre o consumo alimentar de ambos os gêneros e idades, a aguardente exerceu um efeito tóxico sobre o fígado dos animais com 12 meses, caracterizado pela presença de esteatose e de áreas de necrose, com repercussões sobre o perfil bioquímico dos ratos, que pode proporcionar o desencadeamento de diversas patologias.
- No que se refere à lipemia dos animais, mesmo a aguardente tendo exercido efeito benéfico sobre a fração HDL-C, um importante preditor do risco cardiovascular, que desempenha papel crucial no transporte reverso do colesterol, também exerceu efeitos adversos sobre outros lipídes (VLDL-C e TG). Dessa forma, o consumo de aguardente não deve ser encorajado, devido aos potenciais riscos individuais e sociais secundários aos efeitos deletérios do consumo expansivo do álcool, presente em grande quantidade na aguardente de cana-de-açúcar (40%).

- A avaliação dos parâmetros nutricionais e bioquímicos de ratos em envelhecimento tratados com aguardente representa um ponto importante para o entendimento das alterações nutricionais ocasionadas pelo uso do álcool. No entanto, o impacto nutricional resultante do uso dessa substância, em diferentes ciclos de vida, precisa ser considerado em futuras pesquisas, bem como o tempo de exposição à droga e o percentual da bebida utilizada.

PERSPECTIVAS

6. Perspectivas

Os dados sugerem que um modelo experimental como o utilizado neste trabalho fornece informações valiosas para o planejamento e implementação de programas de intervenção ao etilismo, nos diferentes segmentos populacionais, no Brasil, particularmente na Região Nordeste.

Assim, sugerimos como perspectivas para estudos futuros, utilizando animais em diferentes ciclos de vida:

- Investigar os efeitos nutricionais e bioquímicos de diferentes tipos de bebidas alcoólicas;
- Avaliar a influência de diversas concentrações de álcool ingeridas durante diferentes períodos de tempo;
- Analisar o impacto do álcool, quando associado à dieta com diferentes valores calóricos e distribuição de nutrientes;
- Verificar os efeitos da ingestão de álcool sobre órgãos e tecidos;
- Determinar a atividade sérica das enzimas hepáticas como importantes biomarcadoras da agressão ao fígado;
- Examinar os efeitos da ingestão de álcool sobre o desempenho físico.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- Abbas, A. K. e C. A. Janeway, Jr. Immunology: improving on nature in the twenty-first century. Cell, v.100, n.1, Jan 7, p.129-38. 2000.
- Ader, R., N. Cohen, *et al.* Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. Lancet, v.345, n.8942, Jan 14, p.99-103. 1995.
- Ader, R., D. Felten, *et al.* Interactions between the brain and the immune system. Annu Rev Pharmacol Toxicol, v.30, p.561-602. 1990.
- Al'perina, E. L., G. V. Idova, *et al.* [Role of the pituitary in modulating the effect of the dopaminergic and serotonergic systems on the immune response]. Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova, v.71, n.11, Nov, p.1428-32. 1985.
- Allende, L. M., A. Corell, *et al.* Immunodeficiency associated with anorexia nervosa is secondary and improves after refeeding. Immunology, v.94, n.4, Aug, p.543-51. 1998.
- Anstead, G. M., B. Chandrasekar, *et al.* Malnutrition alters the innate immune response and increases early visceralization following *Leishmania donovani* infection. Infect Immun, v.69, n.8, Aug, p.4709-18. 2001.
- Aune, T. M., K. M. Mcgrath, *et al.* Expression of 5HT1a receptors on activated human T cells. Regulation of cyclic AMP levels and T cell proliferation by 5-hydroxytryptamine. J Immunol, v.151, n.3, Aug 1, p.1175-83. 1993.
- Barker, D. J. In utero programming of chronic disease. Clin Sci (Lond), v.95, n.2, Aug, p.115-28. 1998.
- Barker, D. J., J. G. Eriksson, *et al.* Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. Int J Epidemiol, v.31, n.6, Dec, p.1235-9. 2002.
- Besedovsky, H. O. e A. Del Rey. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. Endocr Rev, v.17, n.1, Feb, p.64-102. 1996.
- Bianchi, M., A. Clavenna, *et al.* GM-CSF affects hypothalamic neurotransmitter levels in mice: involvement of interleukin-1. Neuroreport, v.8, n.16, Nov 10, p.3587-90. 1997.
- Blalock, J. E. e E. M. Smith. Conceptual development of the immune system as a sixth sense. Brain Behav Immun, v.21, n.1, Jan, p.23-33. 2007.
- Blouin, A., R. P. Bolender, *et al.* Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in the rat liver parenchyma. A stereological study. J Cell Biol, v.72, n.2, Feb, p.441-55. 1977.
- Bogdan, C. Nitric oxide and the immune response. Nat Immunol, v.2, n.10, Oct, p.907-16. 2001.

Bogdan, C., M. Rollinghoff, *et al.* The role of nitric oxide in innate immunity. Immunol Rev, v.173, Feb, p.17-26. 2000.

Bouwens, L., M. Baekeland, *et al.* Quantitation, tissue distribution and proliferation kinetics of Kupffer cells in normal rat liver. Hepatology, v.6, n.4, Jul-Aug, p.718-22. 1986.

Boxwell, J., P. Ayson, *et al.* Growth and metabolic parameters in pups of undernourished lactating rats. Physiol Behav, v.57, n.3, Mar, p.469-75. 1995.

Brown, J. L. e E. Pollitt. Malnutrition, poverty and intellectual development. Sci Am, v.274, n.2, Feb, p.38-43. 1996.

Carlson, S. L., D. L. Felten, *et al.* Alterations of monoamines in specific central autonomic nuclei following immunization in mice. Brain Behav Immun, v.1, n.1, Mar, p.52-63. 1987.

Cerrito, F. e M. Raiteri. Serotonin release is modulated by presynaptic autoreceptors. Eur J Pharmacol, v.57, n.4, Aug 15, p.427-30. 1979.

Chandra, R. K. 1990 McCollum Award lecture. Nutrition and immunity: lessons from the past and new insights into the future. Am J Clin Nutr, v.53, n.5, May, p.1087-101. 1991.

_____. Nutrition and the immune system: an introduction. Am J Clin Nutr, v.66, n.2, Aug, p.460S-463S. 1997.

_____. Nutrition and immunology: from the clinic to cellular biology and back again. Proc Nutr Soc, v.58, n.3, Aug, p.681-3. 1999.

Chang, J. Y., E. Ekblad, *et al.* Serotonin uptake into cerebrovascular nerve fibers of rat, visualization by immunohistochemistry, disappearance following sympathectomy, and release during electrical stimulation. Brain Res, v.492, n.1-2, Jul 17, p.79-88. 1989.

Chen, J. C.; Tokins, J. Galller, J. R.; Vociler, L. Effect of prenatal malnutrition on release of monoamines from hippocampal slices. Life Sciences, v. 57, n. 16, p.1467-1475, 1995

Clark, C. T., H. Weissbach, *et al.* 5-Hydroxytryptophan decarboxylase: preparation and properties. J Biol Chem, v.210, n.1, Sep, p.139-48. 1954.

Cloez-Tayarani, I. e J. P. Changeux. Nicotine and serotonin in immune regulation and inflammatory processes: a perspective. J Leukoc Biol, v.81, n.3, Mar, p.599-606. 2007.

Cohen, R. A., Zitnay, K. M., & Weisbrod, R. M. (1985). Platelet-induced neurogenic coronary contractions due to accumulation of the false neurotransmitter, 5-hydroxytryptamine. J. Clin. Invest. 75, 286-292.

Cohen, R. A., Zitnay, K. M., & Weisbrod, R. M. (1987). Accumulation of 5-hydroxytryptamine leads to dysfunction of adrenergic nerves in canine coronary artery following intimal damage in vivo. *Circ. Res.* 61, 829-833.

Crivellato, E., D. Damiani, *et al.* Suggestive evidence for a microanatomical relationship between mast cells and nerve fibres containing substance P, calcitonin gene related peptide, vasoactive intestinal polypeptide, and somatostatin in the rat mesentery. *Acta Anat (Basel)*, v.141, n.2, p.127-31. 1991.

Cross, R. J., W. H. Brooks, *et al.* Hypothalamic-immune interactions. Effect of hypophysectomy on neuroimmunomodulation. *J Neurol Sci*, v.53, n.3, Mar, p.557-66. 1982.

De Castro, C. M., R. Manhaes De Castro, *et al.* Effect of stress on the production of O₂(-) in alveolar macrophages. *J Neuroimmunol*, v.108, n.1-2, Aug 1, p.68-72. 2000.

Delgado, H. L., V. E. Valverde, *et al.* Relationship of maternal and infant nutrition to infant growth. *Early Hum Dev*, v.6, n.3, Jul, p.273-86. 1982.

Delves, P. J. e I. M. Roitt. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*, v.343, n.1, Jul 6, p.37-49. 2000a.

_____. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*, v.343, n.2, Jul 13, p.108-17. 2000b.

Devoino, L., L. Eliseeva, *et al.* 5-Hydroxytryptophan effect on the development of the immune response: IgM and IgG antibodies and rosette formation in primary and secondary responses. *Eur J Immunol*, v.5, n.6, Jun, p.394-9. 1976.

Dietert, R. R., R. A. Etzel, *et al.* Workshop to identify critical windows of exposure for children's health: immune and respiratory systems work group summary. *Environ Health Perspect*, v.108 Suppl 3, Jun, p.483-90. 2000.

Dimitriadou, V., M. G. Buzzi, *et al.* Ultrastructural evidence for neurogenically mediated changes in blood vessels of the rat dura mater and tongue following antidromic trigeminal stimulation. *Neuroscience*, v.48, n.1, p.187-203. 1992.

Ding, A. H., C. F. Nathan, *et al.* Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol*, v.141, n.7, Oct 1, p.2407-12. 1988.

Dobbing, J. Infant nutrition and later achievement. *Am J Clin Nutr*, v.41, n.2 Suppl, Feb, p.477-84. 1985.

Dobbing, J. Vulnerable periods in developing brain. In: Davison, AN.; Dobbing, J. (ed) *Applied Neurochemistry*, p. 287-316, 1968.

Dropp, J. J. Mast cells in mammalian brain. *Acta Anat (Basel)*, v.94, n.1, p.1-21. 1976.

Dunn, A. J. Systemic interleukin-1 administration stimulates hypothalamic norepinephrine metabolism paralleling the increased plasma corticosterone. Life Sci, v.43, n.5, p.429-35. 1988.

Dunn, A. J., M. L. Powell, *et al.* Virus infection as a stressor: influenza virus elevates plasma concentrations of corticosterone, and brain concentrations of MHPG and tryptophan. Physiol Behav, v.45, n.3, Mar, p.591-4. 1989.

_____. Effects of Newcastle disease virus administration to mice on the metabolism of cerebral biogenic amines, plasma corticosterone, and lymphocyte proliferation. Brain Behav Immun, v.1, n.3, Sep, p.216-30. 1987.

Dunn, A. J. e J. Welch. Stress- and endotoxin-induced increases in brain tryptophan and serotonin metabolism depend on sympathetic nervous system activity. J Neurochem, v.57, n.5, Nov, p.1615-22. 1991.

Edvinsson, L., J. Cervos-Navarro, *et al.* Regional distribution of mast cells containing histamine, dopamine, or 5-hydroxytryptamine in the mammalian brain. Neurology, v.27, n.9, Sep, p.878-83. 1977.

Eiserich, J. P., M. Hristova, *et al.* Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. Nature, v.391, n.6665, Jan 22, p.393-7. 1998.

Elisieva, L. S., & Stefanovich, L. E. (1982). Specific binding of serotonin by blood leukocytes and peritoneal cells in the mouse. Biokhimica 47, 810-815.

Essmann, W. B. (1978b). Serotonin distribution in tissue and fluids. In W. B. Essmann (ed.), *Serotonin in health and disease*, Vol. 1. Spectrum: New York.

Essmann, W. B. (ed.). (1978a). *Serotonin in health and disease*. Spectrum: New York.

Forsdahl, A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? Br J Prev Soc Med, v.31, n.2, Jun, p.91-5. 1977.

Gardier, A. M., S. Kachaner, *et al.* Effects of a primary immune response to T-cell dependent antigen on serotonin metabolism in frontal cortex: in vivo microdialysis study in freely moving Fischer 344 rat. Brain Res, v.645, n.1-2, May 9, p.150-6. 1994.

Gaston, B. & Stamler, J. S. Biochemistry of nitric oxide. In *Nitric Oxide and Infection* (Ed. Fang, F.C.) 37-55 (Kluwer/Plenum, New York, 1999).

Germonpre, P. R., G. F. Joos, *et al.* Characterization of the neurogenic plasma extravasation in the airways. Arch Int Pharmacodyn Ther, v.329, n.1, Jan-Feb, p.185-203. 1995.

Ghia, P., E. Ten Boekel, *et al.* B-cell development: a comparison between mouse and man. Immunol Today, v.19, n.10, Oct, p.480-5. 1998.

Good, R. A. Organization and development of the immune system. Relation to its reconstruction. Ann N Y Acad Sci, v.770, Dec 29, p.8-33. 1995.

Gordon S. The macrophage: past, present and future. Eur J Immunol. 2007 nov;37 suppl 1:s9-17.

Grantham-Mcgregor, S.; Schofield, W.; Powell, C. Development of severely malnourished children who received psychosocial stimulation: six-year follow up. *Pediatrics*, 79(2):247-254, 1987.

Guedes, R.C.A; Andrade, A.F.D.; Cabral-Filho, J.E. Propagation of cortical spreading depression in malnourished rats: facilitator effect of dietary protein deficiency. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 20:639-642, 1987.

Hales, CN.; Barker, DJP. The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin*, v.60: p.5-20, 1992a.

Hales, C. N. e D. J. Barker. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, v.35, n.7, Jul, p.595-601. 1992.

Hales, C. N. e S. E. Ozanne. For debate: Fetal and early postnatal growth restriction lead to diabetes, the metabolic syndrome and renal failure. *Diabetologia*, v.46, n.7, Jul, p.1013-9. 2003.

Henson, S. E., T. C. Nichols, *et al.* The ectoenzyme gamma-glutamyl transpeptidase regulates antiproliferative effects of S-nitrosoglutathione on human T and B lymphocytes. *J Immunol*, v.163, n.4, Aug 15, p.1845-52. 1999.

Hill, A. D., H. Naama, *et al.* Antimicrobial effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in protein-energy malnutrition. *Arch Surg*, v.130, n.12, Dec, p.1273-7; discussion 1277-8. 1995.

Hisatomi, K. e Y. Niiyama. Effects of postnatal undernutrition on the catecholamine and serotonin contents of suckling rat brain. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, v.26, n.3, p.279-92. 1980.

Holzwarth, M. A. e M. S. Brownfield. Serotonin coexists with epinephrine in rat adrenal medullary cells. *Neuroendocrinology*, v.41, n.3, Sep, p.230-6. 1985.

Homo-Delarche, F. e M. Dardenne. The neuroendocrine-immune axis. *Springer Semin Immunopathol*, v.14, n.3, p.221-38. 1993.

Hoyer, D., D. E. Clarke, *et al.* International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev*, v.46, n.2, Jun, p.157-203. 1994.

Ibrahim, m. (1974). The mast cells of the mammalian central nervous system. I. Morphology, distribution and histochemistry. *J. Neurol. Sci.* 21, 431-478.

Ivanovic, D. M., M. G. Olivares, *et al.* Nutrition and learning in Chilean school age children: Chile's Metropolitan Region Survey 1986-1987. *Nutrition*, v.12, n.5, May, p.321-8. 1996.

Junod, A. F. Uptake, metabolism and efflux of 14 C-5-hydroxytryptamine in isolated perfused rat lungs. *J Pharmacol Exp Ther*, v.183, n.2, Nov, p.341-55. 1972.

Kabiersch, A., A. Del Rey, *et al.* Interleukin-1 induces changes in norepinephrine metabolism in the rat brain. *Brain Behav Immun*, v.2, n.3, Sep, p.267-74. 1988.

Kawakami, K; Kadota, J; Lida, K; Shirai, R; Abe, K; Kohno, S. Reduced immune function and malnutrition in the elderly. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 187(2):157-171, 1999.

Keith, I. M., J. Jin, *et al.* Nerve-mast cell interaction in normal guinea pig urinary bladder. *J Comp Neurol*, v.363, n.1, Dec 4, p.28-36. 1995.

Lancaster, J. R., "Nitric oxide in cells", *American Scientist*, vol. 80, 1992, pp. 248-259

Landreth, K. S. Critical windows in development of the rodent immune system. *Hum Exp Toxicol*, v.21, n.9-10, Sep-Oct, p.493-8. 2002.

Landreth, KSB. Lymphocyte development as a developmental process. In Cooper el, Brown en Eds. *Developmental Immunology*. New York: Oxford University Press, p. 238-273. 1993.

Lehmann, S. Immune function and nutrition. The clinical role of the intravenous nurse. *J Intraven Nurs*, v.14, n.6, Nov-Dec, p.406-20. 1991.

Leke, L.; Saygili, A.; Vural, M.; Risbourg, B. Malnutrition et déficit immunitaire chez l'enfant. *Archives de Pédiatrie*, 3:705-13, 1996.

Lesch, K. P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S., Benjamin, J., Müller, C. R., Hamer, D. H., & Murphy, D. L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274, 1483-1487.

Leuba, G. e T. Rabinowicz. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. I. Cellular densities, cortical volume and total numbers of cells. *Exp Brain Res*, v.37, n.2, Oct, p.283-98. 1979a.

_____. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. II. Evolution of dendritic branchings and spines in the visual region. *Exp Brain Res*, v.37, n.2, Oct, p.299-308. 1979b.

Linthorst, A. C., C. Flachskamm, *et al.* Activation of serotonergic and noradrenergic neurotransmission in the rat hippocampus after peripheral administration of bacterial endotoxin: involvement of the cyclo-oxygenase pathway. *Neuroscience*, v.72, n.4, Jun, p.989-97. 1996.

_____. Effect of bacterial endotoxin and interleukin-1 beta on hippocampal serotonergic neurotransmission, behavioral activity, and free corticosterone levels: an in vivo microdialysis study. *J Neurosci*, v.15, n.4, Apr, p.2920-34. 1995.

Lucas, A., M. S. Fewtrell, *et al.* Fetal origins of adult disease-the hypothesis revisited. *Bmj*, v.319, n.7204, Jul 24, p.245-9. 1999.

Lynch, G.; Smart, J. L.; Dobbing, J. Motor coordination and cerebellar size in adult rats undernourished in early life. *Brain Research*. 83:249-259, 1975.

Macmicking, J., Q. W. Xie, *et al.* Nitric oxide and macrophage function. Annu Rev Immunol, v.15, p.323-50. 1997.

Macmicking, J. D., R. J. North, *et al.* Identification of nitric oxide synthase as a protective locus against tuberculosis. Proc Natl Acad Sci U S A, v.94, n.10, May 13, p.5243-8. 1997.

Macphee, I. A., F. A. Antoni, *et al.* Spontaneous recovery of rats from experimental allergic encephalomyelitis is dependent on regulation of the immune system by endogenous adrenal corticosteroids. J Exp Med, v.169, n.2, Feb 1, p.431-45. 1989.

Macpherson, J. C., S. A. Comhair, *et al.* Eosinophils are a major source of nitric oxide-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating reactive nitrogen species. J Immunol, v.166, n.9, May 1, p.5763-72. 2001.

Marathias, K., M. Lambracht-Hall, *et al.* Endogenous regulation of rat brain mast cell serotonin release. Int Arch Allergy Appl Immunol, v.95, n.4, p.332-40. 1991.

Marcos, A. The immune system in eating disorders: an overview. Nutrition, v.13, n.10, Oct, p.853-62. 1997.

Marin, M. C., M. E. De Tomas, *et al.* Protein-energy malnutrition during gestation and lactation in rats affects growth rate, brain development and essential fatty acid metabolism. J Nutr, v.125, n.4, Apr, p.1017-24. 1995.

Marshall, H. E., K. Merchant, *et al.* Nitrosation and oxidation in the regulation of gene expression. Faseb J, v.14, n.13, Oct, p.1889-900. 2000.

Mathiau, P., A. M. Reynier-Rebuffel, *et al.* Absence of serotonergic innervation from raphe nuclei in rat cerebral blood vessels--II. Lack of tryptophan hydroxylase activity in vitro. Neuroscience, v.52, n.3, Feb, p.657-65. 1993.

Mathiau, P., D. Riche, *et al.* Absence of serotonergic innervation from raphe nuclei in rat cerebral blood vessels--I. Histological evidence. Neuroscience, v.52, n.3, Feb, p.645-55. 1993.

Mc, I. W. e I. H. Page. The metabolism of serotonin (5-hydroxytryptamine). J Biol Chem, v.234, n.4, Apr, p.858-64. 1959.

Melchers, F. The Carl Prausnitz Memorial Lecture. The development of lymphocytes. Int Arch Allergy Immunol, v.113, n.1-3, May-Jul, p.11-3. 1997.

Merali, Z., S. Lacosta, *et al.* Effects of interleukin-1beta and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: a regional microdialysis study. Brain Res, v.761, n.2, Jul 4, p.225-35. 1997.

Metcalf, MD.; Moore, MAS. Haemopoietic cells. *Frontiers of Biology*, volume 24. London: North-Holland Publishing Co, p. 220-242. 1971.

Monteiro, C. A. O panorama da nutrição infantil nos anos 90. In: Unicef. Cadernos de Políticas Sociais – Série Documentos para Discussão. Brasília, 1:1-14, 1996.

Morgan, G. What, if any, is the effect of malnutrition on immunological competence? Lancet, v.349, n.9066, Jun 7, p.1693-5. 1997.

Morgane, P.J.; Miller, M.; Kemper, T.; Stern, W.; Forbes, W.; Hall, R.; Bronzino, J.; Hawrylewicz, E.; Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2:137-230, 1978.

Morgane, P. J., R. Austin-Lafrance, *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosci Biobehav Rev, v.17, n.1, Spring, p.91-128. 1993.

Morgane, P. J., D. J. Mokler, *et al.* Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. Neurosci Biobehav Rev, v.26, n.4, Jun, p.471-83. 2002.

Morio, L. A., H. Chiu, *et al.* Functional heterogeneity of rat hepatic and alveolar macrophages: effects of chronic ethanol administration. J Leukoc Biol, v.68, n.5, Nov, p.614-20. 2000.

Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods, v.65, n.1-2, Dec 16, p.55-63. 1983.

Mossner, R. e K. P. Lesch. Role of serotonin in the immune system and in neuroimmune interactions. Brain Behav Immun, v.12, n.4, Dec, p.249-71. 1998.

Nagy, Z. M., K. J. Porada, *et al.* Undernutrition by rearing in large litters delays the development of reflexive, locomotor, and memory processes in mice. J Comp Physiol Psychol, v.91, n.3, Jun, p.682-96. 1977.

Nannmark, U., L. Sennerby, *et al.* Inhibition of leukocyte phagocytosis by serotonin and its possible role in tumor cell destruction. Cancer Lett, v.62, n.1, Feb 14, p.83-6. 1992.

Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. Faseb J, v.6, n.12, Sep, p.3051-64. 1992.

_____. Metchnikoff's Legacy in 2008. Nat Immunol, v.9, n.7, Jul, p.695-8. 2008.

Noback, C. R. e L. M. Eisenman. Some effects of protein-calorie undernutrition on the developing central nervous system of the rat. Anat Rec, v.201, n.1, Sep, p.67-73. 1981.

Nogueira MI, Takase, LF, Lopes, S, Mascaro, MB, Manhaes-de-Castro, R. Serotonina. A trajetória evolutiva de uma molécula de ampla ação trófica e neurológica. Ciência Hoje vol. 34, n.202, 30-35. 2004

Ozanne, S. E. e C. N. Hales. The long-term consequences of intra-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. Proc Nutr Soc, v.58, n.3, Aug, p.615-9. 1999.

Paiva, M. Q., M. Caramona, *et al.* Intra- and extraneuronal metabolism of 5-hydroxytryptamine in the isolated saphenous vein of the dog. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, v.325, n.1, Jan, p.62-8. 1984.

Parrat, J. R. (1958). Discussion. In G. P. Lewis (ed.), 5-hydroxytryptamine, p. 36. Pergamon Press: London.

Parrat, J. R., & West, G. B. (1957). 5-hydroxytryptamine and tissue mast cells. *J. Physiol.* 137, 169-178.

Picanço-Diniz, C. W.; Araújo, M. S.; Borba, J. M. C.; Guedes, R. C. A. NADPH-diaphorase containing and biocytin-labelled axon terminals in the visual cortex of adult rats malnourished during development. *Nutritional Neuroscience*, 1:35-48, 1998.

Prestes-Carneiro, L. E., R. D. Laraya, *et al.* Long-term effect of early protein malnutrition on growth curve, hematological parameters and macrophage function of rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, v.52, n.6, Dec, p.414-20. 2006.

Qiu, Y., Y. Peng, *et al.* Immunoregulatory role of neurotransmitters. *Adv Neuroimmunol*, v.6, n.3, p.223-31. 1996.

Redmond, H. P., H. J. Gallagher, *et al.* Antigen presentation in protein-energy malnutrition. *Cell Immunol*, v.163, n.1, Jun, p.80-7. 1995.

Resnick, O., M. Miller, *et al.* Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. *Neurosci Biobehav Rev*, v.3, n.4, Winter, p.233-46. 1979.

Reynolds, H. Y. Lung inflammation and fibrosis: an alveolar macrophage-centered perspective from the 1970s to 1980s. *Am J Respir Crit Care Med*, v.171, n.2, Jan 15, p.98-102. 2005.

Rocha-De-Melo, A. P. e R. C. Guedes. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. *Braz J Med Biol Res*, v.30, n.5, May, p.663-9. 1997.

Rosso, P.; Hormazabal, J.; Winick, M. Changes in brain weight, cholesterol, phospholipid and DNA content in marasmatic children. *American Journal of Clinical Nutrition*. 23(10):1275-1279, 1970.

Roszman, T. L., J. C. Jackson, *et al.* Neuroanatomic and neurotransmitter influences on immune function. *J Immunol*, v.135, n.2 Suppl, Aug, p.769s-772s. 1985.

Saito, A. e T. J. Lee. Serotonin as an alternative transmitter in sympathetic nerves of large cerebral arteries of the rabbit. *Circ Res*, v.60, n.2, Feb, p.220-8. 1987.

Sandler, M., M. A. Reveley, *et al.* Human platelet monoamine oxidase activity in health and disease: a review. *J Clin Pathol*, v.34, n.3, Mar, p.292-302. 1981.

Shintani, F., S. Kanba, *et al.* Interleukin-1 beta augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. *J Neurosci*, v.13, n.8, Aug, p.3574-81. 1993.

Shortman, K., D. Vremec, *et al.* The linkage between T-cell and dendritic cell development in the mouse thymus. *Immunol Rev*, v.165, Oct, p.39-46. 1998.

Skerret, S. J; Henderson, W. R; Martin, T. R. Alveolar macrophage function in rats with severe protein calorie malnutrition. *Journal of Immunology*, 144:1052-61, 1990.

Smart, T. L.; Dobbing, J. Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of fetal and early postnatal undulate and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behavior in the rat. *Brain Research*, 33: 303-314, 1971.

Sobotka, T.J.; Cook, M.P.; Brodie, R.E. Neonatal malnutrition: neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. *Brain Resarch*. v. 65, n. 3, p.443-457, 1974

Stanley, M. I., R. J. Berger, *et al.* Serotonin (5-HT) fibers of the rat dura mater: 5-HT-positive, but not authentic serotonergic, tryptophan hydroxylase-like fibers. *Neurosci Lett*, v.162, n.1-2, Nov 12, p.89-92. 1993.

Sternberg, E. M., J. Trial, *et al.* Effect of serotonin on murine macrophages: suppression of Ia expression by serotonin and its reversal by 5-HT₂ serotonergic receptor antagonists. *J Immunol*, v.137, n.1, Jul 1, p.276-82. 1986.

Stuehr, D. J. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta*, v.1411, n.2-3, May 5, p.217-30. 1999.

Teh, HS. Tcell development and repertoire selection. In cooper el, Brown en Eds. *Developmental Immunology*. New York: Oxford University Press, p. 217-237. 1993.

Teodosio, N. R., E. S. Lago, *et al.* A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. *Arch Latinoam Nutr*, v.40, n.4, Dec, p.533-47. 1990.

Teshima, S; Rokutan, K; Takahashi, M; Nikawa,T; Kido, Y; Kishi, K. Alteration of the respiratory burst and phagocytosis of macrophages under protein malnutrition. *Cellular Immunology*, 139(2):493-504, 1992.

Thoa, N. B., D. Eccleston, *et al.* The accumulation of C14-serotonin in the guinea-pig vas deferens. *J Pharmacol Exp Ther*, v.169, n.1, Sep, p.68-73. 1969.

Verbeuren, T. J., F. H. Jordaens, *et al.* Accumulation and release of [3H]-5-hydroxytryptamine in saphenous veins and cerebral arteries of the dog. *J Pharmacol Exp Ther*, v.226, n.2, Aug, p.579-88. 1983.

Verhofstad, A. A. e G. Jonsson. Immunohistochemical and neurochemical evidence for the presence of serotonin in the adrenal medulla of the rat. *Neuroscience*, v.10, n.4, Dec, p.1443-53. 1983.

Wekerle, H., Linington, C., Lassmann, H., & Meyermann, R. (1986). Cellular immune reactivity within the CNS. *Trends Neurosci*. 9, 271-277.

Widdowson EM, Mccance RA. The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1963 oct 22;158:329-42.

Wu, G., N. E. Flynn, *et al.* Dietary protein or arginine deficiency impairs constitutive and inducible nitric oxide synthesis by young rats. J Nutr, v.129, n.7, Jul, p.1347-54. 1999.

Wu, G. e S. M. Morris, Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. Biochem J, v.336 (Pt 1), Nov 15, p.1-17. 1998.

Zhu, J., Bengtsson, B. O., Mix, E., Thorell, L. H., Olsson, T., & Link, H. (1995). Peripheral nerve myelin modulates the effect of antidepressants on major histocompatibility complex expression on macrophages in experimental allergic neuritis. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 8, 185-198.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 72/06

Recife, 12 de dezembro de 2006

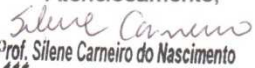
Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPE
Para: **Raul Manhães de Castro**
Departamento de Nutrição - UFPE
Processo nº 012502/2006-07

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEAA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado **"Desnutrição neonatal: efeito de inibidores seletivos de recaptação da serotonina sobre função *in vitro* de macrófagos alveolares de ratos adultos"**.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEAA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Prof. Silene Carneiro do Nascimento
 Presidente CEEA

CCB: Integrar para desenvolver

ANEXO B – Documentação da análise cromatográfica da aguardente de cana-de-açúcar



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA INSTRUMENTAL

CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº: 006-002/2009

Natureza da Análise: Concomitantes no álcool etílico.
Interessado: Cybelle Rolim - UFPE/CAV - Nutrição
Fone: 9133.2177.

Método analítico: Cromatografia a Gás, com detector de ionização por chama. Coluna: Carbowax 20M (megabore).

RESULTADO:

Componente	Conc. (mg/100 mL)	
	Amostra 1	Amostra 2
Acetaldeído	N/D	N/D
Acetona	N/D	5,0
Acetato de etila	4,3	9,0
Álcool metílico	N/D	19,6
Álcool n-propílico	14,8	17,3
Álcool iso-butilico	18,8	76,5
Álcool iso-amílico	99,9	144,6

N/D = não detectado.

Recife, em 25 de setembro de 2009.

Professor Alexandre Ricardo Pereira Schuler
Chefe do Laboratório de Cromatografia Instrumental

ANEXO C – Documentação de encaminhamento do artigo “Nutritional Effects of Sugar Cane Alcohol on Ageing Rats” ao periódico

Enc: Letter reception - Yahoo! Mail

Página 1 de 2



Enc: Letter reception

Quarta-feira, 5 de Maio de 2010 17:04

De: "cybelle rolim de lima" <cybellerolim@yahoo.com.br>
Para: "luciana orange" <luciana_orange@hotmail.com>, "Francisca Bion" <franciscabion@yahoo.com.br>, "cybelle rolim de lima" <cybellerolim@yahoo.com.br>, "Pedrita monitora + estagio" <pedrita.aqueiroz@hotmail.com>

--- Em qua, 5/5/10, Editorial Office <br@biologiachile.cl> escreveu:

De: Editorial Office <br@biologiachile.cl>
Assunto: Letter reception
Para: cybellerolim@yahoo.com.br
Data: Quarta-feira, 5 de Maio de 2010, 16:32

Dear Dr. Lima:

Please address your future requests to this email address.

Please kindly acknowledge receipt of this letter.

Regards,
Editorial Office

De: Editorial Office [mailto:br@biologiachile.cl]
Enviado el: Viernes, 30 de Abril de 2010 13:22
Para: cybellerolim@yahoo.com.br
Asunto: Letter reception

BIOLOGICAL RESEARCH

April 30, 2010

Dr. Cybelle R. Lima
Universidade Federal de Pernambuco
Brazil

Dear Dr. Lima:

Manuscript Title: **Nutritional Effects of Sugar Cane Alcohol on Ageing Rats**

The Managing Editors of your manuscript would like to thank you for submitting your article to Biological Research. Your manuscript has been successfully received at the Editorial Office and promptly will be assigned a number and give full consideration for publication in Biological Research. As the corresponding author, you will receive future communications via e-mail.

ANEXO D – Documentação de encaminhamento do artigo “Efeitos da aguardente de cana-de-açúcar no status nutricional e lipemia de ratos de ambos os gêneros, em função da idade” ao periódico

Alcohol Submission Confirmation - Yahoo! Mail

Página 1 de 1



Alcohol Submission Confirmation

Quarta-feira, 15 de Setembro de 2010 21:14

De: "Alcohol - An International Biomedical Journal" <alcojrnl@iupui.edu>

Para: cybellerolim@yahoo.com.br

Title: Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age

Corresponding Author: cybelle cybelle Rolim Lima

Authors: Francisca M Bion, PhD; Luciana G Orange, Ms; Pedrita A Queiroz, Graduate; Fabiola X Ponzi, Graduate; Nonete B Guerra, PhD

Dear cybelle Lima,

We have received your manuscript titled "Effects of sugarcane alcohol on nutritional status and lipemia in male and female rats in function of age". Your manuscript will be given a number shortly, and you will soon receive an e-mail with this number for your reference. You will be able to check on the progress of your manuscript by logging onto the Elsevier Editorial System for Alcohol as an author:

<http://ees.elsevier.com/alcohol/>

Your username is: cybellerolim@yahoo.com.br

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/alcohol/automail_query.asp

Thank you for submitting your work to Alcohol - An International Biomedical Journal.

Sincerely yours,

Charles R. Goodlett, PhD
Editor-in-Chief, Alcohol
Department of Psychology
IUPUI
402 North Blackford Street
Indianapolis, IN 46202-3275
USA

Tel: 317-274-6772

Fax: 317-278-7181

E-mail: alcojrnl@iupui.edu

<http://www.elsevier.com/locate/alcohol>

ANEXO E – Artigos originais: versão em português

ARTIGO 1 - “AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITOS NUTRICIONAIS EM RATOS EM ENVELHECIMENTO”

ARTIGO 2 - “EFEITOS DA AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR NO STATUS NUTRICIONAL E LIPEMIA DE RATOS DE AMBOS OS GÊNEROS, EM FUNÇÃO DA IDADE”

**ARTIGO 1 – AGUARDENTE DE CANA-DE-AÇÚCAR:
EFEITOS NUTRICIONAIS EM RATOS EM
ENVELHECIMENTO**

PÁGINA DO TÍTULO

Título do trabalho: **Aguardente de cana-de-açúcar: efeitos nutricionais em ratos em envelhecimento**

Autores:

*CYBELLE R. LIMA¹

FRANCISCA M. BION²

FABIOLA K. A. X. PONZI²

PEDRITA MIRELLA ALBUQUERQUE QUEIROZ²

NICODEMOS T. P. FILHO³

LUCIANA GONÇALVES DE ORANGE¹

NONETE B. GUERRA⁴

¹ Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória , Núcleo de Nutrição, Recife, Pernambuco – Brasil;

² Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição - Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), Recife, Pernambuco – Brasil;

³ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Patologia - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Lika), Recife, Pernambuco – Brasil;

⁴ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição – Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), Recife, Pernambuco – Brasil.

Este estudo foi conduzido no Departamento de Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Brasil.

***Autor correspondente:** Departamento de Nutrição, Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), CCS, UFPE, Av. Professor Moraes Rego, s/n, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife/PE, Brasil. Tel.: +55 81 2126 8470; fax: +55 81 2126 8473. E-mail address: cybellerolim@yahoo.com.br (C. Rolim de Lima)

RESUMO

A toxicidade da ingestão crônica de aguardente de cana-de-açúcar sobre o status nutricional no envelhecimento foi avaliada em ratos *Wistar* de ambos os gêneros, com 12 meses de idade, randomizados em quatro grupos de 10 animais: água-controle (GC), sendo GCF – grupo controle de fêmeas e GCM – grupo controle de machos e GA – grupo aguardente, sendo GAF – grupo aguardente de fêmeas e GAM - grupo aguardente de machos. Os animais foram alimentados, com uma mistura de alimentos baseada na ingestão alimentar da população do Nordeste brasileiro, tendo os grupos livre acesso à água e/ou aguardente, durante o período experimental (5 semanas). Semanalmente, foi avaliado o consumo alimentar, a ingestão de líquidos e o peso corporal, e ao final do experimento, os índices bioquímicos e a histologia do fígado. Independente do tratamento, os machos consumiram mais ração e ingeriram maiores quantidades de água e aguardente, e apresentaram peso corpóreo superior, no período experimental, em relação às fêmeas; os animais de ambos os gêneros do GA tiveram glicose sérica elevada e menores valores de triglicerídeos e lipoproteína de muito baixa densidade, quando comparados ao controle. Embora a aguardente não tenha interferido no consumo alimentar dos ratos de ambos os gêneros, repercutiu de forma diferenciada no peso corporal dos animais e exerceu efeito tóxico sobre o tecido hepático, com implicações negativas sobre o metabolismo dos nutrientes.

Termos chaves: alcoolismo, aguardente, ratos em envelhecimento, status nutricional, perfil bioquímico, fígado.

INTRODUÇÃO

O alcoolismo pode ser considerado uma doença crônica com etiologia multifatorial, combinando componentes genéticos, biológicos, psicológicos e ambientais (Addolorato et al., 2005).

No Brasil, cerca de 11% da população está envolvida com a dependência alcoólica; deste total, 17,1% é do sexo masculino e 5,7% do feminino (Carlini et al., 2002). Em relação ao tipo de bebida alcoólica, pesquisa revela que as mais ingeridas no país são: a cerveja, em primeiro lugar, com um consumo *per capita*/ano de 54 litros, seguida da aguardente, com 12 litros, e do vinho, com 1,8 litros (Galduróz e Caetano, 2004).

A aguardente de cana-de-açúcar (cachaça), cuja graduação alcoólica está entre 38 % vol (trinta e oito por cento em volume) e 48% vol (quarenta e oito por cento em volume) a 20°C (vinte graus Celsius), é obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, com características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares, até 6g/L⁻¹, expressos em sacarose. Quando esta adição é superior a 6g/L⁻¹ e inferior a 30g/L⁻¹, a bebida passa a ser denominada cachaça adoçada (López, 2004).

Segundo López (2004), a produção estimada de aguardente, no Brasil, é de 1,3 bilhões de litros por ano, com mais de 5 mil marcas registradas e cerca de 30 mil produtores, em todo o país. Em 2003, foram exportados 5,2 milhões de litros de aguardente e cachaça, volume que aumentou para 10,2 milhões de litros, em 2004 (López, 2004). De acordo com Moraes (2001), em países como Alemanha, Itália, França, Estados Unidos e Japão, a aguardente e a cachaça são consumidas principalmente sob a forma de coquetel, com destaque para a “caipirinha”, enquanto no Brasil cerca de 70% da aguardente é consumida pura.

O alcoolismo não poupa classe social, sexo, idade nem raça, alcançando elevada prevalência na população adulta, inclusive entre os idosos (Soldera et al., 2004) que, de acordo com a literatura, apresentam maior vulnerabilidade ao uso do etanol do que os jovens (Castillo et al., 2008).

Ao envelhecer, o indivíduo pode tornar-se mais sensível à intoxicação alcoólica com doses que, no passado, eram bem toleradas (Hulse, 2002), o que torna o consumo de bebidas alcoólicas um fator de risco à saúde e à qualidade de vida dos idosos.

Estudos “in vivo” têm sido conduzidos, para avaliar os efeitos da exposição ao etanol sobre o perfil nutricional. Mobarhan et al. (1991), ao pesquisarem, em ratos machos Fischer 344 (F344) envelhecidos (19 meses de idade), o impacto nutricional decorrente do consumo

de etanol, por um período de 3 semanas, constataram uma redução no peso corporal dos animais. Este resultado, entretanto, não foi ratificado por Cahill et al. (2005), em ratos de mesma linhagem (F344) e gênero, com idades aproximadas: 12 e 24 meses, tratados com etanol por igual período de tempo.

Estas controvérsias acerca do impacto do consumo do etanol sobre o status nutricional de ratos em envelhecimento tem despertado um crescente interesse sobre o tema, dadas as inúmeras implicações envolvidas.

No que diz respeito à toxicidade do etanol, a maioria das pesquisas, não obstante a utilização de pequenas doses da droga, indicam que seu consumo pode induzir alterações morfológicas e funcionais nos hepatócitos (Brzóška et al 2003; Ito et al., 2007). Puzziferri et al. (2000) relataram que a exposição crônica de ratos wistar ao etanol a 3% v/v também resultou em ligeiro, embora significativo, aumento da peroxidação lipídica mitocondrial. Este achado indica que danos mais extensos podem ocorrer quando altas doses dessa substância forem oferecidas.

A escassez de investigações acerca dos efeitos do consumo crônico de bebidas alcoólicas com elevadas concentrações de etanol e, em particular, sobre a sua toxicidade nos órgãos-alvo, como o fígado, demonstra a pertinência desta pesquisa para avaliar os efeitos adversos da ingestão da aguardente de cana-de-açúcar adoçada sobre o status nutricional e bioquímico de ratos em envelhecimento, de ambos os gêneros.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 40 ratos de ambos os gêneros, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade *Albinus*), com 12 meses de idade, provenientes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Durante todo o período experimental os animais permaneceram em gaiolas individuais, em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura controlada ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dotado de sistema de exaustão, segundo a recomendação ética do Cobeia (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

Os ratos (N=40) foram randomizados, em quatro grupos de 10, de acordo com o tratamento: água-controle (GC), sendo GCF – grupo controle de fêmeas e GCM – grupo controle de machos; e os dois outros grupos GA – grupo aguardente, sendo GAF – grupo aguardente de fêmeas e GAM - grupo aguardente de machos.

O protocolo experimental foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (Ceea) do Centro de Ciências Biológicas, UFPE – processo nº: 23076.002080/2008-15.

Regime alimentar

Todos os grupos foram alimentados, de forma exclusiva, sob o sistema de livre acesso, com uma mistura baseada na ingestão alimentar da população do Nordeste brasileiro (Burgos e Bion, 2005; Orange et al., 2009), cuja composição dos alimentos foi determinada segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz – IAL (2005) e encontra-se na tabela 1. A dieta, preparada no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição — UFPE, já foi anteriormente descrita e utilizada em estudos prévios do nosso grupo (Burgos e Bion, 2005; Orange et al., 2009). O consumo da dieta foi monitorado semanalmente e o cálculo da ingestão alimentar efetuado, considerando a quota oferecida e a rejeitada, 7 dias após o oferecimento.

Oferta de líquidos

Os animais do GA receberam os líquidos, água e aguardente de cana-de-açúcar adoçada (cahaça adoçada), em bebedouros distintos, enquanto os do GC receberam água, ambos os grupos *ad libitum*, por um período de 5 semanas. A ingestão hídrica e etílica, que

correspondeu à quantidade (ml) de água e aguardente ingeridas diariamente, pelo animal, foi calculada pela diferença entre o volume de água/bebida alcoólica oferecida e o volume rejeitado, registrados 24 horas após a oferta. O consumo etílico foi obtido pela relação g de etanol/ kg de peso corporal/ dia.

Os alimentos constituintes da mistura alimentar, assim como a bebida alcoólica, foram adquiridos de uma única vez, no comércio local.

Peso corporal

O peso corporal foi aferido em balança de precisão elétrica, capacidade para 2.6/oz, sendo a variação correspondente à diferença entre o peso corporal inicial, aos 12 meses de idade e ao final de cada semana de experimentação.

Sacrifício dos animais e análise bioquímica

Ao final do período experimental, os animais, em jejum de 12 horas, foram pesados e posteriormente sacrificados sob anestesia (Cloridrato de Ketamina e Cloridrato de Xilasina). Em sequência, foram submetidos à punção cardíaca, para coleta das amostras de sangue destinadas às dosagens bioquímicas de glicose, colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG), realizadas pelo método enzimático de Trinder (1969). As frações lipoproteicas: de alta densidade (HDL-C), de muito baixa densidade (VLDL-C) e de baixa densidade (LDL-C) foram determinadas pelo princípio metodológico de Rautela e Liedtke (1978) e a albumina (ALB) foi dosada pelo método Verde de Bromocresol (Peters et al., 1982).

Procedimentos para estudo histológico do fígado

Foram retirados segmentos transversais dos fígados dos animais dos vários grupos para avaliar os efeitos da ingestão da aguardente sobre o tecido hepático. Para isso, comparou-se, de forma qualitativa, amostras histológicas de animais, machos e fêmeas, que ingeriram aguardente, com amostras dos controles. Imediatamente após a punção cardíaca e coleta do sangue, foi realizada uma incisão na cavidade abdominal para a retirada do fígado, cujo lobo esquerdo foi seccionado em seu maior diâmetro, para obtenção de um segmento transversal que foi imerso em formalina tamponada em PBS, a 10%, para fixação. Após 48 horas, o segmento tecidual foi submetido à rotina histológica e finalmente emblocado em parafina. Através de microtomia, obteve-se cortes histológicos com 4µm de espessura, que foram corados pela Hematoxilina-Eosina (HE), montados em lâminas albuminizadas e avaliados através de microscopia óptica convencional.

Análise estatística

A análise dos dados foi realizada por meio de média e desvio padrão (Técnicas de estatística descritiva), sendo utilizados os testes estatísticos: t-Student, com variâncias iguais e desiguais, ou Mann-Whitney, F (Anova), para medidas repetidas com um fator, e F (Anova), num modelo de três fatores (Técnicas de estatística inferencial) (Zar, 1999) sendo um deles de medidas repetidas e com comparações de Bonferroni entre os tempos de avaliação. O teste t-Student foi escolhido no caso de verificação da hipótese de distribuição normal dos dados em cada categoria em análise e o teste de Mann-Whitney no caso em que a hipótese de normalidade não foi verificada. A verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi realizada através do teste F de Levene.

O nível de significância na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%. O “software” estatístico para a obtenção dos cálculos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, na versão 13, Chicago IL).

RESULTADOS

Consumo alimentar

A tabela 2 demonstra diferenças ($p < 0,001$) entre os gêneros quanto ao consumo alimentar: média mais elevada nos machos (GC: $132,55 \pm 29,20$ g/dia; GA: $137,71 \pm 27,53$ g/dia) do que nas fêmeas (GC: $116,2 \pm 35,86$ g/dia; GA: $111,01 \pm 35,41$ g/dia); e entre os tempos de avaliação, com exceção da 2ª e 3ª semanas, também para ambos os gêneros.

Peso corporal

No que diz respeito a este parâmetro, verifica-se pela análise semanal dos resultados, que os machos apresentaram peso corporal significativamente superior (Tabela 3). Comportamento que não foi repetido em relação ao ganho de peso ao final do período, sendo evidenciada (Figura 1) diferença apenas entre as fêmeas, nos dois grupos estudados (GC: $p = 0,028$ e GA: $p = 0,014$). Em relação ao comportamento ponderal nas cinco semanas do estudo, pelos testes de comparações pareadas comprova-se diferença apenas para as fêmeas, em ambos os grupos, sendo no GCF registrada nas 2ª e 3ª semanas com o início do experimento e com a 1ª semana ($p < 0,009$) e, para o GAF, entre o início do experimento e a 3ª semana ($p < 0,002$).

Ingestão de líquidos: água e aguardente

Na tabela-4, verifica-se que a ingestão de água das fêmeas foi diferente entre os grupos, na 2ª semana de experimentação, período no qual o GCF ingeriu quantidades superiores de água, em comparação ao GAF ($p < 0,001$). As médias da ingestão de água durante os tempos avaliados foram significativamente maiores nos machos do que nas fêmeas, exceto na terceira semana, para o GAF (Tabela 4). Ainda comparando a ingestão hídrica ao longo das semanas de experimento, o GCM apresentou diferença ($p = 0,021$) entre a 2ª e a 1ª e 4ª semana, enquanto, o GCF ($p < 0,001$), entre a 3ª, a 4ª e a 5ª semana. No GAF foi constatada diferença ($p = 0,005$) entre a 3ª, a 2ª e a 4ª semana.

A ingestão de aguardente apresentou diferença entre os gêneros, tendo os animais machos ingerido maiores quantidades que as fêmeas, ao longo do período experimental, com exceção da 4ª semana (Tabela 4). A figura 2 expressa a alternância observada entre machos e fêmeas, no que diz respeito à razão da preferência dos animais pela aguardente, em relação à água, sendo esta maior para os machos, na 1ª semana de avaliação ($44,45 \pm 10,67\%$), e para as

fêmeas, na 2ª semana ($45,86 \pm 7,84\%$). Para estas últimas, foram registradas diferenças entre a 2ª e a 3ª semana ($p=0,040$).

Perfil bioquímico

A ingestão crônica de aguardente aumentou significativamente a glicemia dos ratos, em ambos os gêneros, e o CT e CT/HDL, apenas para os machos. Quanto às dosagens de VLDL e TG, os animais apresentaram valores menores para o GA, nos gêneros estudados, diferentemente da albumina, reduzida significativamente nas fêmeas (Tabela 5).

Análise histológica do tecido hepático

As análises histológicas dos segmentos hepáticos dos animais dos grupos experimentais, quando comparadas com os controles, evidenciaram comprometimento hepático, caracterizado pela presença de esteatose e de áreas de necrose, gradativamente aumentadas nos animais que ingeriram maiores quantidades de aguardente; convém ressaltar que a frequência e a intensidade destas lesões necróticas foram similares às de esteatose (Figura 3).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo são indicativos de que a ingestão de aguardente de cana-de-açúcar adoçada não alterou, independentemente do gênero, o consumo alimentar de ratos; entretanto, repercutiu de forma diferenciada no peso corporal dos animais. Estes achados, provenientes da exposição crônica à bebida de ratos em envelhecimento, de ambos os gêneros, não demonstraram o efeito anoréxico esperado. Entretanto, na redução do consumo da dieta, se contrapõem aos de Woods e Druse (1996), que relataram um consumo, significativamente menor, por ratos machos com 14 meses, tratados com etanol durante 6 semanas, e aos de Aguiar et al. (2004), ao ofertarem, como única fonte de líquido, soluções crescentes de etanol (0, 5, 10, 20 e 40%, v/v) a ratos *Wistar* fêmeas, por um período de 5 semanas.

O maior consumo alimentar dos machos de ambos os grupos é possivelmente decorrente do metabolismo mais elevado neste gênero, que exige um maior consumo de alimentos (Mezadri et al., 2004). Convém ressaltar que, embora os animais do GAM tivessem maior consumo alimentar em relação aos do GAF, este comportamento não resultou em ganho de peso; podendo ser atribuído ao metabolismo mais acelerado e consequentemente, maior gasto energético deste gênero (Mezadri et al., 2004) ou à redução do aproveitamento da dieta. Esta última hipótese pode ser, em parte, explicada pela maior quantidade de aguardente ingerida pelos machos que, embora não tenha reduzido o apetite dos animais, pode ter interferido no aproveitamento da dieta, pois, conforme Bode e Bode (1997) a toxicidade relacionada ao etanol resulta em má-digestão e/ou má-absorção dos nutrientes.

Vale ressaltar que, embora a maior ingestão da bebida por parte dos machos tenha fornecido um aporte calórico adicional a estes animais, as calorias fornecidas pelo etanol parecem não ser aproveitadas para o ganho de peso corporal de ratos (Lieber, 1994). Entretanto, resultados obtidos, com animais malnutridos com restrição alimentar de 50%, constataram que as calorias da solução de etanol a 20% (v/v) foram eficientemente utilizadas para a manutenção do peso corporal (Aguiar et al., 2006). Resultados similares foram posteriormente apresentados por estes autores, ao ofertarem solução alcoólica de menor concentração (5%) a ratos fêmeas, com restrição alimentar semelhante. Esses achados

sugerem que as calorias provenientes do etanol podem atenuar a má-nutrição, em ratos, e ainda que o perfil tóxico desta droga depende do *status* nutricional dos animais.

Ainda em relação ao peso corporal dos ratos machos de ambos os grupos, os resultados deste trabalho foram similares aos reportados por Cahill et al. (2005), para ratos Fischer (F344) do mesmo gênero e idade que receberam, por 3 semanas, dieta de Lieber-de-Carli, na qual 36% das calorias eram provenientes do etanol. Em contraposição, Mobarhan et al. (1991), em pesquisa em ratos com 19 meses, alimentados com a dieta de Lieber-de-Carli e semelhante participação alcoólica, registraram significativa perda de peso. Os resultados sugerem a idade dos animais como importante fator no desencadeamento dos efeitos nutricionais adversos acarretados pelo etanol.

No que diz respeito a esse parâmetro, o comportamento do GAF também se contrapõe ao apresentado por ratas tratadas, cronicamente, com etanol, cujo ganho de peso foi significativamente menor (Aguilar et al., 2004; Stewart e Kennedy, 1999).

Quanto à ingestão de líquidos (água / aguardente), constata-se que os animais do GAM ingeriram quantidades superiores (45%), quando comparados aos do GAF, e que, deste total de líquidos ingeridos, 37,9% foi de aguardente e 34,1% de água. A ingestão hídrica se mostrou superior no GC em relação ao GA, em ambos os gêneros, fato justificado possivelmente pela oferta de água e aguardente separadamente ao GA, tornando-se a aguardente mais atrativa pelo seu sabor adocicado, devido à concentração de açúcares nesta bebida, em detrimento a água.

O consumo alcoólico significativamente superior por parte dos machos, constatado nesta investigação, difere dos achados de Orange et al. (2009) e Lancaster e Spiegel (1992), nos quais as fêmeas ingeriram maiores quantidades de etanol. No entanto, ao estabelecer a ingestão de etanol por quilograma de peso corporal por dia (g/kg/dia) verifica-se a inexistência de diferença entre os gêneros, tendo os machos um consumo médio de $21,16 \pm 6,78$ g/kg/dia, e as fêmeas de $20,31 \pm 2,60$ g/kg/dia. Valor aproximado (24,01 g/kg/dia) foi verificado por Aguilar et al. (2006), ao oferecer, a ratos fêmeas, solução hidroalcoólica com percentual semelhante ao do presente estudo (40% v/v).

Quanto aos valores significativamente elevados de glicemia nos ratos, em ambos os gêneros do GA, são similares aos obtidos por outros autores (Sforcin et al., 1997; Strbák et al., 1998). De acordo com a literatura, o consumo crônico de etanol altera a homeostase glicêmica e está associado com o desenvolvimento de resistência insulínica, conforme Kang et al. (2007), em pesquisa com ratos expostos cronicamente ao etanol, em que a droga foi responsável pela indução da resistência à insulina, associada a prejuízo na supressão da

produção de glicose hepática. De acordo com Wellen (2005), pode existir uma forte relação entre inflamação crônica e resistência à insulina, uma vez que muitos fatores inflamatórios afetam diretamente a sinalização deste hormônio. Desta forma, a injúria hepática: esteatose e hepatite, que normalmente estão presentes na ingestão crônica de álcool, podem contribuir para a hiperglicemia (Mezey, 1991).

A ingestão de elevadas doses de etanol também é considerada um fator para a aterogênese (Stipp et al., 2007) e indutora de modificações na homeostase lipídica (Marmillot et al., 2007). Os níveis séricos de CT do GAM ($221,78 \pm 148,16$) desta pesquisa tiveram um aumento de 170%, em relação aos do GCM ($97,70 \pm 63,10$). Com relação aos valores significativamente menores de VLDL nos animais do GA, de ambos os gêneros, reforçam a toxicidade do etanol ao fígado, já que o acetaldeído, um subproduto do metabolismo desta droga, pode danificar o sistema microtubular deste tecido, resultando em secreção inadequada de gordura sob a forma de VLDL, do fígado para o sangue, levando esta lipoproteína a apresentar-se com níveis baixos no sangue (Seitz e Stickel, 2006).

No que diz respeito aos baixos níveis séricos de albumina constatados no GAF, são concordantes aos registrados por Aguiar et al. (2006), em ratas que ingeriram soluções crescentes de etanol. Baixos níveis de proteínas plasmáticas, como a albumina, podem indicar uma possível depleção protéica visceral e injúria hepática, uma vez que esta proteína é, inclusive, utilizada no cálculo do escore de gravidade da insuficiência hepática (Pugh et al., 1973).

O efeito tóxico da aguardente sobre o tecido hepático, caracterizado pela presença de esteatose e de áreas de necrose nos ratos de ambos os gêneros, está em consonância com Keegan et al. (1995), que constataram alterações histológicas de esteatose e inflamação e necrose dos hepatócitos em ratos que ingeriram solução hidroalcoólica (40%v/v). Vários são os fatores envolvidos na gênese da esteatose alcoólica: acentuada síntese de ácidos graxos livres, diminuição da funcionalidade mitocondrial atribuída à injúria provocada pelo etanol, resultando em decréscimo na β oxidação e eliminação de gordura e produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), com consecutiva peroxidação lipídica e lesão celular. Outro fator importante na patogenia desta doença é a secreção de citocinas a partir de células de Kupffer hepáticas, induzida pelo influxo de endotoxinas do intestino para o fígado (Seitz e Stickel, 2006). Diversas citocinas, incluindo interleucinas 1 e 6 (IL1, IL6), fator de crescimento $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) são liberados (McClain et

al., 2005), tendo o TNF- α e IL1 efeitos citotóxicos contra hepatócitos, levando à necrose, enquanto que a TGF β 1 ativa a fibrogênese hepática.

Em síntese, a aguardente de cana de açúcar, pelo seu alto teor de etanol, é uma bebida complexa, e os danos decorrentes de sua ingestão podem variar, na dependência do gênero, conforme observado no presente estudo. Embora não tenha interferido sobre o consumo alimentar de ambos os gêneros, a aguardente exerceu um efeito tóxico sobre o fígado, com repercussões sobre o perfil bioquímico dos animais, que pode proporcionar o desencadeamento de diversas patologias.

RECONHECIMENTOS

Ao Laboratório da Unidade de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), à bibliotecária Maria Cristina Malta, pela revisão linguística e documental do trabalho, ao Dr. Ediones França, veterinário do Biotério Central do Departamento de Nutrição e ao técnico José Paulino Ventura, pela colaboração no manuseio dos animais.

REFERÊNCIAS

- ADDOLORATO G, LEGGIO L, ABENAVOLI L, GASBARRINI G (2005) Neurobiochemical and clinical aspects of craving in alcohol addiction: a review. *Addict Behav* 30: 1209 – 1224.
- AGUIAR AS, BOAVENTURA GT, MALHEIROS LR, DA-SILVA VA (2006) Behavioral toxicity of increasing doses of ethanol in malnourished rats. *Nutr Neurosc* 9: 113-119.
- AGUIAR AS, DA-SILVA VA, BOAVENTURA GT (2004) Can calories from ethanol contribute to body weight preservation by malnourished rats? *Braz J Med Biol Res* 37: 841-846.
- BODE C, BODE C (1997) Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders. *Alcohol Health Res World* 21:76-83.
- BRZÓSKA MM, MONIUSZKO-JAKONIUK J, PILATMARCINKIEWICZ B, SAWICKI B (2003) Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol Alcohol* 38: 2-10.
- BURGOS MGPA, BION F M (2005) Bebidas alcoólicas durante a lactação e seus efeitos na nutrição e metabolismo: estudo em ratos. *Rev Bras Saúde Mat Infant* 5: 247-248.
- CAHILL A, HERSHMAN S, DAVIES A, SYKORA P (2005) Ethanol feeding enhances age-related deterioration of the rat hepatic mitochondrion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289: G1115-G1123.
- CARLINI FA, GALDURÓZ JCF, NOTO AR, NAPPO SA (2002) I levantamento domiciliar sobre o uso de drogas no Brasil – 2001. Brasília: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas - Departamento de Psicobiologia da Escola Paulista de Medicina, Secretaria Nacional Antidrogas).
- CASTILLO B A A, MARZIALE, MHP, CASTILLO, MMA, FACUNDO FRG, MEZA MVG (2008) Stressful situations in life, use and abuse of alcohol and drugs by elderly in Monterrey, Mexico. *Rev Latino-Am Enferm* 16: 509-516.
- GALDURÓZ JCF, CAETANO R (2004) Epidemiologia do uso de álcool no Brasil. *Rev Bras Psiq* 26:3-6.

HULSE GK Alcohol, drugs and much more in later life (2002) *Rev Bras Psiquiatr* 24 (S1): S34-S41.

INSTITUTO ADOLF LUTZ (2005) Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ªed. São Paulo, v.1.

ITO DT, MOLINA HM, ANDRIOLO A, BORGES DR (2007) The combination of atorvastatin and ethanol is not more hepatotoxic to rats than the administration of each drug alone. *Br J Med Biol Res* 40: 343-348.

KANG L, SEBASTIAN BM, PRITCHARD MT, PRATT BT, PREVIS SF, NAGY LE (2007) Chronic ethanol-induced insulin resistance is associated with macrophage infiltration into adipose tissue and altered expression of adipocytokines. *Alcohol Clin Exp Res* 31:1581-1588.

KEEGAN A, MARTINI R, BATEY R (1995) Ethanol-related liver injury in the rat a model of steatosis, and pericentral fibrosis inflammation. *J Hepatol* 23: 591-600.

LANCASTER FE, SPIEGEL KS (1992) Sex difference in pattern of drinking. *Alcohol* 9:415-420.

LIEBER CS (1994) Alcohol and liver. *Gastroenterol* 106: 1085-1105.

LÓPEZ R (2004) Cachaça amplia potencial de consumo no mercado externo. Engarrafador Mod 18-24. Disponível em: <http://www.engarrafadormoderno.com.br/arquivo/110dr.pdf> Acesso em: 10 set. 2009.

MARMILLOT P, MUNOZ J, PATE S, GARIGE M, ROSSE RB, LAKSHMAN MR (2007) Long-term ethanol consumption impairs reverse cholesterol transport function of high-density lipoproteins by depleting high-density lipoprotein spingomyelin both in rats and in humans. *Metab Clin Exp* 56: 947-953.

MCCLAIN C, BARYE S, JOSHI-BARVE S, SONG Z, DEACIUC I, CHEN T, HILL D (2005) Dyregulated cytokine metabolism, altered hepatic methionine metabolism and proteasome dysfunction in alcoholic liver disease. *Alcohol ClinExp Res* 29 (S11):180S–8S.

MEZADRI TJ, TOMÁZ VA, AMARAL VLL (2004) Animais de laboratório: cuidados na iniciação experimental. (Florianópolis)

MEZEY E (1991) Interaction between alcohol and nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 11: 340-348.

MOBARHAN S, SEITZ HK, RUSSELL RM, MEHTA R, HUPERT J, FRIEDMAN H, LAYDEN TJ, MEYDANI M, LANGENBERG P (1991) Age-related effects of chronic ethanol intake on vitamin A status in Fisher 344 rats. *J Nutr* 121: 510-517.

MORAES F V (2001) Como controlar a qualidade da cachaça. *Engarrafador Mod10*: 24-29.

ORANGE LG, BION FM, LIMA CR (2009) Effects of different concentrations of sugarcane alcohol on food intake and nutritional status of male and female periadolescent rats. *Alcohol* 43: 137-146.

PETERS T, BIAMON GT, DOUMAS BT (1982) Albumin in serum. In: FAULKNER WR, MEITES E (eds) *Selected methods of clinical chemistry*. Washington: AACC. v.9, p.319.

PUGH RNH, MURRAY-LYON IM, DAWSON JL, PIETRONI MV, WILLIAMS R (1973) Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 60: 646-649.

PUZZIFERRI I, SIGNORILE A, GUERRIERI F, PAPA F, CUOMO V, STEARDO L (2000) Chronic low dose ethanol intake: biochemical characterization of liver mitochondria in rats. *Life Sci* 66: 477-484.

RAUTELA GS, LIEDTKE RJ (1978) Automated enzymic measurement of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 24: 108-114.

SEITZ HK, STICKEL F (2006) Risk factors and mechanism of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress. *Biol Chem* 387:349–360

SFORCIN JM, MONTEIRO CMR, LOPES CEF, SAPATERA AC, FERREIRA WJN (1997) Perfil bioquímico e análise morfológica do ovário de ratas submetidas a consumo prolongado de álcool. *Rev Ciênc Bioméd* 18: 69-81.

SOLDERA M, DALGALARRONDO P, CORRÊA-FILHO HR, SILVA CAM (2004) Uso pesado de álcool por estudantes dos ensinos fundamental e médio de escolas centrais e periféricas de Campinas (SP): prevalência e fatores associados. *Rev Bras Psiquiatr* 26: 174-179.

STIPP MAC, ASSIS LS, LEITE JL, ANDRADE MP, CUNHA NM, SIMÕES RD (2007) O Consumo do álcool e as doenças cardiovasculares – uma análise sob o olhar da enfermagem. *Esc Anna Nery Rev Enferm* 11 (4): 581 – 585.

STRBÁK V, BENICKÝ J, MACHO L, JEZOVÁ D, NIKODÉMOVÁ M (1998) Four-week ethanol intake decrease food intake and body weight but does not affect plasma leptin, corticosterone, and insulin levels in pubertal rats. *Metabolism* 47: 1269-1277.

TRINDER P (1969) *Ann Clin Bioch* 6: 24.

WOODS JM, DRUSE MJ (1996) Effects of chronic ethanol consumption and aging on dopamine, serotonin, and metabolites. *J Neurochem* 66: 2168-2178.

ZAR JH (1999) *Biostatistical Analysis*, 4^a ed., New Jersey: Prentice Hall.

TABELA I

Composição da dieta experimental

Constituintes (g)	Quantidade	Proteínas (g)	Carboidratos (g)	Lipídios (g)
Feijão ^a	10.00	2.28 ^c	6.19 ^c	0.14 ^c
Arroz ^a	8.00	0.61 ^c	7.06 ^c	0.01 ^c
Frango ^a	10.00	7.88 ^c	1.25 ^c	0.43 ^c
Óleo de soja ^b	4.00	-	-	4.00
Farinha de mandioca ^b	68.00 ^c	0.95 ^c	56.00 ^c	0.06 ^c
Total (g)	100.00	11.72	71.10	4.58
Kcal/100 g	372.50	46.88	28.40	41.22

Mistura baseada na ingestão alimentar da população do Nordeste brasileiro, composta por: 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 O feijão, o arroz e o frango foram cozidos em água, separadamente, durante duas horas, posteriormente dessecados em estufa (60°C), por 12h, e pulverizados em moinho (Floor Grind – Chuo Boeki Kaisha), para obtenção das respectivas farinhas. ^bObtido no comércio local. ^cDeterminações realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos - UFPE, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005).

TABELA II

Consumo alimentar de ratos em envelhecimento ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, segundo o gênero e o tempo de avaliação

Gênero	Tempo de avaliação (semana)	Grupo		Valor de p**
		GC (g)	GA (g)	
		(Média ± DP)	(Média ± DP)	
• Macho	1 ^(A)	92.64 ± 4.06	94.35 ± 3.82	p ⁽¹⁾ = 0.480
	2 ^(B)	140.04 ± 7.46	137.36 ± 9.67	p ⁽²⁾ < 0.001*
	3 ^(B)	138.78 ± 20.68	138.15 ± 29.64	p ⁽³⁾ < 0.001*
	4 ^(C)	119.40 ± 21.42	123.33 ± 29.93	p ⁽⁴⁾ = 0.452
	5 ^(D)	171.92 ± 11.15	170.40 ± 3.84	p ⁽⁵⁾ = 0.740
• Fêmea	1 ^(A)	67.72 ± 12.61	69.80 ± 24.10	p ⁽⁶⁾ = 0.073
	2 ^(B)	118.57 ± 14.82	114.17 ± 25.42	p ⁽⁷⁾ = 0.492
	3 ^(B)	115.64 ± 16.62	113.82 ± 21.38	
	4 ^(C)	110.40 ± 35.59	92.05 ± 20.53	
	5 ^(D)	168.67 ± 4.80	165.22 ± 7.35	

GC: grupo controle; GA: grupo aguardente.

(*): Diferença significativa a 5.0%.

(1): Para a comparação entre os grupos, através do teste F (Anova).

(2): Para a comparação entre os gêneros, através do teste F (Anova).

(3): Para a comparação entre os tempos através do teste F (Anova).

(4): Para a hipótese da interação grupo x gênero.

(5): Para a hipótese da interação grupo x tempo de avaliação.

(6): Para a hipótese da interação gênero x tempo de avaliação.

(7): Para a hipótese da interação grupo x gênero x tempo de avaliação.

Obs.: Se todas as letras entre parênteses são distintas comprova-se diferença significativa entre os tempos de avaliação correspondentes, através das comparações pareadas de Bonferroni.

(**): Através da Anova com 3 fatores.

Tabela III

Peso corporal de ratos em envelhecimento ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, segundo o gênero e o tempo de avaliação

Tempo de avaliação (semana)	<i>Grupo</i>		
	Gênero	GC (g) (Média ± DP)	GA (g) (Média ± DP)
• 0	Macho	528.43 ± 55.54	544.14 ± 36.33
	Fêmea	289.11 ± 28.13	298.90 ± 32.35
	Valor de p	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ < 0.001*
• 1	Macho	525.19 ± 52.32	527.09 ± 39.68
	Fêmea	297.10 ± 28.76	310.72 ± 31.57
	Valor de p	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ < 0.001*
• 2	Macho	540.62 ± 58.62	540.68 ± 31.65
	Fêmea	309.70 ± 32.35	319.89 ± 35.41
	Valor de p	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ < 0.001*
• 3	Macho	538.59 ± 45.67	546.69 ± 49.11
	Fêmea	320.05 ± 35.97	329.65 ± 38.89
	Valor de p	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ < 0.001*
• 4	Macho	534.34 ± 63.00	535.73 ± 81.72
	Fêmea	314.62 ± 45.55	324.24 ± 40.05
	Valor de p	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽²⁾ < 0.001*
• 5	Macho	527.15 ± 61.62	525.70 ± 101.23
	Fêmea	313.82 ± 51.77	322.54 ± 38.51
	Valor de p	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽²⁾ = 0.002*

GC: grupo controle; GA: grupo aguardente.

(*): Diferença significativa a 5.0%.

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

(2): Através do teste Mann-Whitney.

TABELA IV

Ingestão de líquidos (água e/ou aguardente de cana-de-açúcar) por ratos em envelhecimento, segundo o gênero e o tempo de avaliação

Gênero	Tempo de avaliação (semana)	Grupo			
		GC (ml)	GA Água (ml)	GA Aguardente (ml)	Valor de p
		(Média ± DP)	(Média ± DP)		
• Macho	1	40.22 ± 6.10 ^(A)	37.99 ± 7.22	p ⁽¹⁾ = 0.467	31.12 ± 10.11
	2	48.21 ± 10.21 ^(B)	42.66 ± 9.70	p ⁽¹⁾ = 0.229	29.51 ± 11.39
	3	42.82 ± 11.60 ^(AB)	38.29 ± 8.08	p ⁽¹⁾ = 0.325	23.97 ± 9.65
	4	37.61 ± 7.26 ^(A)	34.05 ± 8.94	p ⁽¹⁾ = 0.340	21.49 ± 12.70
	5	41.14 ± 9.60 ^(AB)	36.12 ± 10.35	p ⁽¹⁾ = 0.276	26.36 ± 8.36
	Valor de p	p ⁽³⁾ = 0.021*	p ⁽³⁾ = 0.068		p ⁽²⁾ = 0.218
• Fêmea	1	24.97 ± 4.37 ^(AB)	27.48 ± 8.84 ^(AB)	p ⁽¹⁾ = 0.432	18.14 ± 3.74
	2	31.20 ± 6.30 ^(AC)	20.76 ± 4.16 ^(A)	p ⁽²⁾ < 0.001*	17.64 ± 4.20
	3	32.27 ± 5.60 ^(C)	30.81 ± 8.21 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0.647	15.12 ± 3.86
	4	23.24 ± 4.95 ^(B)	21.32 ± 6.52 ^(A)	p ⁽¹⁾ = 0.470	15.08 ± 5.69
	5	24.42 ± 4.14 ^(B)	24.16 ± 7.95 ^(AB)	p ⁽²⁾ = 0.315	16.28 ± 7.82
	Valor de p	p ⁽³⁾ < 0.001*	p ⁽³⁾ = 0.005*		p ⁽²⁾ = 0.391
	p _I	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ = 0.009*		p ⁽¹⁾ = 0.003*
	p _{II}	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽²⁾ < 0.001*		p ⁽¹⁾ = 0.010*
	p _{III}	p ⁽¹⁾ = 0.018*	p ⁽¹⁾ = 0.055		p ⁽¹⁾ = 0.020*
	p _{IV}	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽¹⁾ = 0.002*		p ⁽²⁾ = 0.151
	p _V	p ⁽¹⁾ < 0.001*	p ⁽²⁾ = 0.009*		p ⁽²⁾ = 0.003*

GC: grupo controle; GA: grupo aguardente.

(*): Diferença significativa a 5.0%.

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais, para comparação entre os grupos, em cada tempo de avaliação e cada gênero.

(2): Através do teste de Mann-Whitney, para comparação entre os grupos em cada tempo de avaliação e cada sexo.

(3): Através do teste F(Anova) para medidas repetidas, para comparação dos tempos de avaliação.

p_I: para a comparação entre os gêneros na 1ª semana;

p_{II}: para a comparação entre os gêneros na 2ª semana;

p_{III}: para a comparação entre os gêneros na 3ª semana;

p_{IV}: para a comparação entre os gêneros na 4ª semana;

p_V: para a comparação entre os gêneros na 5ª semana;

Obs.: Se todas as letras entre parênteses são distintas comprova-se diferença significativa entre os tempos de avaliação correspondentes, através das comparações pareadas de Bonferroni.

TABELA V

Índices bioquímicos de ratos em envelhecimento ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, segundo o gênero

Variáveis	Gênero	Grupo		Valor de p
		GC (mg/dL) (Média ± DP)	GA (mg/dL) (Média ± DP)	
• Glicose	Macho	44.80 ± 8.24	193.89 ± 82.78	p ⁽¹⁾ < 0.001*
	Fêmea	55.50 ± 8.28	100.00 ± 41.80	p ⁽¹⁾ = 0.002*
	Valor de p	p ⁽¹⁾ = 0.015*	p ⁽¹⁾ = 0.001*	
• CT ^a	Macho	82.00 ± 14.76	221,78 ± 148.16	p ⁽²⁾ = 0.022*
	Fêmea	84.00 ± 6.58	97.70 ± 63.10	p ⁽¹⁾ = 0.218
	Valor de p	p ⁽¹⁾ = 0.053	p ⁽²⁾ = 0.041*	
• HDL ^b	Macho	20.10 ± 3.67	42.39 ± 25.77	p ⁽¹⁾ = 0.243
	Fêmea	21.30 ± 4.76	20.60 ± 12.88	p ⁽¹⁾ = 0.393
	Valor de p	p ⁽¹⁾ = 0.079	p ⁽²⁾ = 0.042*	
• VLDL ^c	Macho	18.50 ± 2.64	9.60 ± 3.46	p ⁽³⁾ < 0.001*
	Fêmea	12.96 ± 1.45	10.74 ± 2.51	p ⁽³⁾ = 0.029*
	Valor de p	p ⁽³⁾ < 0.001*	p ⁽³⁾ = 0.419	
• LDL ^d	Macho	43.40 ± 12.92	81.64 ± 82.93	p ⁽¹⁾ = 0.481
	Fêmea	49.74 ± 5.97	64.34 ± 45.65	p ⁽²⁾ = 0.341
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0.183	p ⁽¹⁾ = 0.905	
• TG ^e	Macho	92.50 ± 13.18	50.49 ± 5.81	p ⁽³⁾ < 0.001*
	Fêmea	64.80 ± 7.25	52,60 ± 13,44	p ⁽³⁾ = 0.021*
	Valor de p	p ⁽³⁾ < 0.001*	p ⁽³⁾ = 0.669	
• Albumina	Macho	3.49 ± 0.43	3.20 ± 0.43	p ⁽¹⁾ = 0.211
	Fêmea	3.83 ± 0.32	2.98 ± 0.74	p ⁽¹⁾ < 0.001*
	Valor de p	p ⁽³⁾ = 0.059	p ⁽¹⁾ = 0.356	
• CT/HDL ^f	Macho	4.15 ± 0.46	4.91 ± 0.67	p ⁽¹⁾ = 0.013*
	Fêmea	4.03 ± 0.76	4.75 ± 0.77	p ⁽³⁾ = 0.051
	Valor de p	p ⁽³⁾ = 0.579	p ⁽¹⁾ = 0.400	

GC: grupo controle; GA: grupo aguardente. ^aColesterol. ^bLipoproteína de alta densidade. ^cLipoproteína de muito baixa densidade. ^dLipoproteína de baixa densidade. ^eTriglicerídeos. ^fRelação colesterol e lipoproteína de alta densidade. (*): Diferença significativa a 5.0%. (1): Através do teste de Mann-Whitney. (2): Através do teste t-Student com variâncias desiguais.(3): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

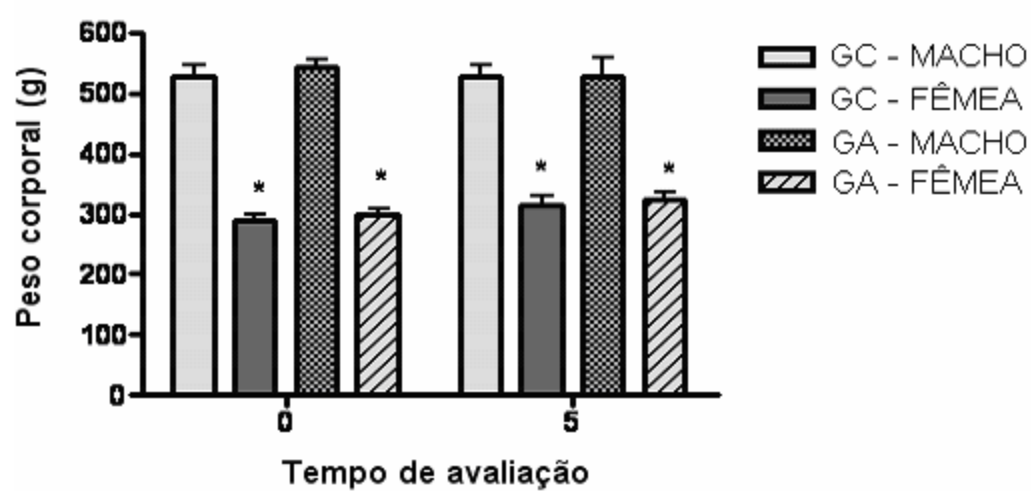


FIGURA 1

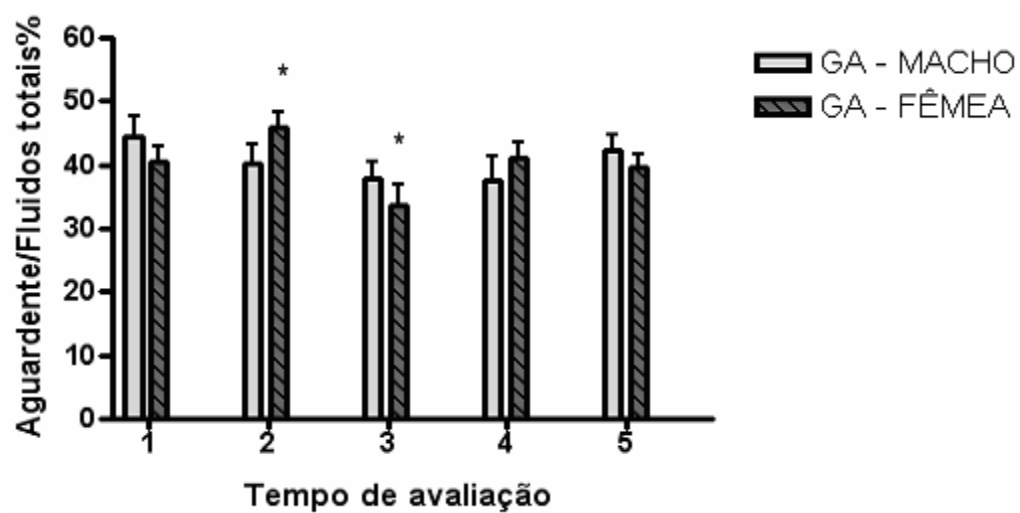


FIGURA 2

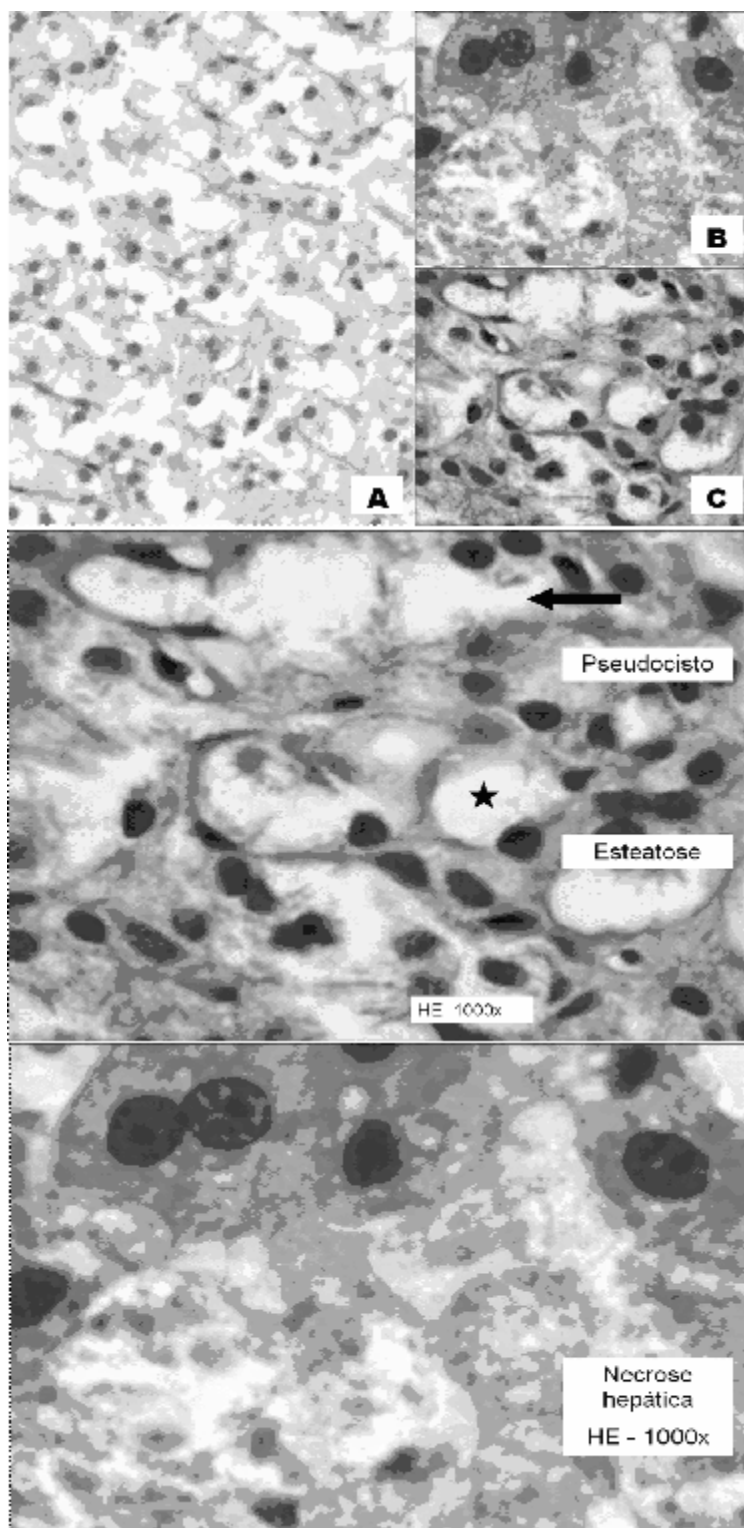


FIGURA 3

LEGENDA DAS FIGURA

Figura 1 – Ganho em peso de ratos em envelhecimento ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, segundo o gênero e o tempo de avaliação. GC: grupo controle; GA: grupo aguardente.

(*) Diferença significativa a 5,0%, através do teste t-Student ($p < 0,05$).

LEGENDA DAS FIGURA

Figura 2 – Preferência por aguardente de cana-de-açúcar em relação aos líquidos totais de ratos em envelhecimento, segundo o gênero e o tempo de avaliação.

(*) Diferença significativa a 5,0%, através do teste t-Student com variâncias iguais e do teste F(Anova) para medidas repetidas.

LEGENDA DAS FIGURA

Figura 3 - Cortes histológicos hepáticos corados pela HE. Animais do GA: grupo aguardente. Esteatose grave com pseudocistos 400x (A). Nos detalhes área de necrose (B) e Hepatócitos esteatóticos (C) 1000x.

**ARTIGO 2 – EFEITOS DA AGUARDENTE DE CANA-DE-
AÇÚCAR NO STATUS NUTRICIONAL E LIPEMIA DE
RATOS DE AMBOS OS GÊNEROS, EM FUNÇÃO DA IDADE**

PÁGINA DE TÍTULO E AUTOR

Título do trabalho: “Efeitos da aguardente de cana-de-açúcar no status nutricional e lipemia de ratos de ambos os gêneros, em função da idade”.

Autores:

*CYBELLE ROLIM LIMA¹

FRANCISCA MARTINS BION²

LUCIANA GONÇALVES DE ORANGE¹

PEDRITA MIRELLA ALBUQUERQUE QUEIROZ²

FABIOLA KARINE ARRUDA XAVIER PONZI²

NONETE BARBOSA GUERRA³

¹ Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória , Núcleo de Nutrição, CEP: 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco – Brasil;

² Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição - Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco – Brasil;

³ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição – Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco – Brasil;

Este estudo foi conduzido no Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Brasil.

***Autor correspondente:** Departamento de Nutrição, Laboratório de Nutrição Experimental (LNE), CCS, UFPE, Av. Professor Moraes Rego, s/n, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife/PE, Brasil. Tel.: +55 81 2126 8470; fax: +55 81 2126 8473.

E-mail address: cybellerolim@yahoo.com.br (C. Rolim de Lima)

RESUMO

Os efeitos da ingestão de aguardente de cana-de-açúcar no status nutricional e na lipemia, em função da idade, foi estudado em ratos *Wistar* de ambos os gêneros, com 12/18 meses de idade, randomizados em quatro grupos de 10 animais: água-controle (GC) (GCF – grupo controle de fêmeas e GCM – grupo controle de machos) e GA – grupo aguardente (GAF – grupo aguardente de fêmeas e GAM - grupo aguardente de machos). Os animais foram alimentados, de forma exclusiva, com uma mistura de alimentos baseada na dieta da população do Nordeste brasileiro, com livre acesso à água e/ou aguardente, durante o período experimental (5 semanas). Foram avaliados o consumo alimentar, a ingestão de líquidos, o peso corporal e, ao final do experimento, o peso do fígado e os índices lipídicos (colesterol, lipoproteína de alta e de baixa densidade, relação colesterol/ lipoproteína de alta densidade, lipoproteína de muito baixa densidade e triglicérides. A ingestão calórica total foi maior no GA, em ambas as idades e gêneros. O consumo de aguardente foi mais elevado nos machos, em ambas as idades, e a ingestão hídrica nos animais com 12 meses, em ambos os gêneros e tratamentos. Com exceção dos grupos GAF12 e GCF12, os demais apresentaram perda de peso e os animais do GAM12 apresentaram maior peso relativo do fígado. Os valores séricos de lipoproteína de alta densidade foram maiores nos animais dos GA, exceto no GAF12; entretanto, a bebida elevou a fração lipoproteína de muito baixa densidade e os triglicérides no GAF12 e no GAM18. Os achados permitem concluir que a aguardente de cana-de-açúcar, pelo seu alto teor de etanol, é uma bebida complexa, e os danos decorrentes de sua ingestão no status nutricional e lipemia de ratos podem variar, na dependência da idade e do gênero.

Palavras-chave: *Alcoolismo, aguardente, status nutricional, lipemia, envelhecimento.*

INTRODUÇÃO

O uso abusivo do álcool tornou-se um problema significativo, por seu contínuo aumento e pelos efeitos que o consumo desta droga acarreta na saúde e qualidade de vida da população idosa. Existem mais de 3 milhões de alcoolistas com ≥ 60 anos de idade, nos Estados Unidos (Gupta, 1993), com estimativa alarmante de crescimento de 21% dessa população, em 2030 (Rigo et al., 2005).

Pesquisas demonstram maior vulnerabilidade ao uso do álcool por idosos do que por jovens (Bucholz; Sheline; Helzer, 1995; Smith, 1995; Castillo et al., 2008). Ao envelhecer, o indivíduo pode se tornar mais sensível à intoxicação alcoólica com doses que, no passado, eram bem toleradas (Hulse, 2002), em virtude das mudanças físicas e cognitivas que acompanham o envelhecimento (Gupta, 1993), o que torna o consumo de bebidas alcoólicas concomitante ao avançar da idade um fator de risco à saúde. Os efeitos do etanol nos idosos podem ser acentuados pela farmacocinética alterada, diminuição da água corporal total, e pela ocorrência de outros problemas de saúde (Egbert, 1993).

O consumo crônico de álcool em indivíduos ≥ 65 anos de idade está correlacionado com taxas significativamente maiores de acidentes vasculares cerebrais, hipertensão, dislipidemia, disfunção cognitiva, fraqueza, sonolência diurna, úlcera péptica, insônia, diarreia e incontinência urinária (Kaplan; Sadock, 2007; Colsher; Wallace, 1990; Brower et al., 1994).

No tocante ao padrão de consumo alcoólico em idosos, por gênero, é importante destacar que, embora as mulheres sejam mais susceptíveis ao desenvolvimento do alcoolismo, os homens tendem a ter um consumo mais significativo desta droga (Glass et al., 1995; Frone; Cooper; Russel, 1994). Entretanto, independente do gênero, o consumo excessivo do álcool pode afetar o estado nutricional, incluindo redução do apetite e da absorção, metabolismo e excreção de nutrientes, ocasionando deficiência de nutrientes e prejuízos nutricionais (Lieber, 1988).

Poucos são os estudos objetivando investigar a relação etanol e idade e o impacto desta interação no estado nutricional e seus resultados são bastante controversos. Mobarhan et al. (1991) pesquisaram, em ratos machos F344 com 2 e 19 meses de idade, a interação da idade e etanol no status nutricional. Os animais receberam, por um período de 3 semanas, dieta líquida Lieber-De-Carli, acrescida de etanol. Ao final do período, embora todos os animais com 2 meses tenham ganho peso, foi observado um aumento significativamente maior nos controles; nos animais com 19 meses, a média de peso do grupo controle permaneceu estável, enquanto no grupo etanol houve uma leve, mas significativa perda de peso. Este estudo reforça a maior sensibilidade do organismo idoso à injúria alcoólica, em especial no que se refere ao status nutricional. Entretanto, Cahill et al. (2005) não constataram alteração ponderal em ratos de mesma linhagem (F344) e gênero, com idades de 2, 12 e 24 meses, tratados por igual período de tempo (3 semanas) em regime alcoólico semelhante.

Em relação à repercussão alcoólica no consumo alimentar, Woods e Druse (1996) registraram um consumo significativamente menor da dieta ($\approx 50\%$) em ratos machos com 14 meses de idade, que ingeriram, em média, 13 a 16g de etanol/kg/dia, durante 6 semanas. Este resultado ratifica o de Aguiar et al. (2004), que observaram efeito adverso na ingestão alimentar de ratos, tratados com soluções crescentes de etanol, por um período de 5 semanas.

No entanto, estudo posterior realizado pelo nosso grupo mostrou que soluções hidroalcoólicas de aguardente de cana-de-açúcar de diferentes concentrações exerciam efeito positivo sobre o consumo alimentar de ratos (Orange; Bion; Lima, 2009).

O etanol é uma droga especial por produzir energia em seu metabolismo (7,1kcal/g), sendo uma fonte calórica considerável, em comparação aos carboidratos e proteínas (4kcal/g) e lipídios (9kcal/g). Entretanto, suas calorias são consideradas “vazias”, classificação esta ainda não suficientemente esclarecida na literatura. Os autores a explicam ora pela ausência de nutrientes nas bebidas alcoólicas, ora pela dissipação destas calorias pelo calor resultante do metabolismo do etanol no organismo (Lands, 1993). Estudos realizados desde o início do século XX tentam responder se essas calorias são realmente perdidas ou utilizadas pelo organismo para ganho de peso. Entretanto, os resultados são bastante conflitantes, o que evidencia a necessidade de maiores investigações sobre o tema.

No que concerne ao consumo de bebidas alcoólicas por país, o Brasil é um dos maiores consumidores do mundo e ocupa o 1º lugar no consumo de bebidas fermento-destilladas, destacando-se a aguardente de cana-de-açúcar, com um consumo médio *per capita* em torno de 12,0 L/ano (Galduróz; Caetano, 2004). A aguardente de cana-de-açúcar (cachaça), cuja graduação alcoólica está entre 38 % e 48% em volume a 20°C, é obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Apresenta características sensoriais peculiares, podendo ser adicionada de açúcares até 6g/L⁻¹, expressos em sacarose. Quando esta adição é superior a 6g/L⁻¹ e inferior a 30g/L⁻¹, a bebida passa a ser denominada cachaça adoçada (López, 2004).

Neste contexto, nossa hipótese é que a aguardente de cana-de-açúcar altera o status nutricional e o perfil lipídico de ratos de ambos os gêneros, em processo de envelhecimento; sendo objetivo do presente estudo avaliar os efeitos da ingestão crônica da bebida alcoólica sobre o status nutricional e a lipemia de ratos de ambos os gêneros, em função da idade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 80 ratos de ambos os gêneros, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade Albinus), com 12 e 18 meses de idade, provenientes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Durante todo o período experimental os animais permaneceram em gaiolas individuais, em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas, dotado de sistema de exaustão, temperatura controlada ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), segundo recomendação ética do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea).

Os ratos com 12 meses de idade (N=40) foram randomizados em quatro grupos de 10, de acordo com o tratamento: água-controle (GC), sendo GCF12 – grupo controle de fêmeas e GCM12 – grupo controle de machos; e os dois outros grupos GA – grupo aguardente, sendo GAF12 – grupo aguardente de fêmeas e GAM12 – grupo aguardente de machos. Os animais com 18 meses (N=40), de ambos os gêneros, foram também randomizados em quatro grupos de 10, seguindo o procedimento anteriormente descrito (GCF18, GCM18, GAM18, GAF18).

O protocolo experimental foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (Ceea) do Centro de Ciências Biológicas, UFPE (processo nº: 23076.002080/2008-15).

Regime alimentar

Todos os grupos foram alimentados, de forma exclusiva, sob o sistema de livre acesso, com uma mistura baseada na ingestão alimentar da população do Nordeste brasileiro, tendo esta dieta sido anteriormente descrita e utilizada em estudos prévios do nosso grupo (Burgos et al., 2002; Orange, Bion, Lima, 2009). A composição dos alimentos foi determinada segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz – IAL (2005) (Tabela 1). O

consumo da dieta foi monitorado semanalmente e a ingestão alimentar considerada como a diferença entre a quota oferecida e a rejeitada.

Oferta de líquidos

Os animais do GA receberam os líquidos, água e aguardente de cana-de-açúcar adoçada (cachaça adoçada) em bebedouros distintos, enquanto os do GC receberam água, ambos os grupos *ad libitum*, por um período de 5 semanas. A ingestão hídrica e etílica que correspondeu à quantidade (ml) de água e aguardente ingeridas diariamente, pelo animal, correspondeu à diferença entre o volume de água/bebida alcoólica oferecida e o rejeitado, registrados 24 horas após a oferta. Obteve-se o consumo etílico pela relação g de etanol/ kg de peso corporal/ dia.

Para o cálculo do conteúdo calórico proveniente do etanol, obteve-se o volume em mililitro de etanol ingerido pelo animal, de acordo com o percentual na bebida (40% – aguardente de cana-de-açúcar); posteriormente, o valor foi corrigido pela constante de densidade do etanol (0,8), para obtenção da quantidade de etanol em gramas; por fim, multiplicou-se este valor por 7,1 (kcal/grama de etanol) (Aguiar; Silva; Boaventura, 2007).

Os alimentos constituintes da mistura alimentar, assim como a bebida alcoólica, foram adquiridos de uma única vez, no comércio local.

Peso corporal

O peso corporal foi aferido em balança de precisão elétrica, capacidade para 2.6/oz, sendo o ganho de peso total constituído pela diferença entre o peso no início (12/18 meses) e no final do tratamento.

Sacrifício dos animais e análise bioquímica

Ao final do período experimental, os animais, em jejum de 12 horas, foram pesados e posteriormente sacrificados sob anestesia (Cloridrato de Ketamina e Cloridrato de Xilasina). Em sequência, foram submetidos a punção cardíaca, para coleta das amostras de sangue para determinação do perfil lipídico, utilizando de kits comerciais, obedecendo protocolos-padrão de acordo com as instruções dos fabricantes. O sangue coletado foi submetido aos seguintes métodos: colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) (Método enzimático), frações lipoproteicas: de alta densidade (HDL-C) (Polietilenoglicol), de muito baixa densidade (VLDL-C) e de baixa densidade (LDL-C).

Índice do peso relativo do fígado

O peso relativo do fígado (PRF) correspondeu ao quociente entre o peso do animal e o peso total do órgão. Este artifício foi utilizado para verificar se o tratamento com a aguardente acarretou aumento ou diminuição da massa hepática. A pesagem foi feita em balança de precisão elétrica, marca Ohaus, capacidade para 2.6/oz

Análise estatística

Foram calculadas a média e o desvio padrão (Técnicas de Estatística Descritiva) e utilizados os testes estatísticos: F (Anova), com três fatores e dois fatores, este último no caso das variáveis observadas apenas no GA (Técnicas de estatística inferencial).

Para avaliar a influência dos fatores foi utilizado um modelo completo e, no caso de interação significativa, foram comparados todos os pares de subgrupos formados pela combinação dos níveis (categorias) dos fatores. As comparações foram realizadas pelo teste de Tukey, quando verificada a homogeneidade das variâncias; Tamhane's T2, quando não

verificada a hipótese de homogeneidade de variâncias; e LSD (Least significance difference), quando o teste F não mostrou coerência com os resultados das comparações pareadas.

O nível de significância na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%. O “software” estatístico para a obtenção dos cálculos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 15.

RESULTADOS

Em relação à ingestão calórica diária, observa-se na tabela 2, que o consumo da dieta foi significativamente maior ($p < 0,013$) nos machos, para os animais com 18 meses de idade independente do tratamento. Houve interação idade x gênero ($P = 0,001$) tendo o GCF12 diferido do GCM18; e para idade x tratamento ($P = 0,001$), na qual o GCM12 diferiu dos GAM12 e GCM18.

Para a variável ETOH- (kcal/dia) constatou-se diferença ($P < 0,001$) entre os gêneros, sendo significativamente maior nos machos, em ambas as idades (Tabela 2).

A ingestão calórica total foi significativamente maior ($P < 0,001$) no GA em relação ao GC, em ambas as idades e gêneros, bem como nos machos, em ambas as idades e tratamento, à exceção do GCM12, que ingeriu menos calorias totais que o GCF12. A maioria das interações se mostrou significativa: idade e tratamento ($P = 0,001$), tendo o GAM12 e o GAM18 diferido dos seus respectivos controles; gênero e tratamento ($P = 0,035$), tendo o GCM12 diferido do GAF12; idade x gênero x tratamento ($P = 0,023$), na qual o GCM12 diferiu de todos os grupos, exceto do GCF12 e GCF18.

Para as demais variáveis (ID-%GC; ETOH - %kcal/dia e TCI-%GC) se comprovou diferença significativa ($P < 0,001$; $P < 0,005$; $P < 0,044$) respectivamente, entre as idades, sendo as médias superiores nos animais com 12 meses (Tabela 2).

A ingestão hídrica foi maior nos animais com 12 meses, em ambos os gêneros e tratamentos; nos machos, em ambas as idades e tratamentos, e ainda nos animais do GC em relação aos do GA. Já o consumo de aguardente foi mais elevado nos machos, em ambas as idades, e a razão da preferência dos animais pela bebida, em relação à água, foi maior nos ratos com 18 meses, em ambos os gêneros (Tabela 3).

Quanto ao ganho de peso, com exceção dos grupos GAF12 e GCF12, os demais apresentaram perda de peso, sendo a maior registrada no GAM18 (11%), seguida do GAF18 (6%), enquanto o GCF12 apresentou maior ganho de peso (8,5%), seguida do GAF12 (8%). Diferença significativa ocorreu entre o GAF12 e os demais grupos, exceto o GCF12 e o GCF18; esta mesma diferença foi evidenciada entre o GCF12 e o GAM18 e GCM12, e entre o GAM12 e o GAF12, e ainda entre o GAM18 e o GCF12.

As médias de peso dos fígados dos machos foram significativamente superiores ($p < 0,001$) aos das fêmeas, nas duas idades e tratamentos (Figura 1), tendo a ingestão de aguardente no GAM12 resultado em um aumento de 17% no peso do fígado. Na avaliação do PRF foi evidenciado que os machos de ambas as idades e tratamento apresentaram pesos significativamente maiores ($p < 0,011$) do que as fêmeas, com exceção do GC12; tendo sido ainda observado que os animais do GAM12 apresentaram significativamente maior PRF ($p < 0,004$). Foi constatada interação entre os três fatores: idade x gênero x tratamento, tendo o GAM12 apresentado PRF significativamente maior ($p = 0,013$) que os animais do GAF12, GCF12, GCM12 e GCF18; este último apresentou um PRF significativamente menor que todos os grupos, exceto o GAF12 e o GCM18.

A tabela 4 apresenta as dosagens séricas de lipídios, verificando-se que os valores do CT e a relação CT/HDL foram maiores nos animais do GA em relação aos seus respectivos controles, em ambas as idades e gêneros, e nos machos, em ambas as idades e tratamento. A relação CT/HDL foi maior para os machos em ambas as idades e tratamento, sendo o maior

valor registrado no GAM12 ($4,91 \pm 0,67$). Com relação às lipoproteínas, para o HDL-C os valores foram maiores no GAM12 ($42,39 \pm 25,77$), tendo sido constatada diferenças estatisticamente significativa entre o este e os demais grupos em relação às interações idade x gênero ($p = 0,046$), gênero x tratamento ($p = 0,011$) e idade x gênero x tratamento ($p = 0,029$). Em relação ao VLDL-C houve diferenças estatisticamente significativa entre o GAF12 e o GAF18 em relação à interação idade x gênero ($p < 0,001$), tendo o GAF12 apresentado maior valor, e entre o GAF12 e os demais grupos, exceto o GAM18, em relação à interação idade x gênero x tratamento ($p < 0,001$). O nível sérico mais elevado para o TG foi registrado no FAG12 e o menor no MAG12, tendo havido diferenças estatisticamente significativa entre o GAF12 e o GAM12 em relação à interação idade x gênero ($p < 0,001$), e entre o GAF12 e os demais grupos, exceto o GAM18, em relação à interação idade x gênero x tratamento ($p < 0,001$).

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a ingestão de aguardente de cana-de-açúcar não alterou independentemente da idade e do gênero, o consumo de dieta dos ratos; no entanto, repercutiu de forma diferenciada no peso corporal dos animais. Estes achados, provenientes da exposição crônica à bebida de ratos em envelhecimento, de ambos os gêneros, não demonstraram o efeito anoréxico esperado, como observado por Woods e Druse (1996) em ratos com 14 meses, tratados com solução hidroalcoólica a 6%, durante 6 semanas. Semelhantemente, Larue-Achagiotis, Poussard e Louis-Sylvestre (1990) constataram uma redução no consumo alimentar de ratos ingerindo soluções de etanol a 10%.

Entretanto, relatos recentes da literatura sugerem que o álcool suprime a liberação de neurotransmissores e neuropeptídios, como a leptina, peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) e serotonina (5HT), neuroquímicos anorexígenos, ou seja, inibidores do apetite

(Pimentel; Bressan, 2010). Concomitantemente, há fortes evidências de que o álcool pode estimular alguns peptídeos orexígenos, estimuladores do apetite, como ácido γ -aminobutírico (Gaba), opioides endógenos, neuropeptídeo Y (NPY) (Yeomans; Caton; Hetherington, 2003) e grelina (Djurovic et al., 2007; Kim et al., 2005; Konturek et al., 2004; Nicolàs et al., 2001). Desta forma, a aguardente de cana-de-açúcar, pelo seu alto teor de etanol, pode ter influenciado os diversos sistemas neuroquímicos e periféricos que se relacionam com o controle do apetite, conforme explicitado anteriormente, preservando o consumo alimentar dos animais.

Estudo prévio do nosso grupo de pesquisa corrobora com os relatos da literatura, ao registrar maior consumo alimentar por ratos tratados com soluções hidroalcoólicas de aguardente de cana-de-açúcar de diferentes concentrações (Orange; Bion; Lima, 2009).

Na determinação da ingestão de líquidos, observou-se que os machos, em ambas as idades, ingerem maior quantidade de aguardente, comportamento semelhante aos humanos, ou seja, na maioria das vezes os homens apresentam frequência e quantidade de consumo de bebidas alcoólicas superior as mulheres (Wilsnack et al., 2000). Em contrapartida, Orange, Bion e Lima (2009) e Lancaster e Spiegel (1992) registraram maior ingestão de etanol por fêmeas. Entretanto, ao ser estabelecido a ingestão de etanol por quilograma de peso corporal por dia (g/kg/dia) não foi observada diferença entre os gêneros, em ambas as idades. Valor aproximado aos registrados no presente estudo foi verificado por Aguiar et al. (2006) (24,01g/kg/dia), ao oferecerem, a ratos, solução hidroalcoólica a 40%.

A ingestão hídrica mais elevada nos machos, em ambas as idades, pode ser em parte justificada pelo maior consumo de aguardente em relação às fêmeas. O álcool modula a secreção do hormônio antidiurético (ADH), também conhecido como vasopressina, via sistema nervoso periférico ou diretamente no sistema nervoso central. A supressão deste hormônio pelo álcool resulta em perda de água superior à habitual: o organismo, para evitar a

desidratação, ativa o centro da sede, aumentando a ingestão hídrica (Naves et al., 2003). Assim, supõe-se que os animais do GA tentaram suprir a excreção renal de água, através de uma maior ingestão hídrica. O maior consumo de água pelos animais do GC em relação ao GA, em ambos os gêneros, talvez possa ser justificado, pela oferta de água e aguardente separadamente ao GA, tornando-se a aguardente mais atrativa pelo seu sabor adocicado, devido à concentração de açúcares, em detrimento da água.

Neste estudo, a maior ingestão calórica total registrada nos animais do GA, em ambas as idades e gêneros, revelou que a ingestão de aguardente propicia maior consumo calórico total, uma vez que o álcool, presente em 40% nesta bebida, fornece 7,1 kcal/g quando metabolizado. Depois da gordura, é o nutriente mais calórico (Yeomans; Caton; Hetherington, 2003). Deste modo, o hábito de consumir bebidas à base de álcool significa ingerir muitas calorias, que se somam àquelas provenientes de outros nutrientes da dieta (Marzzoco; Torres, 2007), favorecendo, um balanço energético positivo, o que pode contribuir para o aumento do peso corporal (Pimentel; Bressan, 2010; Hetherington et al, 2001). Entretanto, parece ainda não haver um consenso, na literatura, acerca da contribuição das calorias fornecidas pelo etanol para o ganho de peso corporal, tanto em animais quanto em humanos.

Convém ressaltar que, embora os animais do GA tenham apresentado maior ingestão calórica total em relação aos do GC, este comportamento não resultou em ganho de peso, exceto para o GAF12. Segundo Hellerstedt et al (1990) a perda de peso é esperada quando as calorias do etanol representam 22% do consumo calórico total. Os resultados dos animais de ambas as idades e gêneros expostos à aguardente (ETOH - %Kcal/dia: 40% – 54%), concordam com o exposto na literatura, havendo prejuízo no peso corporal dos ratos (Tabela 2).

Mobarhan et al. (1991) estudaram ratos com 19 meses, alimentados com a dieta de Lieber-de-Carli, na qual 36% das calorias eram provenientes do etanol. Os animais

apresentaram significativa perda de peso. Nossos achados corroboram os resultados desses autores, em relação à perda de peso nos animais do GA. Vale destacar que a ingestão de aguardente pode ter interferido no aproveitamento da dieta, pois, segundo Bode e Bode (1997), a toxicidade relacionada ao etanol resulta em má-digestão e/ou má-absorção dos nutrientes. E mais: embora a ingestão da bebida alcoólica tenha fornecido um aporte calórico adicional, aos animais do GA, essas calorias parecem não ser aproveitadas para o ganho de peso corporal (Lieber, 1994). Entretanto, em animais malnutridos com restrição alimentar de 50% as calorias da solução de etanol a 20% foram eficientemente utilizadas para a manutenção do peso corporal (Aguiar et al., 2006). Em estudo posterior, Aguiar et al. (2009) obtiveram resultados similares, em ratas fêmeas submetidas a solução alcoólica de menor concentração (5%), com restrição alimentar semelhante. Esses achados sugerem que as calorias provenientes do etanol podem atenuar a má-nutrição, em ratos, decorrente do suprimento energético fornecido pelo metabolismo do álcool, e ainda que o perfil tóxico desta droga depende do *status* nutricional dos animais.

Ao avaliar o efeito tóxico da aguardente sobre o tecido hepático, fica evidente a influência do etanol sobre a hepatomegalia (Figura 1). O consumo crônico de álcool está associado a um aumento no volume do hepatócito, devido a uma maior retenção de água intracelular (Israel; Orrego, 1983), diminuição na secreção de proteínas (Baraona et al., 1975) e deposição de gordura elevada (Navder; Baraona; Lieber, 1997). Os animais dos GAM12, GAM18 e GAF18 apresentaram um aumento do PRF, em relação aos controles, de 21,8%; 6,3% e 37,6%, respectivamente. Essas observações foram também relatadas por Cahill et al. (2005), em estudo em ratos com 2, 12 e 24 meses de idade, tratados com dieta líquida acrescida de etanol, por um período de 3 semanas. A ingestão de etanol resultou em um aumento de 34% no peso do fígado e na relação peso corpóreo/fígado nos animais com 2 meses. Entretanto, esses efeitos não foram observados nos animais mais velhos. A

divergência entre os estudos, em relação aos animais idosos, pode estar associada com o período de exposição à droga, mais extenso neste trabalho, à concentração alcoólica utilizada, ou ainda à quantidade da solução/bebida alcoólica ingerida pelos animais. Dados epidemiológicos do mesmo modo reforçam os argumentos a favor do efeito hepatotóxico do álcool (Mann et al., 1991; Smart, Mann, 1993).

Além do trato gastrointestinal, em especial o fígado, outro sistema cuja saúde e funcionamento podem ser prejudicados pelo uso do álcool é o cardiovascular. O consumo elevado e frequente desta droga está associado ao aumento da pressão arterial, desregulação de lípidos e triglicérides e maior risco de infarto do miocárdio e doenças cerebrovasculares. O álcool também eleva a frequência cardíaca de consumidores eventuais, aumentando o desgaste cardíaco em repouso e o consumo energético pelo miocárdio (Kaplan; Sadock, 2007). Dessa forma, a investigação bioquímica do efeito da aguardente sobre a lipemia é pertinente e relevante.

Nossos resultados demonstraram que o efeito da aguardente sobre a lipemia varia segundo o gênero e a idade dos ratos. Em relação ao CT, a aguardente exerceu efeito maléfico, tendo os animais do GA, de ambos os gêneros e idades, apresentado valores séricos elevados, quando comparados aos controles. Resultados semelhantes foram observados por Raj et al. (2009), em ratos aos quais foi administrado etanol na proporção de 0,5 gramas por quilograma de peso corporal (g/kg). Maneesh e Jayalekshmi (2005) também registraram hipercolesterolemia em ratos wistar tratados com etanol (1,6 g / kg / dia), durante 4 semanas.

Trabalho recente reforça os achados sobre o efeito hipercolesterolêmico induzido pelo uso do álcool. Wang, Yao e Song (2010) observaram, em ratos Sprague-Dawley, alimentados por 4 semanas com dieta líquida acrescida de etanol, alteração na homeostase do colesterol, caracterizada por aumento dos níveis de colesterol hepático e sérico.

Embora, nos últimos anos, tenha sido bastante difundida a ideia de que o consumo regular de bebidas alcoólicas confere proteção contra doenças cardiovasculares, este provável efeito protetor está na dependência do tipo de bebida, padrão de consumo (quantidade e frequência) e ainda de fatores ambientais. Possivelmente, o tipo de bebida e o padrão de consumo dos animais, neste estudo, não tenham contribuído favoravelmente para a colesterolemia.

No tocante às lipoproteínas, sua modificação é o mecanismo mais descrito como mediador da proteção cardiovascular associada ao consumo de álcool, sendo o metabolismo dessas lipoproteínas circulantes afetado em diversas fases, pelo etanol. O consumo regular pode estar associado a um aumento da síntese de lipoproteínas (Nishiwaki, et al. 1994), diminuição da degradação do HDL-C e maior metabolização hepática de LDL-C (Savolainen, Kesäniemi, 1995).

Os animais do GA apresentaram maiores valores para a fração HDL-C, à exceção do GAF12, em relação aos respectivos controles. De forma análoga, Raj et al. (2009) observaram aumento da fração HDL-C em ratos tratados com etanol. Evidências populacionais também demonstram maiores níveis de HDL-C em indivíduos que consomem bebidas alcoólicas (Mänttari et al, 1997; Savolainen, Kesäniemi, 1995). Entretanto, vale ressaltar que esse efeito benéfico depende de outros fatores, como características sociodemográficas, culturais, ou mesmo alimentares, que podem ser parcialmente responsáveis pelos efeitos atribuídos ao álcool (Evans et al., 1995), e ainda pela menor ou maior prevalência de outros fatores de risco, como tabagismo, obesidade e sedentarismo (Wannamethee, Shaper, 1999).

No presente trabalho, a aguardente também propiciou aumento da fração VLDL-C, importante lipoproteína carreadora de triglicérides, nos ratos do GAM18, tendo ainda esse grupo apresentado elevados valores de TG. Raj et al. (2009) em ratos albinos expostos ao etanol, também observaram maiores valores de triglicérides, quando comparados a ratos-

controle. Outro estudo, em ratos wistar, também observou que a administração de etanol (1,6 g / kg / dia), por 4 semanas, foi responsável pela hipertrigliceridemia (Maneesh; Jayalekshmi, 2005).

A semelhança dos resultados é respaldada pela literatura, uma vez que é sabido que o etanol aumenta a síntese hepática de triglicérides (Baraona; Lieber, 1970; Lieber; Davidson, 1962); e ainda que a hiperlipemia induzida pelo álcool pode ser atribuída a um aumento da produção hepática de lipoproteínas ou a uma diminuição na remoção das lipoproteínas do soro ou a ambos (BARAONA; LIEBER, 1970).

Com relação aos menores valores de VLDL-C registrados nos animais do GAM12, GAF12 e GAF18, podem ser explicados pela toxicidade que o etanol exerce sobre o fígado, já que o acetaldeído, um subproduto do metabolismo desta droga, pode danificar o sistema microtubular deste tecido, resultando em secreção inadequada de gordura sob a forma de VLDL-C, do fígado para o sangue, levando esta lipoproteína a apresentar-se com níveis baixos no sangue (SEITZ E STICKEL, 2006). Provavelmente a maior ingestão de aguardente pelos animais do GAM12 e GAF18, como já comentado anteriormente, foi responsável por esse maior dano hepático, com consequências no metabolismo desta lipoproteína.

Fundamentado no exposto, mesmo exercendo efeito benéfico em relação à fração HDL-C, um importante preditor do risco cardiovascular, que desempenha papel crucial no transporte reverso do colesterol, o álcool também exerce efeitos adversos sobre outros lipídes (VLDL-C e TG). Dessa forma, não deve ser encorajada a ingestão de bebidas alcoólicas, entre essas a aguardente de cana-de-açúcar, devido aos potenciais riscos individuais e sociais secundários aos efeitos deletérios do consumo expansivo do álcool.

Em síntese, a aguardente de cana de açúcar, pelo seu alto teor de etanol, é uma bebida complexa, e os danos decorrentes de sua ingestão no status nutricional e lipemia de ratos podem variar, na dependência da idade e do gênero, conforme observado no presente estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório da Unidade de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), à bibliotecária Maria Cristina Malta, pela revisão linguística e documental do trabalho, ao Dr. Ediones França, veterinário do Biotério Central do Departamento de Nutrição e ao técnico José Paulino Ventura, pela colaboração no manuseio dos animais.

REFERÊNCIAS

- Aguiar, A.S., Da Silva, V.A., Boaventura, G.T. (2004). Can calories from ethanol contribute to body weight preservation by malnourished rats? *Braz J Med Biol Res* 37, 841-846.
- Aguiar, A.S., Da Silva, V.A., Boaventura, G.T. (2007). As calorias do etanol são aproveitadas pelo organismo? *Rev Nutr Pauta*, 45-49.
- Aguiar, A.S., Boaventura, G.T., Malheiros, L.R., Da-Silva, V.A. (2006). Behavioral toxicity of increasing doses of ethanol in malnourished rats. *Nutr Neurosc* 9, 113-119.
- Aguiar, A.S., Boaventura, G.T., Abrahão, R.F., Freitas, T.L., Takiya, C.M., Filho, P.J.S., Da Silva, V.A. (2009). Ethanol in low chronic dose level attenuates major organic effects in malnourished rats. *Biol Res* 42, 31-40.
- Baraona, E. and Lieber, C.S. (1970). Effects of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J Clin Invest* 49, 769-778.
- Baraona, E., Leo, M.A., Borowsky, S.A., Lieber, C.S. (1975). Alcoholic hepatomegaly: accumulation of protein in the liver. *Science* 190, 794-795.
- Bode, C. and Bode, C. (1997). Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders. *Alcohol Health Res World* 21, 76-83.
- Brower, K.J., Mudd, S., Blow, F.C., Young, J.P., and Hill, E.M. (1994). Severity and treatment of alcohol withdrawal in elderly versus younger patients. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 18, 196-201.
- Bucholz, K.K., Sheline, Y., Helzer, J.E. (1995). The epidemiology of alcohol use, problems and dependence in elders: a revision. In *Alcohol and aging*, T. P. Berford and E. Gomberg, eds. (New York: Oxford University Press), 19-41.
- Burgos, M.G.P.D.A; Medeiros, M.D.C; Bion, F.M; Pessoa, D.C.N.D.P. (2002). Efeitos de bebidas alcoólicas em mães lactantes e suas repercussões na prole. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 2(2), 129-135.
- Cahill, A., Hershman, S., Davies, A., Sykora, P. (2005). Ethanol feeding enhances age-related deterioration of the rat hepatic mitochondrion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289, G1115-G1123.
- Castillo, B.A.A, Marziale, M.H.P., Castillo, M.M.A., Facundo, F.R.G., Meza, M.V.G (2008). Stressful situations in life, use and abuse of alcohol and drugs by elderly in Monterrey, Mexico. *Rev Latino-Am Enferm* 16, 509-516.

Colsher, R.L. and Wallace R. B. (1990). Elderly men with histories of heavy drinking: correlates and consequences. *J Stud Alcohol* 51, 528-535.

Djurovic, S., Berge, K.E., Birkenes, B., Braaten, O., Retterstól, L. (2007). The effect of red wine on plasma leptin levels and vasoactive factors from adipose tissue: a randomized crossover trial. *Alcohol Alcohol* 42(6), 525-528.

Egbert, A.M. (1993). The older alcoholic: recognizing the subtle clinical clues. *Geriatrics* 48, 63-69.

Evans, A.E, Ruidavets, J., McCrum, E.E, Cambou, J.P., McClean, R., Douste-Blazy, P., McMaster, D., Bingham, A., Patterson, C.C., Richard, J.L., et al. (1995). Autres pays, autres coeurs? Dietary patterns, risk factors and ischaemic heart disease in Belfast and Toulouse. *Q J Med* 88, 469-477.

Frone, M., Cooper, M.L., Russel, M. (1994). Situaciones estresantes de la vida y uso de sustancias. *Phy Addict Behav* 8 (2), 59-69.

Galduróz, J.C.F. e Caetano, R. (2004). Epidemiologia do uso de álcool no Brasil. *Rev Bras Psiq* 26, 3-6.

Glass, T.A., Prigerson, H., Kasl, S.V., Leon, C.F.M. (1995). The effects of negative life events on alcohol consumption among older men and women. *J Gerontol* 50(4), 205-216.

Gupta, K. (1993). Alcoholism in the elderly: uncovering a hidden problem. *Alcoholism* 93, 203-206.

Hellerstedt, W.L., Jefferey, R.W., Murray, D.M. (1990). The association between alcohol intake and adiposity in the general population: reviews e commentary. *Amer J Epidemiol* 132(4), 594-611.

Hetherington, M.M., Cameron, F., Wallis, D.J., Pirie, L.M. (2001). Stimulation of appetite by alcohol. *Physiol Behav* 74 (3), 283-289.

Hulse, G.K. (2002). Alcohol, drugs and much more in later life. *Rev Bras Psiquiatr* 24 (S1), S34-S41.

Instituto Adolf Lutz (2005). Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ªed. (São Paulo, v.1).

Israel, Y. e Orrego, H. (1983). On the characteristics of alcohol-induced liver enlargement and its possible hemodynamic consequences. *Pharmacol Biochem Behav* 18 (S1), 433-437.

Kaplan H.I. e Sadock, B.J. (2007). *Compêndio de Psiquiatria*. 9ª edição. (Porto Alegre: Artmed).

Kim, D.J., Yoon, S.J., Choi, B., Kim, T.S., Woo, Y.S., Kim, W., Myrick, H., Peterson, B.S., Choi, Y.B., Kim, Y., et al. (2005). Increased fasting plasma ghrelin levels during alcohol abstinence. *Alcohol Alcohol* 40(1), 76-79.

Konturek, S.J., Konturek, J.W., Pawlik, T., Brzozowski, T. (2004). Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J. Physiol Pharmacol* 55 (1 Pt 2), 137-154.

Lancaster, F.E. and Spiegel, K.S. (1992). Sex difference in pattern of drinking. *Alcohol* 9, 415-420.

Lands, W.E.M. (1993). Summary of the workshop "Alcohol and Calories: a matter of balance". *The Journal of Nutrition* 123, 1338-1341.

Larue-Achagiotis, C., Poussard, A.M., Louis-Sylvestre, J. (1990). Alcohol drinking, food and fluid intakes and body weight gain in rats. *Phys Behav* 47, 545-548.

Lieber, C.S. (1988). The influence of alcohol on nutritional status. *Nutrition Reviews*, 46 (7), 241-254.

Lieber, C.S. (1994). Alcohol and liver. *Gastroenterol* 106, 1085-1105.

Lieber, C.S. and Davidson, C.S. (1962). Some metabolic effects of ethyl alcohol. *Amer J Med* 33, 319.

López, R. (2004). Cachaça amplia potencial de consumo no mercado externo. Engarrafador Mod 18-24. Disponível em: <http://www.engarrafadormoderno.com.br/arquivo/110dr.pdf> Acesso em: 10 set. 2009.

Maneesh, M. and Jayalekshmi, H. (2005). Effect of ascorbic acid, alpha-tocopherol, lecithin and L-ornithine-L-aspartate on ethanol induced hypoproteinemia and hyperlipidemia in rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 49(4), 422-426.

Mann, R.E., Smart, R.G., Anglin, L., Adlaf, E.M. (1991). Reductions in cirrhosis deaths in the United States: association with per capita consumption and AA membership. *J Stud Alcohol* 52(4), 361-365.

- Mänttari, M., Tenkanen, L., Alikoski, T., Manninen, V. (1997). Alcohol and coronary heart disease: the roles of HDL-cholesterol and smoking. *J Intern Med* 241, 157-163.
- Marzzoco, A. e Torres, B.B. (2007). *Bioquímica básica*. 3ª ed. (Rio de Janeiro: Guanabara Koogan).
- Mobarhan. S.K.M., Mehta, R., Hupert, J., Friedman, H., Layden, T.J., Meydani, M., Langenberg, P. (1991). Age-related effects of chronic ethanol intake on vitamin A status in Fisher 344 rats. *J Nutr* 121, 510-517.
- Navder, K.P., Baraona, E., Lieber, C.S. (1997). Polyenylphosphatidylcholine attenuates alcohol-induced fatty liver and hyperlipemia in rats. *J Nutr* 127, 1800-1806.
- Naves, L.A., Vilar, L., Costa, A.C.F., Domingues, L., Casulari, L. A. (2003). Distúrbios na secreção e ação do hormônio antidiurético. *Arq Bras Endocrinol Metab* 47(4), 467-481.
- Nicolás, J.M., Fernández-Solà, J., Fatjó, F., Casamitjana, R., Bataller, R., Sacanella, E., Tobias, E., Badía, R. (2001). Increased circulating leptin levels in chronic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 25(1), 83-88.
- Nishiwaki, M., Ishikawa, T., Ito, T., Shige, H., Tomiyasu, K., Nakajima, K., Kondo, K., Hashimoto, H., Saitoh, K., Manabe, M. (1994). Effects of alcohol on lipoprotein lipase, hepatic lipase, cholesteryl ester transfer protein, and lecithin: cholesterol acyltransferase in high-density lipoprotein elevation. *Atherosclerosis* 111, 99-109.
- Orange, L.G., Bion, F.M., Lima, C.R. (2009). Effects of different concentrations of sugarcane alcohol on food intake and nutritional status of male and female periadolescent rats. *Alcohol* 43, 137-146.
- Pimentel, G.D. e Bressan, J. (2010). O consumo de álcool altera os hormônios reguladores do apetite, aumentando a fome e o peso corporal. *Rev Bras Nutr Clin* 25 (1), 83-90.
- Raj, A., Praveen, K.V., Sheeba, V., Mukkadan, J.K., Joseph, P.K. (2009). Biochemical effects of feeding soft drink and ethanol. *Indian J Exper Biol* 47, 333-337.
- Rigo, J.C., Rigo, J.F.O., Faria, B.C., Stein, A., Santos, V.M. (2005). Trauma associado com uso de álcool em idosos. *Brasília Méd* 42 (1/2), 35-40.
- Savolainen, M.J. and Kesäniemi, Y.A. (1995). Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 6, 243-250.

Seitz, H.K. and Stickel, F. (2006). Risk factors and mechanism of hepatocarcinogenesis with special emphasis on alcohol and oxidative stress. *Biol Chem* 387, 349–360.

Smart, R.G. and Mann, R.E. (1993). Recent liver cirrhosis declines: estimates of the impact of alcohol abuse treatment and alcoholics anonymous. *Addiction* 88(2), 193-198.

Smith, J.W. (1995). Medical manifestations of alcoholism in the elderly. *Intern J Addict* 30, 1749-1798.

Wang, Z., Yao, T., Song, Z. (2010). Chronic alcohol consumption disrupted cholesterol homeostasis in rats: down-regulation of low-density lipoprotein receptor and enhancement of cholesterol biosynthesis pathway in the liver. *Alcohol Clin Exp Res* 34(3), 471-478.

Wannamethee, S.G. and Shaper, A.G. (1999). Type of alcoholic drink and risk of major heart disease events and all-cause-mortality. *Am J Public Health* 89, 685-690.

Wilsnack, R.W., Vogeltanz, N.D., Wilsnack, S.C., Harris, T.R., Ahlström, S., Bondy, S., Csémy, L., Ferrence, R., Ferris, J., Fleming, J., et al. (2000). Gender differences in alcohol consumption and adverse drinking consequences: crosscultural patterns. *Addiction* 95(2), 251-265.

Woods, J.M. and Druse, M.J. (1996). Effects of chronic ethanol consumption and aging on dopamine, serotonin, and metabolites. *J Neurochem* 66 (5), 2168-2178.

Yeomans, M.R., Caton, S., Hetherington, M.M. (2003). Alcohol and food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 6 (6), 639-644.

Tabela 1 – Composição centesimal da dieta experimental

Constituintes (g)	Quantidade	Proteínas (g)	Carboidratos (g)	Lipídios (g)
Feijão ^a	10.00	2.28 ^c	6.19 ^c	0.14 ^c
Arroz ^a	8.00	0.61 ^c	7.06 ^c	0.01 ^c
Frango ^a	10.00	7.88 ^c	1.25 ^c	0.43 ^c
Óleo de soja ^b	4.00	-	-	4.00
Farinha de mandioca ^b	68.00 ^c	0.95 ^c	56.00 ^c	0.06 ^c
Total (g)	100.00	11.72	71.10	4.58
Kcal/100 g	372.50	46.88	28.40	41.22

Mistura baseada na ingestão alimentar da população do Nordeste brasileiro, composta por: 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 O feijão, o arroz e o frango foram cozidos em água, separadamente, durante duas horas, posteriormente dessecados em estufa (60°C), por 12h, e pulverizados em moinho (Floor Grind – Chuo Boeki Kaisha), para obtenção das respectivas farinhas. ^bObtido no comércio local. ^cDeterminações realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos - UFPE, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005).

Tabela 2 – Ingestão calórica diária (dieta e etanol) de ratos de ambos os gêneros ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, em função da idade

Variável	Idade (mês)	Gênero	Tratamento		Valor de p
			Aguardente + H ₂ O(GA) Média ± DP	H ₂ O (GC) Média ± DP	
ID (Kcal/dia)	12	M	70,62 ± 7,02 ^(ac)	59,07 ± 5,90 ^(b)	p ⁽¹⁾ = 0,013*
		F	70,54 ± 4,70 ^(ac)	61,83 ± 5,81 ^(ab)	p ⁽²⁾ = 0,013*
	18	M	68,81 ± 6,89 ^(ab)	80,57 ± 6,57 ^(c)	p ⁽³⁾ = 0,481
		F	62,98 ± 9,42 ^(ab)	66,72 ± 11,63 ^(ab)	p ⁽⁴⁾ = 0,001*
					p ⁽⁵⁾ < 0,001*
					p ⁽⁶⁾ = 0,444
ID (% GC)	12	M	119,56 ± 11,88	100	p ⁽¹⁾ < 0,001*
		F	114,08 ± 7,61	100	p ⁽²⁾ = 0,766
	18	M	85,41 ± 8,55	100	p ⁽⁴⁾ = 0,155
		F	94,39 ± 14,11	100	
ETOH (Kcal/dia)	12	M	60,37 ± 13,41	0	p ⁽¹⁾ = 0,579
		F	37,33 ± 8,08	0	p ⁽²⁾ = 0,001*
	18	M	49,95 ± 19,03	0	p ⁽⁴⁾ = 0,069
		F	42,95 ± 11,32	0	
ETOH (% Kcal/dia)	12	M	45,70 ± 5,59	0	p ⁽¹⁾ = 0,005*
		F	53,55 ± 14,75	0	p ⁽²⁾ = 0,260
	18	M	40,97 ± 9,64	0	p ⁽³⁾ = 0,163
		F	40,11 ± 5,66	0	
TCI (Kcal/dia)	12	M	131,00 ± 17,03 ^(A)	59,07 ± 5,90 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0,296
		F	107,86 ± 6,50 ^(A)	61,83 ± 5,81 ^(B)	p ⁽²⁾ < 0,001*
	18	M	118,77 ± 19,25 ^(A)	80,57 ± 6,57 ^(C)	p ⁽³⁾ < 0,001*
		F	105,93 ± 18,61 ^(A)	66,72 ± 11,63 ^(BC)	p ⁽⁴⁾ = 0,588
					p ⁽⁵⁾ = 0,001*
					p ⁽⁶⁾ = 0,035*
TCI (% GC)	12	M	221,77 ± 28,82	100	p ⁽⁷⁾ = 0,023*
		F	174,45 ± 10,52	100	
	18	M	147,41 ± 23,90	100	p ⁽¹⁾ = 0,044*
		F	158,76 ± 27,89	100	p ⁽²⁾ = 0,113
					p ⁽⁴⁾ = 0,472

GC: grupo controle; GA: grupo aguardente. Ingestão da dieta (ID), Etanol (ETOH), Total calórico ingerido (TCI), M= macho e F= fêmea.

(*): Diferença significativa a 5,0%.

p⁽¹⁾: Para comparação entre as idades.

p⁽²⁾: Para comparação entre os gêneros.

p⁽³⁾: Para comparação entre os tratamentos.

p⁽⁴⁾: Para a interação idade e gênero.

p⁽⁵⁾: Para a interação idade e tratamento.

p⁽⁶⁾: Para a interação gênero e tratamento.

p⁽⁷⁾: Para a interação idade, gênero e tratamento.

Obs.: Se todas as letras minúsculas entre parênteses são distintas comprova-se diferença significante entre os grupos correspondentes, através das comparações pareadas de Tukey.

Obs.: Se todas as letras maiúsculas entre parênteses são distintas comprova-se diferença significante entre os grupos correspondentes, através das comparações pareadas de Tamhane's T2.

Tabela 3 – Ingestão de líquidos (água e/ou aguardente de cana-de-açúcar) e preferência por aguardente, de ratos de ambos os gêneros, em função da idade

Variável	Idade (mês)	Gênero	Tratamento		Valor de p	
			Aguardente + H ₂ O (GA) Média ± DP	H ₂ O (GC) Média ± DP		
Ingestão de água (ml/dia)	12	M	37,83 ± 7,22	42,02 ± 7,66	p ⁽¹⁾ < 0,001*	
		F	25,37 ± 6,83	27,14 ± 4,42	p ⁽²⁾ < 0,001* p ⁽³⁾ = 0,032*	
	18	M	30,24 ± 6,68	31,93 ± 3,25	p ⁽⁴⁾ = 0,214	
		F	19,32 ± 3,54	22,69 ± 3,89	p ⁽⁵⁾ = 0,846 p ⁽⁶⁾ = 0,774 p ⁽⁷⁾ = 0,527	
	Ingestão de aguardente (ml/dia)	12	M	26,57 ± 5,90	-	p ⁽¹⁾ = 0,579
			F	16,43 ± 3,55	-	p ⁽²⁾ = 0,001* p ⁽⁴⁾ = 0,069
18		M	21,98 ± 8,37	-		
		F	18,9 ± 4,98	-		
Etanol (g/kg/dia)	12	M	20,19 ± 7,73	-	p ⁽¹⁾ = 0,962	
		F	20,05 ± 2,16	-	p ⁽²⁾ = 0,474 p ⁽⁴⁾ = 0,431	
	18	M	18,76 ± 9,28	-		
		F	21,67 ± 5,71	-		
% Preferência por aguardente	12	M	0,40 ± 0,07	-	p ⁽¹⁾ = 0,029*	
		F	0,40 ± 0,04	-	p ⁽²⁾ = 0,118 p ⁽⁴⁾ = 0,089	
	18	M	0,42 ± 0,09	-		
		F	0,48 ± 0,05	-		

(*): Diferença significativa a 5,0%.

p⁽¹⁾: Para comparação entre as idades.

p⁽²⁾: Para comparação entre os gêneros.

p⁽³⁾: Para comparação entre os tratamentos.

p⁽⁴⁾: Para a interação idade e gênero.

p⁽⁵⁾: Para a interação idade e tratamento.

p⁽⁶⁾: Para a interação gênero e tratamento.

p⁽⁷⁾: Para a interação idade, gênero e tratamento.

Obs.: Se todas as letras minúsculas entre parênteses são distintas comprova-se diferença significante entre os grupos correspondentes, através das comparações pareadas de Tukey.

Tabela 4 – Lipemia de ratos de ambos os gêneros ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, em função da idade

Variável	Idade (mês)	Gênero	Tratamento		Valor de p
			Aguardente + H ₂ O (GA) Média ± DP (mg/dL)	H ₂ O (GC) Média ± DP (mg/dL)	
CT ^a	12	M	221,78 ± 148,16 ^(a)	82,00 ± 14,76 ^(b)	p ⁽¹⁾ = 0,008*
		F	97,70 ± 63,10 ^(b)	84,00 ± 6,58 ^(b)	p ⁽²⁾ < 0,001*
	18	M	94,90 ± 14,44 ^(b)	71,90 ± 10,85 ^(b)	p ⁽³⁾ = 0,001*
		F	81,20 ± 11,14 ^(b)	69,25 ± 12,38 ^(b)	p ⁽⁴⁾ = 0,002*
					p ⁽⁵⁾ = 0,028*
					p ⁽⁶⁾ = 0,039*
					p ⁽⁷⁾ = 0,098
HDL ^b	12	M	42,39 ± 25,77 ^(A)	20,10 ± 6,37 ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0,006*
		F	20,60 ± 12,88 ^(B)	21,30 ± 4,76 ^(B)	p ⁽²⁾ = 0,014*
	18	M	22,45 ± 2,95 ^(B)	17,35 ± 2,38 ^(B)	p ⁽³⁾ = 0,003*
		F	20,40 ± 3,47 ^(B)	17,08 ± 2,82 ^(B)	p ⁽⁴⁾ = 0,046*
					p ⁽⁵⁾ = 0,203
					p ⁽⁶⁾ = 0,011*
					p ⁽⁷⁾ = 0,029*
CT/HDL ^c	12	M	4,91 ± 0,67 ^(a)	4,15 ± 0,46 ^(ab)	p ⁽¹⁾ = 0,011*
		F	4,75 ± 0,77 ^(ab)	4,03 ± 0,76 ^(b)	p ⁽²⁾ = 0,002*
	18	M	4,25 ± 0,85 ^(ab)	4,09 ± 0,28 ^(ab)	p ⁽³⁾ = 0,440
		F	4,01 ± 0,56 ^(b)	4,01 ± 0,17 ^(b)	p ⁽⁴⁾ = 0,043*
					p ⁽⁵⁾ = 0,827
					p ⁽⁶⁾ = 0,719
					p ⁽⁷⁾ = 0,830
LDL ^d	12	M	81,64 ± 82,93	43,40 ± 19,92	p ⁽¹⁾ = 0,160
		F	64,34 ± 45,65	49,74 ± 5,97	p ⁽²⁾ = 0,057
	18	M	60,55 ± 12,93	40,55 ± 9,26	p ⁽³⁾ = 0,166
		F	53,21 ± 9,18	40,84 ± 9,51	p ⁽⁴⁾ = 0,144
					p ⁽⁵⁾ = 0,492
					p ⁽⁶⁾ = 0,316
					p ⁽⁷⁾ = 0,607
VLDL ^e	12	M	9,60 ± 3,46 ^(A)	18,50 ± 2,64 ^(A)	p ⁽¹⁾ = 0,696
		F	10,74 ± 2,51 ^(B)	12,96 ± 1,45 ^(A)	p ⁽²⁾ = 0,054
	18	M	15,06 ± 5,97 ^(AB)	12,96 ± 3,14 ^(A)	p ⁽³⁾ = 0,078
		F	10,68 ± 2,15 ^(A)	11,95 ± 1,77 ^(A)	p ⁽⁴⁾ < 0,001*
					p ⁽⁵⁾ = 0,227
					p ⁽⁶⁾ = 0,262
					p ⁽⁷⁾ = 0,001*
TG ^f	12	M	50,49 ± 5,81 ^(A)	92,50 ± 13,18 ^(AC)	p ⁽¹⁾ = 0,661
		F	52,60 ± 13,44 ^(B)	64,80 ± 7,25 ^(AC)	p ⁽²⁾ = 0,053
	18	M	77,60 ± 28,96 ^(ABC)	63,70 ± 12,70 ^(AC)	p ⁽³⁾ = 0,015*
		F	53,50 ± 10,89 ^(AC)	59,75 ± 8,83 ^(AC)	p ⁽⁴⁾ < 0,001*
					p ⁽⁵⁾ = 0,181
					p ⁽⁶⁾ = 0,469
					p ⁽⁷⁾ < 0,001*

GC: grupo controle; GA: grupo aguardente. ^aColesterol. ^bLipoproteína de alta densidade. ^cRelação colesterol e lipoproteína de alta densidade. ^dLipoproteína de baixa densidade. ^eLipoproteína de muito baixa densidade. ^fTriglicerídeos. M= macho e F= fêmea.

(*): Diferença significativa a 5,0%.

p⁽¹⁾: Para comparação entre as idades.

p⁽²⁾: Para comparação entre os gêneros.

p⁽³⁾: Para comparação entre os tratamentos.

p⁽⁴⁾: Para a interação idade e gênero.

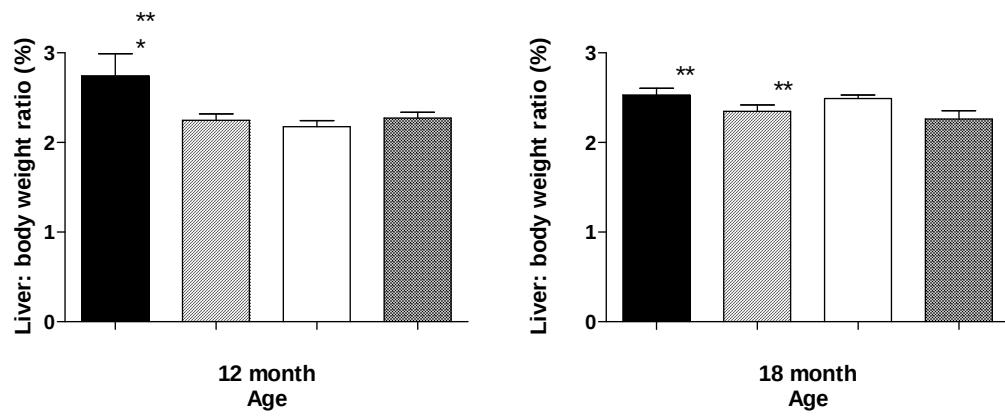
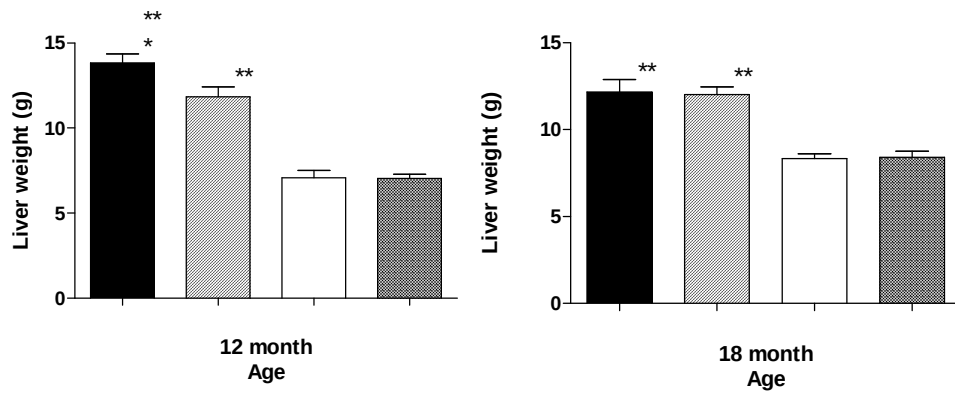
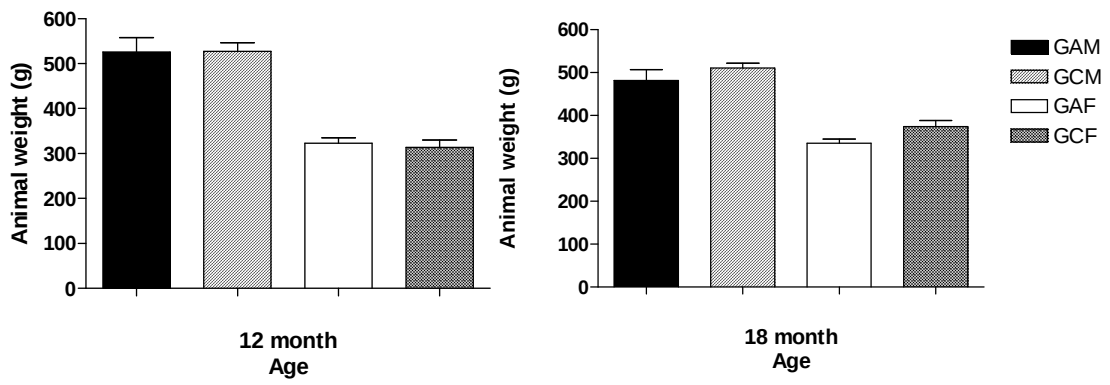
p⁽⁵⁾: Para a interação idade e tratamento.

p⁽⁶⁾: Para a interação gênero e tratamento.

p⁽⁷⁾: Para a interação idade, gênero e tratamento.

Obs.: Se todas as letras minúsculas entre parênteses são distintas comprova-se diferença significativa entre os grupos correspondentes, através das comparações pareadas de Tukey.

Obs.: Se todas as letras maiúsculas entre parênteses são distintas comprova-se diferença significativa entre os grupos correspondentes, através das comparações pareadas de Tamhane's T2.



LEGENDA FIGURA 1

Figura 1 - Alteração ponderal e hepática em ratos de ambos os gêneros ingerindo água e/ou aguardente de cana-de-açúcar, em função da idade. A: Peso do animal; B: Peso do fígado; C: Relação entre peso corporal e peso do fígado. GAM: grupo aguardente de macho; GCM: grupo controle de macho; GAF: grupo aguardente de fêmea; GCF: grupo controle de fêmea. Resultados representam média $\pm$ DP de 10 animais por grupo. Diferença estatística significativa ($p < 0,05$) (*) entre os tratamentos e (**) entre os gêneros, através da F Anova, seguida de Tukey.