

Maria Goretti Pessoa de Araújo Burgos

**BEBIDAS ALCOÓLICAS DURANTE A
LACTAÇÃO E SEUS EFEITOS NA
NUTRIÇÃO E METABOLISMO:ESTUDO
EM RATOS**

**Recife
2003**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**BEBIDAS ALCOÓLICAS DURANTE A
LACTAÇÃO E SEUS EFEITOS NA
NUTRIÇÃO E METABOLISMO:ESTUDO
EM RATOS**

*Tese de Doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado em Nutrição do Programa de Pós-
Graduação em Nutrição do Departamento de
Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco*

MARIA GORETTI PESSOA DE ARAÚJO BURGOS

ORIENTADORA: PROFESSORA FRANCISCA MARTINS BION

RECIFE

2003

MARIA GORETTI PESSOA DE ARAÚJO BURGOS

**BEBIDAS ALCOÓLICAS DURANTE A LACTAÇÃO E
SEUS EFEITOS NA NUTRIÇÃO E METABOLISMO:
ESTUDO EM RATOS**

**Tese de Doutorado defendida e aprovada com
distinção em 13/06/2003, como requisito para
obtenção do grau de Doutor em Nutrição.**

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa

Prof^a Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

Prof^a Maria do Carmo Medeiros

Prof^a Jailma Santos Monteiro

Prof^a Irineide Teixeira de Carvalho

DEDICATÓRIA

- Aos meus pais **Edvaldo** e **Marlene** (*in memoriam*); aos meus avós **Narciso** (*in memoriam*) e **Lídia** (*in memoriam*), que me deixaram exemplos e saudade;
- Aos meus filhos **Igor** e **Leonardo**, pela participação, paciência e respeito aos meus períodos de ausência;
- A **Hélio**, pela tranquilidade e equilíbrio que me proporcionou durante esta jornada, além do respeito às minhas longas horas de estudo.

AGRADECIMENTOS

- A **Deus**, por ter me permitido transpor todas as barreiras e chegar ao final.
- À **Professora Francisca Martins Bion**, com quem divido os méritos da pesquisa, pela eficiente orientação, disponibilidade e verdadeiro espírito científico;
- À **Professora e amiga Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos**, pelas orientações nas dosagens bioquímicas, presteza e atenção em todas as fases do Doutorado;
- À **Professora Luciana Wanderley**, cuja participação foi de grande importância, pela análise do leite e desmame dos animais;
- À **Professora Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa**, pelo carinho e incentivo em todos os momentos do trabalho;
- Às **Professoras Raquel de Araújo Santana, Maria Helena Lins e Maria do Carmo Medeiros**, pelas valiosas orientações;
- A **José Paulino Ventura**, exemplo de vida e profissionalismo, cujo carinho e dedicação com os animais são imprescindíveis nas pesquisas experimentais;
- Aos **professores e funcionários do Laboratório de Bioquímica da Nutrição** do Departamento de Nutrição da UFPE, pela ajuda e colaboração;
- À **Professora Maria das Graças Tavares do Carmo**, pela atenção e disponibilidade, mesmo à distância, colaborando na cessão de acervo bibliográfico sobre álcool e lactação em ratos;
- Aos funcionários do setor de Compras/Contabilidade do Departamento de Nutrição **Luiz Roberto Matos e Fernando Tavares**, pela paciência e atenção que sempre tiveram comigo;
- A todos que fazem o Curso de Doutorado e o Departamento de Nutrição da UFPE, pelo apoio técnico e cordialidade, em especial as secretárias, **Neci Nascimento e Maria Sonia Pedrosa** ;

- Aos funcionários do Biotério Central do Departamento de Nutrição, **Dr. Ediones França e Sr. Moisés Aleixo**, pela colaboração no manuseio dos animais;
- Às funcionárias do Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição **Ana Maria França e Vera Barreto**, pela colaboração durante toda a pesquisa;
- Aos funcionários e professores do Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas, em especial a **Dr^a Altair Vanderley Lopes**, pela realização das dosagens bioquímicas;
- Ao **Professor Edmilson Mazza**, do Departamento de Estatística da UFPE, pela cuidadosa análise estatística;
- À Bibliotecária **Maria Christina Malta de Almeida Costa**, pela leitura minuciosa e valiosas sugestões;
- À **Professora Norma Lúcia Marinho Antunes**, pelo eficiente trabalho no equilíbrio das dietas, orientações no preparo das rações e na tabulação dos dados, além da permanente disponibilidade;
- Ao Químico **Artur Bibiano**, pelas dosagens de minerais no leite e etanol da cerveja, o que representou uma valiosa contribuição;
- Ao **Professor Alexandre Schuller**, por mais uma vez disponibilizar o Laboratório de Cromatografia Instrumental para dosagens de álcool no sangue;
- Aos estagiários do Curso de Nutrição **Ana Cristina Freitas, Grasielle Valença, Anderson Nascimento e Roseane Lemos** e à estagiária do Curso de Química **Fabírcia Barbosa**, pela colaboração direta nas dosagens e tabulação dos dados;
- Aos **amigos** que me incentivaram e dividiram comigo os momentos de alegrias e insegurança, principalmente os companheiros das caminhadas na praia;
- Aos **professores e funcionários do Laboratório de Fisiologia de Nutrição**, pela atenção e disponibilidade;

- **Aos professores e funcionários do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos**, em especial **Alexandre Ramos de Oliveira e Sebastião Camilo**, pela presteza e assessoria;
- **Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia de Alimentos**, **Vivaldo Silva e Laércio Borges**, pela ajuda e disponibilidade para colaborar, sempre que solicitados;
- **Às bibliotecárias da Biblioteca do Centro de Ciências da Saúde da UFPE**, **Jacira Monteiro e Alice Maria Costa Cavalcanti**, pela atenção e profissionalismo;
- **À FACEPE** (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco), pelo financiamento do Projeto de Pesquisa;
- **Ao Professor Marcelo Silveira**, ex-Diretor Superintendente do Hospital das Clínicas da UFPE, por permitir oficialmente meu acesso ao Doutorado;
- **Aos veterinários Edvaldo de Araújo Junior e Waldo Oliveira Monteiro**, pelo treinamento cirúrgico nos animais experimentais;
- **Ao Professor José Eulálio Cabral**, pelas valiosas sugestões estatísticas;
- **A Maria José Gomes de Santana (Zélia)**, pela paciência e profissionalismo na digitação inicial do texto da tese;
- **À Pró-Reitoria de Pós-Graduação**, pelo apoio financeiro no início da tese.
- **À Jornalista Terezinha Nunes**, pela ajuda e colaboração decisiva no desenvolvimento da pesquisa;

"À ciência cabe iluminar os caminhos e fazer brotar o germem que dará o novo fruto em abundância".

**SIGMUND
FREUD**

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	Pág. 8
LISTA DE FIGURAS	10
ABREVIATURAS E SIGLAS	11
RESUMO	12
SUMMARY	14
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	21
3. OBJETIVOS	41
3.1 – Geral	42
3.2 – Específicos	42
4. MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 – Material	44
4.1.1 – Animais e condições experimentais	44
4.1.2 – Esquema experimental	44
4.1.3 – Controle do consumo de alimentos e peso corporal	45
4.1.4 - Dietas	46
4.1.5 – Sacrifício dos animais e coleta das amostras de leite/sangue	47
4.2 – Métodos	48
4.2.1 – Químicos	48
4.2.2 – Biológicos	48
4.2.3 – Bioquímicos	50
4.2.4 – Físico-Químicos	53
4.2.5 – Estatísticos	54
5. RESULTADOS	56
6. DISCUSSÃO	77
7. CONCLUSÃO	90
8.PERPESCTIVAS	92
9. BIBLIOGRAFIA	94
10. ANEXO	118

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição centesimal e calórica da dieta e líquidos ingeridos pelos animais em estudo.	49
TABELA 2	Composição química do leite materno de ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	59
TABELA 3	Parâmetros bioquímicos sangüíneos de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	61
TABELA 4	Peso relativo dos órgãos de RNs de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	62
TABELA 5	Gordura da carcaça de RNs e de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	63
TABELA 6	Ingestão hídrica relativa diária de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	65
TABELA 7	Calorias hídricas diárias de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	66
TABELA 8	Indicador de maturação somática: Tempo de abertura dos olhos (dias) de RN amamentados por ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	73
TABELA 9	Indicação de maturação somática: Tempo de aparecimento de pêlos (dias) de RNs amamentados por ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol	74

(5%).

TABELA 10	Incidência de mortalidade pós-natal nos diferentes grupos.	75
TABELA 11	Parâmetros bioquímicos de RNs amamentados por ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	76

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
FIGURA 1	Curva ponderal de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	58
FIGURA 2	Ingestão relativa total de calorias provenientes do álcool e da dieta de ratas lactantes.	64
FIGURA 3	Ingestão calórica total, alimentar e hídrica relativa de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	69
FIGURA 4	Ingestão hídrica e alimentar relativa de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	70
FIGURA 5	Ingestão etílica absoluta, relativa e alcoolemia de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	71
FIGURA 6	Curva ponderal das ninhadas de mães submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%).	72

ABREVIATURAS E SIGLAS

- **AIN 93** - American Institute of Nutrition;
- **CAL** - Calorias;
- **CEBRID** - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicopáticas;
- **CH** - Carboidratos;
- **CT** - Colesterol total;
- **DNA** - Ácido Desoxiribonucleico;
- **FAS** - Síndrome fetal alcoólica;
- **GA** - Grupo recebendo álcool;
- **GC** - Grupo controle;
- **GCER** - Grupo recebendo cerveja;
- **GPFA** - Grupo recebendo maltodextrina + dieta nas cal do GA;
- **GPFCER** - Grupo recebendo maltodextrina + dieta nas cal do GCER;
- **HDL -- C** - Colesterol da HDL;
- **IA** - Ingestão alimentar;
- **IH** - Ingestão hídrica;
- **IE** - Ingestão etílica;
- **IMC** - Índice de Massa Corporal;
- **LDL -- C** - Colesterol da LDL;
- **LM** - Leite materno;
- **LPC** - Lipase lipoprotéica;
- **NAD** - Nicotinamida adenina dinucleotídio;
- **NADH** - Nicotinamida adenina dinucleotídio reduzida;
- **OPS** - Organização Panamericana de Saúde;
- **PAIR-FED** - Alimentação em par;
- **PC** - Peso corporal;
- **PRL** - Prolactina;
- **PTN** - Proteínas;
- **QO** - Quota oferecida;
- **RS** - Rejeito sujo;
- **RL** - Rejeito limpo;
- **RN** - Recém-nascido;
- **SNC** - Sistema nervoso central;
- **TG** - Triglicerídios;
- **VCT** - Valor calórico total.

RESUMO



O Consumo de bebidas alcoólicas por lactantes vem despertando a atenção dos profissionais de saúde, com muitas perguntas ainda sem respostas, tanto na nutrição como no metabolismo. Objetivou-se estudar os efeitos nutricionais do consumo de etanol, na forma de bebida destilada e fermentada, associado a uma dieta constituída por alimentos habituais do Nordeste brasileiro. Foram utilizadas 30 ratas Wistar, lactantes, e 240 filhotes divididas em 05 grupos, com suas respectivas ninhadas, sendo feita uma padronização (08 filhotes) no segundo dia de vida. Os animais receberam uma única dieta equilibrada, à base de feijão carioca, arroz polido, frango, farinha de mandioca e óleo de soja, com um teor protéico de 18%. À ração, foram adicionados diferentes líquidos, conforme o esquema experimental: G1-água destilada; G2-solução hidroalcoólica a 5%; G3- Solução de maltodextrina, substituindo as calorias do álcool; G4- cerveja com etanol a 5%; G5- Solução de maltodextrina, substituindo as calorias da cerveja. Durante 12 dias analisou-se o consumo alimentar e calórico, a ingestão líquida e etílica, e o percentual de mortos por devoramento e por outras causas. No final do período procedeu-se a retirada do leite materno, para análise (PTN, CH, Lipídeos, sódio, potássio) e do sangue das mães e RNs (Glicose, Colesterol, HDL-C, LDL-C, TG, PTN, Albumina, Vitamina A). Foi determinado o peso relativo do fígado / rim das mães e fígado/ rim / cérebro / coração dos RNs e, em todos os grupos, analisou-se a gordura da carcaça. Foram utilizados os testes de Mann-Whitney, Locrank e o teste de duas proporções, para análise estatística. Os resultados indicam que, no Grupo Alcool, ocorreu, nas mães, perda de peso, a partir do 12º dia, reduzida ingestão hídrica, maior consumo alimentar, no 4º dia, elevação do potássio no leite materno e no peso do rim e redução dos teores de vitamina A circulante. No grupo cerveja foi constatado, nas mães, maior peso durante os 12 dias, aumento acentuado da ingestão hídrica e alcoólica, maior alcoolemia, no 12º dia, elevação nos teores de lactose do leite materno, da proteína do plasma e da gordura da carcaça, além de redução de vitamina A circulante. Nos RNs, as bebidas alcoólicas provocaram: tendência a maior ganho em peso e gordura corporal, com cerveja, além de redução no tempo de aparecimento de pêlos e de abertura dos olhos, da glicose e do LDL-C. O Grupo Alcool apresentou curva ponderal semelhante ao controle, aumento do peso do rim e cérebro, atraso na abertura dos olhos, maior percentual de mortos/devorados, redução de glicose e LDL-C. Conclui-se que as bebidas alcoólicas com teores reduzidos de etanol, durante a lactação, podem ocasionar graves alterações no comportamento, nutrição e metabolismo das mães, comprometendo o desenvolvimento normal dos RNs, além de elevar a morbi-mortalidade.

SUMMARY

Alcoholic beverage consumption by breastfeeding mothers has gained increasing attention despite a lack of conclusive evidence concerning nutrition and metabolism. This study aimed to assess the nutritional effects of ethanol consumption in the form of distilled and fermented beverages, associated with the habitual diet of the Northeast Brazilian. Thirty breastfeeding Wistar rats were used, divided into five groups, along with their respective broods (eight offspring) at two days of age. The animals received a balanced diet based on carioquinha beans, polished rice, chicken, cassava root flour and soya oil with a protein content of 18%. Selected liquids were added to the meal according to the experiment plan: G1 – distilled water; G2 - 5% hydroalcoholic solution; G3– water with maltodextrin substituting the caloric value of the alcohol; G4 – beer with 5% alcohol content; G5 – water with maltodextrin substituting the caloric value of the beer. The food consumption and caloric ingestion, hydric and ethylic, was measured over a twelve-day period including the percentage of malnourished and dead newborn. At the end of the observation period maternal milk, maternal and newborn blood samples were extracted for analysis. PTN, CH, Lipids, Sodium and Potassium were measured in the milk and Glucose, Cholesterol, HDL-C, LDL-C, Triglycerides, PTN, Albumin and Vitamin A were measured in the blood samples. The relative weights of the maternal liver and kidney, and the newborn liver, kidney, brain and heart were determined and in all the groups the total body fat was measured. The Mann-Whitten, Locrank and two-proportion tests were used for statistical analysis. The results indicate that, in the alcohol group, mothers demonstrated weight-loss from the 12th day, reduced liquid ingestion, greater food consumption on the 4th day, greater maternal milk potassium content, greater kidney weight and a reduction in the levels of circulating Vitamin A. Mothers in the beer group demonstrated a tendency towards greater weight during the 12 day period, increased liquid and alcohol ingestion, greatest level blood-alcohol on the 12th day, increased lactose levels in the maternal milk, increased serum protein levels and body fat content, and a reduction in circulating Vitamin A. In the newborns the alcoholic beverages caused: a tendency towards a greater gain in body weight and body fat (beer group), a delay in time to eye-opening and fur appearing and reduction glucose and LDL-C levels. The alcohol group demonstrated a body weight curve similar to the control, an increase in the kidney and brain weight, delays in eye-opening, greater percentage of dead/devoured, a reduction in glucose and LDL-C levels. It can be concluded that consumption of alcoholic beverages with reduced ethanol content

during lactation can cause serious alterations in behaviour, nutrition and metabolism in the mothers, resulting in deranged normal development of the newborn and increase in morbidity and mortality.

1. INTRODUÇÃO

A lactância é o resultado da interrelação dos hormônios, do instinto, dos reflexos e do comportamento da mãe e do recém-nascido (RN). Vários autores têm estudado os fatores envolvidos na produção e liberação do leite materno (LM), relacionando-os com o estado nutricional materno, peso do RN, álcool, **stress** e interação de medicamentos com a produção láctea (Del RIO, 1993; MENELLA, 2001; MENELLA; BEAUCHAMP, 1991, 1993; NEVES; FACCIN; TAVARES-DO-CARMO, 1995; SUBRAMANIAN, 1991, 1992, 1994, 1995a, 1995b, 1997, 1999; SUBRAMANIAN; HEIL, 2000; SUBRAMANIAN; SAVOYMOORE, 1993; TAVARES-DO-CARMO, 1993; TAVARES-DO-CARMO; NASCIMENTO-CURI, 1990, 1996; TAVARES-DO-CARMO et al., 1999).

Del Rio (1993) identifica, como fatores importantes para um aleitamento ideal: estado nutricional materno adequado, suspensão do hábito de fumar e de ingerir bebidas alcoólicas, redução do *stress* e suspensão de medicamentos que interfiram na lactação. Por outro lado, o RN necessita ter peso maior que 3 kg, colocação precoce ao seio, tempo de sucção maior que 15 minutos e alta frequência de mamadas.

O leite materno constitui indiscutivelmente o melhor alimento para o RN, tanto por proporcionar nutrientes essenciais para seu crescimento normal, como por fornecer uma grande quantidade de anticorpos (JASON, 1991) com período de lactância ideal exclusivo até os seis meses de vida, podendo ser complementado com outros alimentos, até 1 ano de idade.

Nos países em desenvolvimento, grande número de programas de alto custo, financiados por organismos nacionais e internacionais, se direcionam ao incentivo ao aleitamento materno, como importante fator de redução de morbimortalidade.

No Brasil, as últimas estatísticas sobre aleitamento datam de 1989 (BRASIL. Ministério da Saúde), indicando que 97% dos RNs mamam logo após o nascimento e 61% permanecem mamando até os seis meses. Estas estatísticas positivas têm alertado os profissionais acerca do perigo de transmissão de alguns agentes infecciosos, produtos químicos e drogas, via LM (JASON, 1991).

Raider (apud MENELLA; BEAUCHAMP, 1991) alerta para a segurança que se faz necessária em relação ao potencial de exposição ao álcool excretado no LM, especialmente a partir de estudos de Little (1990) e Little et al. (1989, 1990), evidenciando que as mães alcoólicas não modificam o hábito de consumir bebidas no período de lactância (MENELLA, 1997; NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM, 1997).

Em 1983, o álcool já era catalogado como droga que passa ao LM, necessitando que sua ingestão seja abolida durante todo o período de amamentação (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC, 1983; VILALPANDO, 1993).

Tradicionalmente, o álcool tem sido recomendado a lactantes, com o objetivo de melhorar a amamentação, suplementando ainda calorias e fluidos (JASON, 1991; MENELLA; BEAUCHAMP, 1993).

Relatos empíricos indicam que, especialmente antes do horário de aleitamento, as bebidas alcoólicas aumentam a produção do leite, facilitando sua ejeção e relaxando o binômio mãe e filho (BLUME, 1987; MENELLA; BEAUCHAMP, 1991). No Brasil, em 1923, Cunha já relata alto percentual (84%) de prescrições médicas da cerveja como lactogôgo, prática adotada por cerca de 76% das lactantes daquela época. No entanto, alguns estudos preliminares da época já alertavam para o efeito tóxico do álcool contido nas bebidas alcoólicas que, passando através do leite, provocaria “distúrbios” no organismo do lactente. Vitolo et al. (1994), em trabalho realizado em São Paulo, referiam que as lactantes consideravam a cerveja preta como “lactagôgo”.

A ausência de recomendações médicas e nutricionais sobre o consumo de bebidas alcoólicas no período de aleitamento pode refletir o fato de que a síndrome do alcoolismo fetal (FAS) foi identificada pela primeira vez, na literatura, na década de 70 (JONES et al. 1973), quando ainda era bastante reduzido o número de mulheres que consumiam álcool.

Nos países da América Latina, o consumo de bebidas alcoólicas pelo sexo feminino vem aumentando dramaticamente, nos últimos 10-20 anos, sendo ainda reduzido o número de pesquisadores interessados na

abordagem do tema; somente a partir da década de 90, os estudos sobre alcoolismo feminino passaram a ser freqüentes nas publicações científicas (MONTEIRO, 1996).

Dados preliminares brasileiros constataam uma prevalência de 6,6% de alcoolismo na população de 24 municípios de São Paulo, com predominância masculina, porém com prevalência de 19,16% na população feminina (GALDUROZ, 2000).

Os efeitos da ingestão alcoólica sobre diversos parâmetros metabólicos ainda não foram suficientemente estudados, a ponto de elucidar todas as dúvidas e aspectos controvertidos acerca deste hábito, cada vez mais freqüente nas sociedades modernas. Assim, a realização de estudo experimental, em ratos, avaliando os efeitos nutricionais e metabólicos do consumo de bebidas alcoólicas associadas à ingestão de alimentos regionais, poderá oferecer alguns subsídios para maior conhecimento do assunto e servir de indicativo ou até mesmo de referencial para uma orientação clínico-nutricional adequada no atendimento a mães lactantes, por profissionais de saúde.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O hábito de consumir álcool remonta aos primórdios da humanidade. Assim, pode-se afirmar que toda a história da humanidade está permeada pelo consumo de álcool. Registros arqueológicos revelam os primeiros indícios sobre esse consumo, pelo homem, aproximadamente 6.000 anos a.C., sendo, portanto, um hábito extremamente antigo, persistindo até os dias atuais. A noção do álcool como substância divina pode ser encontrada em inúmeros exemplos, na mitologia, sendo talvez um dos fatores responsáveis pela manutenção do hábito de beber, ao longo do tempo (USP/CEBRID, 2002).

Durante séculos, a cerveja e o vinho, e não a água, eram os líquidos mais consumidos, em todas as idades (VALLEE, 1994). Como componente da cerveja e do vinho, o etanol foi consumido em quantidades moderadas ao longo dos séculos, com muito pouca ou quase nenhuma consequência individual ou social. Posteriormente, o consumo excessivo destas bebidas passou a representar sérios problemas e, como tal, foi objeto de debates, chegando-se a um consenso, dentre os filósofos da época, como Platão, Sócrates e Xenofan (O'BRIEN; ALEXANDER, 1980), de que o consumo excessivo não mais atendia aos objetivos primários do consumo de vinho e cerveja, centralizados nos efeitos para "inspiração, socialização e tranquilidade" (VALLEE, 1994).

Nesta época, alguns pesquisadores chegavam a considerar o álcool como o maior constituinte da dieta humana, essencial não somente para suprir e manter o "equilíbrio hídrico", como para prover calorias (FORBES, 1970; VALLEE, 1994).

A dieta comum das civilizações ancestrais baseava-se em cereais, que forneciam 4cal/g diretamente, a partir dos carboidratos (CH) e 7cal/g, quando fermentados a etanol, o que contribuía com percentagem significativa na ingestão diária. A cerveja, além destas fontes calóricas, fornecia nutrientes adicionais, como vitaminas e minerais.

Inicialmente, as bebidas tinham conteúdo alcoólico relativamente baixo (vinho e cerveja), já que dependiam exclusivamente do processo de fermentação. Com o advento da técnica de destilação introduzida, na Europa, pelos árabes, na Idade Média, surgiram novos tipos de bebidas alcoólicas, que passaram a ser

utilizadas na sua forma destilada. Nesta época, os destilados começaram a ser considerados como remédio para todas as doenças, pois "dissipavam as preocupações mais rapidamente do que o vinho e a cerveja, além de produzirem um alívio mais eficiente da dor", surgindo então a palavra Whisky, do gálico "usquebaugh", que significa água da vida (USP/CEBRID, 2002).

O CONSUMO DE ÁLCOOL NO MUNDO ATUAL

A ingestão de bebidas alcoólicas é um hábito freqüente e generalizado em muitos países, seja no Oriente, ou no Ocidente. O uso de substâncias, como o álcool, capazes de modificar o humor e o comportamento, tem sido considerado "normal" e até apropriado, sob certas circunstâncias, tais como: supressão da tensão, eliminação da dor, aumento do apetite e da produção de leite (GRÜNSPUM, 1984; MENELLA; BEAUCHAMP, 1991).

O etanol é a droga ativa mais largamente consumida, sendo o alcoolismo (síndrome de dependência alcoólica) considerado um problema de saúde pública maior do que a farmacodependência, na América Latina, onde as bebidas alcoólicas já eram consumidas antes da chegada dos europeus (NEGRETE, 1976). Atualmente, o alcoolismo é considerado um dos maiores problemas de saúde pública, com conseqüências irreversíveis sobre o organismo sadio adulto que, na maioria dos casos, ocorrem, em média, após 10 anos de consumo (DANTAS, 1983).

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). No Recife, dados da UNESCO revelam que 12.3% dos jovens na faixa de 10-19 anos já consomem álcool regularmente, bem acima da realidade brasileira, de 9.9% (ABRANOVAY; CASTRO, 2002). Segundo Schuckit (1995), 90% dos indivíduos que ingerem álcool têm seqüelas decorrentes deste hábito; 40-50% dos homens apresentam problemas temporários, enquanto 10% dos homens e 3-5% das mulheres podem desenvolver distúrbios persistentes e generalizados,

embora individualmente variáveis, dependendo de fatores ambientais e genéticos.

Nas pesquisas relacionadas à ingestão de álcool, as interações calorias x fatores ambientais constituem os enfoques mais abordados, com fortes evidências de que a nutrição pode afetar o consumo (PRENTICE, 1995). Sabe-se que, em animais, dieta rica em CH e baixa em proteínas (PTN) reduz o consumo alcoólico, enquanto uma dieta hipoglicídica/hiperprotéica produz efeito inverso (FORSANDER, 1998).

A resposta do organismo à ingestão de álcool é bastante variável (LIEBER, 1994), dependendo da dose ingerida, concentração na bebida e distribuição no sangue (Alcoolemia), bem como das variações individuais da capacidade de metabolização, relacionadas a sexo, idade, raça, genética (THOMAS et al., 2000), estado nutricional, uso concomitante de medicações e patologias (DANTAS, 1983). O desenvolvimento de doenças, como cirrose, pancreatite crônica e câncer de mama, entre outras, depende da quantidade de álcool e da composição da dieta consumida (BREKELMANS, 2003; DANTAS, 1983; FORSANDER, 1998; HAMNOUMI; NASSASSILA; DAOUST, 1997; LIEBER, 1994; SCHUCKIT, 1995; THOMAS et al., 2000), independentemente do tipo da bebida alcoólica (PELLETIER et al., 2002).

Nos idosos acima de 65 anos, apesar de dados epidemiológicos indicarem reduzido risco de demência entre aqueles que ingerem de 1 a 6 drinks semanais, a ingestão de bebidas alcoólicas não deve ser orientada ou incentivada, devido aos vários efeitos fisiológicos adversos (MUKAMAL et al., 2003).

Efeitos da ingestão de bebidas alcoólicas sobre a nutrição e metabolismo

Alterações nutricionais ocorrem, após ingestão a longo prazo e/ou altas doses. O álcool é uma molécula fracamente carregada, que se move com facilidade através das membranas celulares, atingindo rapidamente um equilíbrio entre o sangue e os tecidos.

Sua absorção ocorre na boca e no esôfago, em quantidades reduzidas, e principalmente no intestino delgado, em alta velocidade, no esvaziamento gástrico e na ausência de PTN, CH, gorduras, fenóis, tiamina, ferro, chumbo e cobalto (SCHUCKIT, 1995; SCHUCKIT; HARISON, 1996). O metabolismo inicial do álcool ocorre no fígado, por ação de várias enzimas (OPS/ILSI, 1991). Quantitativamente, a mais importante é a álcool desidrogenase citosólica, que é inibida pelo consumo crônico de álcool e reduzida com o aumento da idade, produzindo acetaldeído, com transferência de H^+ para NAD, reduzindo-o para $NADH^+$, levando à redução de atividade do ciclo de Krebs, que requer NAD para seu funcionamento normal (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2000).

Vários são os distúrbios metabólicos ocasionados pelo excesso de $NADH^+$, inicialmente anulando a capacidade celular de manter um estado normal de redox, provocando hiperlactacidemia, acidose, hiperuricemia e hiperlipidemia. A mitocôndria usa hidrogênio, a partir do etanol, deixando de utilizar ácidos graxos para produzir energia no ciclo de Krebs, levando a uma redução na oxidação de ácidos graxos e acúmulo de triglicerídeo. Nesta situação, o $NADH$ poderá promover a síntese de ácidos graxos (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2000).

Em relação aos macronutrientes, há evidências científicas de que o álcool altera o metabolismo intermediário dos CH, lipídeos e PTN (GIOVANNUCCI, 1991; HALSTED 1973, 1996, 1997; LEEVY; BAKER; TENHOV, 1965; LEO; UEBER, 1982; PRENTICE, 1995; VOLPI, 1998). A ingestão de 70g de álcool reduz o metabolismo protéico, no fígado humano (VOLPI, 1998), com alterações na síntese e/ou secreção de PTN (BARAONA et al., 1980), como o fibrinogênio, ocorrendo, em alguns casos, disfunções hepáticas e hipoalbuminemia, na ausência de desnutrição.

Halsted (1996) e Tavares et al. (2001) estudando, em ratos, o efeito do etanol sobre a composição de ácidos graxos no tecido adiposo, evidenciaram alterações na composição dos ácidos graxos essenciais, enquanto Denkins et al. (2000) relatam desequilíbrio nos ácidos graxos polinsaturados de RNs nascidos de gestantes alcoólicas moderadas.

Quanto aos micronutrientes, também foram constatados alterações significativas, decorrentes da ingestão de álcool, sendo observado que, apesar da ingestão destes ser normal (exceção da vitamina E), os **status** circulantes de vitamina C, retinol, licopeno, alfa e gama caroteno, selênio e zinco sofrem redução (BERGHEIM, 2003).

O déficit de folato, devido à sua função na replicação celular do intestino delgado, contribui para a ocorrência da diarreia, em alcoólicos, relacionada à má absorção de nutrientes hidrossolúveis, como o folato e a glicose (HALSTED, 1973), com inibição da metionina sintetase, provocando alteração na regulação dos nucleotídeos e, provavelmente, aumentando o risco de câncer (GIOVANNUCCI, 1991). A etiologia desta deficiência no alcoolismo é multifatorial, podendo ser mencionados: dieta inadequada, má absorção da forma monoglutamílica da vitamina, alterações do metabolismo hepatobiliar e aumento da perda urinária, devido à redução na reabsorção tubular renal; segundo esta linha de pensamento, o etanol inibe os possíveis e conhecidos transportadores do folato nas membranas intestinal, hepática e tubular renal. Por outro lado, o acetaldeído desencadeia *in vitro* o catabolismo oxidativo da molécula do ácido fólico (HALSTED, 1973).

Em relação à tiamina, não se conhece a prevalência de sua deficiência, porém, em 2,2% das autópsias consecutivas de alcoólatras foram encontradas lesões neuropatológicas deste transtorno, que consiste na Síndrome de Wernick – Korsakoff, com oftalmoplegia, ataxia e alterações de memória, neuropatia periférica, distúrbio mental e perda da capacidade de concentração. A deficiência desta vitamina ocorre por ingestão de dieta inadequada, associada à má absorção no alcoolismo, fato explicado pela inibição da enzima Na-K-ATPase na membrana do enterócito (HALSTED, 1973).

A piridoxina também se apresenta deficiente no alcoolismo crônico, fato justificado, em parte, pelo deslocamento da forma ativa da vitamina, o Piridoxal – S – Fosfato, pelo acetaldeído, que ocorre na proteína captadora de vitamina, provocando aceleração da perda urinária de piridoxina (LEEVY; BAKER; TENHOV, 1965).

A vitamina A se encontra reduzida, provavelmente, por deficiência na absorção, estando as secreções biliares e pancreáticas diminuídas, sendo ainda a causa do efeito na oxidação microsomal induzida pelo etanol sobre o recâmbio na excreção biliar dos metabólitos da vitamina A (LEO, 1989; LEO; LIEBER, 1982).

Entre os minerais depletados pelo álcool, o zinco é o mais estudado, em modelos animais e humanos; baixos níveis de zinco ocorrem no soro e tecidos hepáticos (GIOVANNUCCI, 1991). A causa da deficiência é o consumo de dietas inadequadas em PTN, ricas em zinco, ocasionando redução na absorção intestinal e aumento na excreção urinária, em relação aos baixos níveis de albumina captadora de zinco. Ocorre ainda uma redistribuição nos depósitos de zinco, com aumento na captação dos tecidos, em resposta a diversas citocinas que intervêm na lesão alcoólica do fígado (MAC CLAIN, 1989). As conseqüências clínicas consistem em dermatites, alterações do paladar e olfato, podendo contribuir para a anorexia, cegueira noturna, diminuição na produção de testosterona, alteração da imunidade celular e retardo na cicatrização de feridas (MAC CLAIN, 1992).

Outro mineral recentemente investigado, em relação ao consumo de álcool, é o cálcio. Fischer et al. (2001) constataram importante relação entre a ingestão de “soft drinks” e a redução do consumo de leite e cálcio.

Efeitos teratogênicos em humanos e animais

Historicamente, o álcool tem sido relacionado com efeitos adversos sobre o RN (STREISSGUTH et al., 1980). Em 1834, na Inglaterra, a Câmara dos Comuns relatava que “crianças de mães alcoólicas têm muitas vezes um aspecto caquético desnutrido” (WARNER; ROSETT, 1975). O primeiro trabalho empírico sobre os efeitos da ingestão de bebidas alcoólicas na gestação data de 1899, realizado em Liverpool, constatando mortalidade 56% superior em RNs de mães alcoólatras, em relação àqueles de mães não alcoólatras, concluindo que a “intoxicação materna” era a causa das alterações fetais (STREISSGUTH et al., 1980). Não obstante dados tão

contundentes, nos 50 anos que se seguiram reduzidas pesquisas foram realizadas abordando o assunto (MITCHELL, 1991).

Streissguth et al. (1980) referem o estudo realizado por Haggard e Jellimek, em 1942, em RNs de mães alcoólatras, desnutridas, vivendo em ambiente com elevada carga de *stress*, atribuindo a estes fatores os problemas detectados, descartando os efeitos tóxicos do álcool. Posteriormente, na França, em 1957, Rouquette descreve claramente as malformações congênitas, o déficit de crescimento e o desenvolvimento retardado dos RNs de mães alcoólatras.

Atualmente, já está bem caracterizada a síndrome do alcoolismo fetal, cujas características básicas são: retardo do crescimento pré-pós natal, disfunção do sistema nervoso central (intelectual, neurológica e comportamental) e alterações faciais (olhos, nariz, maxilar, lábio) (FISHER et al., 2001; GUERRI; SANCHIS, 1986; JONES et al., 1973; MITCHEL, 1991; STREISSGUTH et al., 1980).

Estudos prospectivos avaliando os efeitos do hábito de ingerir *drinks* sociais na gestação evidenciaram déficit no crescimento intra-uterino, má-formação congênita, baixo escore de APGAR, alteração na contratilidade cardíaca, anormalidade para sucção, inatividade, dificuldade de adaptação a situações, desorientação da cabeça e outros órgãos relacionados ao Sistema Nervoso Central, (COBO, 1973; MENELLA; BEAUCHAMP, 1991; REN et al., 2002; STREISSGUTH et al., 1980).

As evidências acerca dos efeitos da ingestão de álcool podem ser melhor observadas em estudos com animais, particularmente importantes pela possibilidade de criar e analisar situações e fatores, o que seria impossível, em humanos (STREISSGUTH et al., 1980; VILLARO; VIÑAS; REMESAR, 1987). Observa-se, nesses estudos, que os efeitos do álcool foram semelhantes ou, em alguns casos, mais graves do que nos humanos (ADDOLORATO, 1998; ANDERSON, 1995; CHURCH; MORBACK; SUBRAMANIAN, 1995; DETERING et al., 1979; KUMAR, 1998; SUBRAMANIAN, 1995a, 1995b, 1999; TOMLINSON; WLCE; BEDI, 1998; WILSON; PHILLIPS; LESLIE, 1997), com diferenças de sensibilidade

genética para o álcool, detectadas no período intra-uterino (THOMAS et al., 2000).

Sreeranjitkumar et al. (1999) descrevem alterações na bioquímica mamária (aumento de colesterol, fosfolipídios, triglicerídios e ácidos graxos livres), sugerindo que o etanol e/ou bebidas alcoólicas fermentadas, são agentes hiperlipêmicos potentes no metabolismo da glândula mamária.

Consumo de bebidas alcoólicas e etanol durante o período de gestação - lactação

Renomados pesquisadores têm demonstrado que a ingestão prolongada de bebidas alcoólicas durante a gestação-lactação provoca alterações e efeitos tóxicos no feto e no RN (FORSANDER, 1998; LANCASTER, 1984; LITTLE, 1990; RAWAT, 1981).

Em humanos, os efeitos do álcool nestes períodos foram descritos inicialmente por pesquisadores franceses, em 1968, e posteriormente confirmados e explicados parcialmente por outros estudiosos (FERRIER, 1976; JONES et al., 1973).

A utilização do etanol como parte da dieta líquida, em ratos, foi testada, pela primeira vez, em 1972. A partir deste modelo experimental, várias alterações na gestação-lactação foram constatadas, incluindo fígado gorduroso, hiperlipidemia, desordens metabólicas e endócrinas, tolerância e dependência ao álcool e outras drogas. Nestes estudos em animais foi observado que, não obstante a ingestão de dietas com teores protéicos de 18-25%, quando associadas ao álcool provocavam efeitos adversos nos RNs, como cirrose e fibrose hepática, desenvolvimento anormal, bem como modificações comportamentais na lactante (LIEBER; De CARLI, 1982; SANCHIS; SANCHO-TELLO; GUERRI, 1989), evidenciando que estas alterações são provocadas pelo álcool e não pela desnutrição.

Por outro lado, o status nutricional materno, quando avaliado por antropometria (índice de massa corporal (IMC), prega cutânea do tríceps, circunferência muscular do braço) sofre modificações positivas quando a

mãe consome bebidas fermentadas nos 2 períodos em estudo (VILALPANDO, 1993). No entanto, o mesmo não ocorre com os filhotes de lactantes que ingerem etanol a 12%, em que se constatou deficiência no metabolismo da tiamina (BA; SERI; HAN, 1996).

Estudo sobre fertilidade e sobrevida de crias, realizado em duas linhagens, sensíveis ou não ao etanol, alimentadas com dietas à base de etanol a 10%, evidenciou que os animais com baixa sensibilidade são duas vezes mais férteis, exercendo grande atividade sexual (SWANBERG; WILSON, 1979) na gestação e, principalmente, na lactação; o álcool aumentou a mortalidade dos filhotes sensíveis, fato agravado pelo comportamento muricida (canibalismo) (BAER; CRUMPACKER, 1977). Também foi observada redução na ingestão hídrica, nas duas linhagens, especialmente na lactação. Vilaró, Viñas e Remesar (1989) constataram significativo retardo de crescimento nas crias de mães alcoolizadas durante a gestação/lactação; evidenciaram também alterações no metabolismo das lactentes, com diminuição no glicogênio hepático, níveis de glicemia, aminoácidos, insulina, glicerol e ácidos graxos; nas mães, os autores observaram aumento da uréia e acetoacetato sanguíneo, redução da produção láctea, concomitante ao aumento da gordura e atividade da lipase lipoprotéica na mama e menor concentração de lactose.

O álcool, ingerido na gestação/lactação, poderá afetar o desenvolvimento pós-natal de funções intestinais, com redução de absorção de zinco no íleo distal (TAVARES et al., 1998) e diminuição do número das placas de Peyer (LIMA et al., 2002). No entanto, suplementação de ácido fólico e aminoácidos às mães provocou aumento do zinco no sangue e LM, bem como da absorção jejunal e ileal e atividade da enzima álcool desidrogenase (dependente de zinco) (TAVARES et al., 2000). Efeitos deste nutriente na proteção da saúde da prole e na prevenção dos danos oxidativos/alcoólicos foram sugeridos por Cano et al. (2001).

O metabolismo lipídico da glândula mamária foi avaliado por Sreeranjitkumar et al. (1999), em condições experimentais, usando dietas à base de etanol e bebidas fermentadas, evidenciando, no 19º dia de gestação e 21º de lactação, elevação do colesterol, fosfolípidos, triglicerídeos e

ácidos graxos. Por outro lado, nos animais que ingeriram os dois tipos de bebida foi constatado decréscimo do peso absoluto e relativo da mama e aumento da atividade da lipase lipoprotéica (21º dia de lactação). No entanto, Tavares-do-Carmo e Nascimento-Curi (1996) encontraram redução do peso absoluto e do conteúdo protéico, com aumento da taxa de lipogênese, sem alterar o conteúdo lipídico da mama.

Alterações bioquímicas também foram estudadas, em ratos alimentados com bebida fermentada (Arrack) e etanol, sendo observado que a porção não alcoólica da bebida interfere na toxicidade do álcool, reduzindo o efeito hiperlipídico (SREERANJITKUMAR et al., 1999).

Uma das alterações patológicas decorrentes da ingestão de álcool é a hiperplasia do coração. Fuseler (1993), estudando ratos no período de gestação e lactação, descreve o declínio da relação peso cardíaco/peso corporal, sugerindo mecanismo intrínseco protetor contra os efeitos do álcool. Análises histopatológicas revelaram hiperplasia transitória no coração, com ocorrência de aumento da atividade mitótica dos miócitos.

A interação álcool x drogas, nos mamíferos adultos, é outro aspecto que tem sido bastante pesquisado; não obstante, constata-se a necessidade de um maior número de estudos referentes ao período neo-natal. Quase todas as drogas são detectadas no LM; exames específicos têm demonstrado o etanol passando da circulação materna para o feto, assim como para o lactente, via LM (RAWAT, 1981; VORHERR, 1974; WATMAMAN, 1972).

Vale ressaltar que a exposição fetal ou neonatal ao álcool, via LM, pode ocasionar malefícios ao sistema imunológico, levando à diminuição da resistência a infecções. Os efeitos deletérios sobre o desenvolvimento do sistema imunológico dos RNs e a resposta imunológica precoce têm sido bem documentados (LEONARD et al., 1999). Nos períodos pré-pós gestacional ocorrem alterações nos tecidos linfóides intestinais, baixo peso do timo, redução de linfócitos T e T citotóxico, Ig A plasmática e macrófagos, achados que sugerem efeitos da exposição pré-pós natal ao etanol no desenvolvimento ou influxo dos leucócitos intestinais, com mais significância no período pós-natal (ZHU; SEELIG Jr., 2000).

A Síndrome de Alcoolismo Fetal (FAS) representa atualmente um grande problema de saúde pública, devido ao quadro irreversível de retardo mental e físico do RN. A ingestão de etanol na gestação-lactação provoca diferenças comportamentais maternas, como: desorientação, pouco envolvimento com as crias, falta de interesse e cuidados, e perda de sensibilidade a estímulos externos (BA; SERI; HAN, 1996). A administração de dietas com etanol, fornecendo 1/3 das calorias totais na gestação – lactação, provoca retardo do crescimento corporal e do sistema nervoso central (THADAN; STOTKIN, 2000), mais pronunciado na lactação, evidenciado pelo crescimento da cauda do animal e do cérebro (2^a e 3^a semana pós-natal). Alterações nutricionais são menos graves do que as produzidas pelo álcool no sistema nervoso central e no crescimento pondo-estrutural (DETERING et al., 1979).

A composição lipídica das células do sistema nervoso central de lactentes sofre a ação do álcool, com aumento de galactolipídeos no cérebro e medula, lipídeos da mielina (maior concentração de fosfolipídeos), bem como na incorporação de glicose nas membranas celulares, sugerindo uma maior produção lipídica. Na circulação cerebral observa-se maior teor de colesterol, fosfolipídeos, esfingomielina, fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina (LALITHA et al., 1988).

Em 1998, Vanglenova e Petkov alertaram a comunidade científica para os efeitos do etanol na gestação-lactação, com prejuízo na área do aprendizado, memória (no período de adolescência) e aumento da mortalidade. Os mecanismos envolvidos nas anormalidades na FAS até pouco tempo não eram bem entendidos, principalmente se os tecidos embrionários sofriam ação direta do álcool ou de seus metabólicos. Em animais, está comprovado o envolvimento de vários fatores maternos, nutricionais e comportamentais, modificados na gestação e lactação por alta/baixa concentração de etanol, sendo seu efeito "per si", e não o acetaldeído, responsável pelas alterações (DANIEL; EVANS, 1982).

Estudos recentes indicam que a exposição alcoólica nestes períodos de desenvolvimento cerebral altera a expressão das moléculas adesivas das células neurais, sugerindo a possibilidade de serem afetadas as interações

neuronal-glial, contribuindo para os defeitos cerebrais (MINANA et al., 2000; TARELO-ACUNA; OLVERA-CORTES; GONZALEZ-BURGOS, 2000). Por outro lado, dietas contendo 20% de álcool alteram as células piramidais, podendo modificar a excitabilidade elétrica, devido aos efeitos tóxicos (TARELO-ACUNA; OLVERA-CORTES; GONZALEZ-BURGOS, 2000).

Álcool e lactação

Os efeitos decorrentes do uso de substâncias como etanol, cafeína, nicotina e outras, permitido socialmente, vêm sendo pesquisados por vários autores, com evidências de que o álcool passa ao LM em grandes proporções, alterando a produção, volume, composição e excreção láctea, provocando efeitos deletéricos nos RNs (LISTON, 1998; MENELLA; BEAUCHAMP, 1991, 1993; MINANA et al., 2000; SUBRAMANIAN, 1991, 1995a, 1995b, 1999; TOMLINSON; WILCE; BEDI, 1998).

A maioria das gestantes tem conhecimento de que não deve consumir álcool neste período; o mesmo não ocorre na lactação, vez que a cerveja tradicionalmente e, em menor grau, o vinho, são recomendados como lactogôgos, fontes de vitaminas do complexo B e capazes de provocar o relaxamento mãe/filho (GOTTSFELD; LEGRUE, 1990).

Segundo alguns autores (GROSSMAN, 1988; NA; DANIELS; SEELIG, 1997; SEELIG; STEVEN; STEWART, 1999; ZORDANO; HERRERA, 1989), o sistema imunológico é afetado pela ingestão alcoólica na lactação, sendo observado déficit, a longo prazo, na imunidade celular e no sistema nervoso, indicando sensibilidade ao álcool em etapas precoces do desenvolvimento de animais (GOTTSFELD; LEGRUE, 1990).

Alguns efeitos maternos são evidenciados, em decorrência da ingestão de álcool na gestação - lactação. As variações no peso feminino também afetam a desintoxicação alcoólica, as magras necessitando de maior tempo para metabolizar a mesma quantidade de álcool (GOTTSFELD; LEGRUE, 1990).

Comparando mulheres, lactantes ou não, quanto à absorção do etanol (após grupamento por idade, peso e etnia), Silva et al. (1993) observaram

que as lactantes têm menor absorção em menor período. Por outro lado, a alcoolemia, que é semelhante ao teor de álcool no LM, foi menor nas lactantes, conseqüentemente a taxa de captação de álcool pelo fígado deve ser diferente, devido à menor quantidade de álcool circulante.

Pesquisas pioneiras de Lawton (1985) evidenciaram que o teor de álcool no LM é diretamente proporcional ao do sangue, não sendo afetado por sucção ou aleitamento pré-pós ingestão de álcool. À medida que a droga vai chegando ao sangue, também vai se acumulando no leite (ARGOTE et al., 1992).

Schuckit e Harison (1996), determinaram o tempo de metabolização de bebidas alcoólicas a partir do peso de mulher não lactante; assim, enquanto uma mulher normal de 45 kg, ingerindo 200 ml de bebida, levaria 3,1 hora para eliminação corporal, outra mulher, com 72 kg, levaria 1,9 hora.

Por outro lado, na lactação, observa-se redução no consumo alimentar das mães e no peso corporal (ALBUQUERQUE et al., 1998; SUBRAMANIAN, 1999), com maior acúmulo de lipídeos nas mamas (TAVARES-DO-CARMO, 1993).

Pesquisa realizada em 1989, no Instituto Nacional de Saúde Infantil e Desenvolvimento Humano, nos Estados Unidos, detectou diferenças significativas no desenvolvimento motor de RNs de mães que bebiam de forma regular (GOTTSELD; LEGRUE, 1990). Efeitos tóxicos do uso de álcool levam a alterações, em animais experimentais, dependendo da idade do RN (o fígado imaturo será mais afetado), IMC da mãe, quantidade e concentração da bebida consumida, período de jejum ou pós-prandial e quantidade de gordura consumida, que reduz a absorção do álcool (SANCHIS; SANCHO-TELLO; GUERRI, 1989). Redução pondo-estatural (ALBUQUERQUE et al., 1998; DETERING et al., 1979; GOOLDLETT et al., 1990; NEVES; FACCIN; TAVARES-DO-CARMO, 1995; SANCHIS; SANCHO-TELLO; GUERRI, 1989) e aumento da mortalidade neo-natal foram encontrados por diversos autores (ABEL, 1974; NEVES; FACCIN; TAVARES-DO-CARMO, 1995; OYAMA et al., 2000 a; SANCHIS; SANCHO-TELLO; GUERRI, 1989; VANGLENOVA; PETROV, 1998). Várias alterações metabólicas e hormonais maternas (FUCHS, 1969; COBO, 1973;

SUBRAMANIAN; HEIL,2000),conseqüentemente, na composição do LM, bem como na metabolização do etanol, repercutem de forma significativa no desenvolvimento das crias. Foram também observadas alterações nos RNS, após consumo de 20% de álcool, com redução do peso do fígado, cérebro, diminuição do conteúdo protéico e do DNA, bem como dos níveis de glicogênio hepático, sem alterar os lipídeos destes tecidos na circulação, elevação de colesterol, ácidos graxos e de β -hidroxibutirato; presença de hipoglicemia e hiponatremia (NEVES; FACCIN; TAVARES-DO-CARMO, 1995).

Aspectos nutricionais e características organolépticas do leite materno contendo etanol

Menella e Beauchamp (1991) investigaram os efeitos do álcool no lactente, evidenciando que o odor do LM é modificado, imediatamente após sua ingestão. O lactente, apesar de sugar de forma mais vigorosa, ingere menos leite por tempo de sucção, fato não percebido pelas mães. Posteriormente, em 1993, os mesmos autores concluíram que não só o *flavor* prejudica o RN, mas também o álcool "per si".

A ingestão de bebidas alcoólicas, por lactantes, altera o flavor do leite e expõe o RN ao etanol, provocando efeitos imediatos sobre seu comportamento (CHESLOCK et al., 2000; KLINTSOVA, 1997; KLINTSOVA et al., 1998; MENELLA; BEAUCHAMP 1991; MENELLA; BEAUCHAMP, 1993). Após 30 minutos de ingestão, o álcool já está presente no leite, alcançando seu platô aos 60 minutos, independentemente do volume, quando consumido na forma de bebida fermentada (ARGOTE et al., 1992).

A composição do leite, em caso de consumo agudo, aparentemente não sofre alterações do ponto de vista energético, porém, o volume é significativamente reduzido (MENELLA 1998; TAVARES-DO-CARMO, 1993), apesar do aumento do teor lipídico (TAVARES-DO-CARMO, 1993). Por outro lado, nos casos de consumo crônico (a 20%), a fosfatidilserina se

reduz significativamente no leite, apesar de ocorrer apenas aumento de colesterol no plasma (MENELLA, 1998).

Como ocorrem estas alterações e de que modo repercutem no desenvolvimento dos filhotes são aspectos que precisam ser melhor estudados (HEIL et al., 1999).

Alterações metabólicas

O consumo, pelo rato lactante, de água adicionada ao álcool (20%) provoca desnutrição protéica no RN, com déficit de crescimento, redução de proteína no fígado e plasma, apenas com 12 dias de lactação. Na lactante, ocorre decréscimo da proteína da mama, com aumento na lipogênese (TAVARES-DO-CARMO, 1993; TAVARES-DO-CARMO; NASCIMENTO-CURI, 1990). No fígado de lactantes foram constatados: redução do peso, da concentração de DNA, aumento lipídico e acúmulo hepático de triglicerídeos, resultando em baixos níveis de ácidos graxos livres e glicerol na circulação, aumento da taxa de lipogênese *in vivo* da mama e *in vitro* de ácidos isolados; maior utilização de glicose para síntese de lipídeos em ácinos da mama, com potencialização da lipogênese, a partir da glicose, em ácinos de animais -controle; aumento da lipase lipoprotéica (LPL) no tecido adiposo, sem alterar sua atividade glandular; e redução da lipase hormônio sensível, na mama (HUNGUND,1996; TAVARES-DO-CARMO,1993; TAVARES-DO-CARMO; NASCIMENTO-CURI, 1990).

Alterações álcool - específicas são produzidas no eixo renina - aldosterona de filhotes de lactantes consumindo bebidas alcoólicas (WIGLE et al., 1993).

Efeitos no sistema nervoso de lactantes/lactentes

As informações científicas acerca da ação do etanol via LM no crescimento e desenvolvimento de crianças são limitadas ao estudo epidemiológico americano, realizado com 400 crianças de mães que consumiam álcool na lactação. Foi investigada a relação álcool x desenvolvimento infantil até 01 ano de idade e, posteriormente, com 18 meses (LITTLE; NORTHSTONE; GOLDING, 2002), evidenciando alterações

leves, porém significativas, no sistema motor, sem, no entanto, afetar a área mental (LITTLE et al., 1989). Por outro lado, alterações no flavor do LM modificaram o comportamento do binômio mãe/filho (MENELLA; BEAUCHAMP, 1993; OYAMA et al., 2000 a; SMITH et al., 1986). Cheslock et al. (2000) evidenciaram modificação do comportamento de sucção dos recém-nascidos, com redução na atividade global do sistema motor. Na exposição ao etanol, via LM, as adaptações metabólicas que ocorrem nas crias não são suficientes para assegurar o desenvolvimento normal do cérebro (TAVARES-DO-CARMO, 1993).

Modificações funcionais no sistema nervoso central são visíveis em modelos experimentais (THOMAS et al., 1996), como: déficit no aprendizado (4º e 9º dia), mesmo quando avaliado seis meses após a exposição alcoólica (KLINTSOVA et al., 1998). Quando comparados em períodos de gestação/lactação, observa-se retardo no abrir de olhos naqueles submetidos a exposição alcoólica nos 2 períodos; redução na formação da mielina cerebral; peso diminuído do cérebro e órgãos mais severo na lactação e atraso de crescimento corporal mais significativo na gestação (LANCASTER et al., 1984).

Alterações intracelulares também ocorrem, levando a modificações no crescimento, diferenciação e sobrevivência, com redução na performance de aprendizado - memória (KELLY; TRAN, 1997; VANGLENOVA; PETROV, 1998).

Na última década, vários estudos indicam que a exposição alcoólica pré-pós natal afeta os canais iônicos de neuro-transmissores, receptores do hipocampo e do NMDA, sugerindo que estes efeitos podem estar envolvidos na etiologia das desordens neuro-psiquiátricas alcoólicas e no FAS (COSTA; SAVAGE; VALENZUELA, 2000).

Pesquisas *in vitro* com células cerebrais de animais recém-nascidos mostram apoptoses no desenvolvimento do córtex cerebral, nas doses de 950 mg/dl de etanol (CHEEMA; WEST; MIRANDA, 2000). A intubação intragástrica com álcool, em RNs (4º e 9º dia) revelou modificações no “reflexo de piscar de olhos”, talvez associadas com a indução alcoólica de

perda de células de Purkinje do cerebelo (GREEN et al. 2000); perda destas células também foi observada (Bäckman et al., 1998).

O etanol ainda pode alterar mecanismos intracelulares que modificam o crescimento, diferenciação e sobrevivência de células da córtex cerebral (CLIMENT et al., 2002). Por outro lado, Othman et al. (2002) sugerem que o consumo de leite, associado a 15% de etanol, provoca redução de peso corporal e cerebral, bem como de receptores, RNA e densidade protéica da córtex e cerebelo.

Dados epidemiológicos dão suporte à hipótese de que a exposição precoce ao álcool no leite materno pode estar associada a um maior risco de alcoolismo, na vida adulta (GOODWIN et al., 1999).

Adaptações hormonais durante a lactação

No período de gestação, lactação e puberdade o etanol poderá provocar modificações hormonais opostas às descritas em outros períodos.

Efeitos deletérios do álcool sobre os parâmetros hormonais lactacionais dependem da quantidade da bebida ingerida e duração da alcoolemia, não sendo benéficos para a glândula mamária (COBO, 1973; SUBRAMANIAN, 1997). Fatores como: presença de amenorréia, peso do RN e materno podem influenciar o nível de toxicidade das bebidas alcoólicas consumidas pelas lactantes (SILVA et al., 1993).

No que diz respeito à prolactina (PRL), observa-se que o álcool inibe sua elevação, em animais intubados, por períodos agudos. Por outro lado, o etanol não é capaz de alterar a secreção basal (SUBRAMANIAN, 1991, 1994; SUBRAMANIAN; SAVOYMOORE, 1993). Estudos realizados em ratos com níveis baixos de etanol circulante evidenciam que a dose limite (2.5g/kg de peso corporal), na qual se produz inibição da prolactina, é comparável com os níveis de intoxicação humana (BÄCKMAN et al., 1998; SUBRAMANIAN, 1991). A administração crônica de álcool ocasiona alterações adversas na ejeção láctea, no crescimento dos RNs e redução na liberação da PRL induzida pela sucção (SUBRAMANIAN, 1995b),

provocando efeitos na inibição da produção láctea que ultrapassam o estímulo da sucção prolongada (SUBRAMANIAN, 1995a; SUBRAMANIAN; HEIL, 2000). No caso da cerveja, aparentemente uma substância não alcoólica (polissacarídeo da cevada), é responsável pelo estímulo à secreção de PRL (De ROSA et al., 1981; KOLETZKO; LEHNER, 2000).

Por outro lado, modificações hormonais induzindo à puberdade precoce, sem alterações na fertilidade, foram observadas recentemente (JUAREZ; BARRIOS; VAZQUEZ, 2000).

Em relação aos neurotransmissores, foram evidenciados aumento na concentração de noradrenalina no sistema hipocampo/hipotálamo, durante o desenvolvimento neural, em ratas, e redução da serotonina no hipotálamo, em ambos os sexos (TRAN; KELLY, 1999). Rovinski e Hosein (1984) observaram, em crias de ratas, redução dos receptores adrenérgicos alfa-1 das membranas plasmáticas hepáticas; por outro lado, evidenciaram, em fígado de RNs, no 5º e 15º dia, 30% de redução da atividade da fosforilase hepática, estimulada pela epinefrina.

Estudos direcionados ao consumo e armazenamento de energia em modelos experimentais constataram que o álcool aumenta a termogênese, provocando hiperplasia do tecido adiposo marrom nos RNs, aumento de enzimas oxidativas e da atividade simpática. A associação destes fatores com **stress** emocional e infecções poderá conduzir à morte por hipertermia (HUTTUNEN; KORTELAJINEN; HIRVONEN, 1989).

Em relação à oxitocina, ocorre inibição ao estímulo da lactação, resultando na redução de secreção láctea (COIRO, 1992; FUCHS, 1969; FUCHS; WAGNER, 1963; LINCOLN, 1973), também causada por diminuição do hormônio luteinizante (TAVARES-DO-CARMO; NASCIMENTO-CURI, 1990). Quanto à insulina, não há informação sobre seu mecanismo na lactação, porém, nos períodos contínuos gestação - lactação observa-se insulina e glicemia normais na lactação (TAVARES-DO-CARMO; NASCIMENTO-CURI, 1990). No que tange à interação medicamentosa do álcool via leite materno, pesquisas evidenciaram que a adição de etanol (8%) na água de consumo de animais provocou aumento na toxicidade renal do paracetamol, nas crias (LLAMAS et al., 1998).

Estudo realizado em animais, no período contínuo de gestação – lactação, também constatou que o etanol provoca inibição do metabolismo hepático de drogas, como a clorpromazina. Estes resultados indicam a importância da farmacocinética do etanol na lactação, levando a questionamento acerca da farmacocinética de outras drogas ingeridas pelas lactantes (SILVA et al., 1993).

3. OBJETIVOS

3.1 - Geral

- ✓ Avaliar, em ratas lactantes e suas crias, os efeitos da ingestão de etanol, na forma de bebida destilada e fermentada, associada a uma mistura alimentar.

3.2 - Específicos

- ✓ Analisar os seguintes parâmetros, em ratas controles e alcoolizadas:
 - biológicos (variação de peso corporal e de alguns órgãos das lactantes e seus RNs; ingestão alimentar, calórica, líquida e etílica diária, das lactantes; mortalidade e canibalismo dos RNs);
 - bioquímicos (concentração de vários metabólitos circulantes, em mães e crias; alcoolemia das mães,);
 - maturação somática (período de abertura dos olhos e aparecimento de pelos, nos filhotes);
 - composição centesimal do leite materno;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Material

4.1.1 - Animais e condições experimentais

Foram utilizadas 30 ratas da linhagem *Wistar* (*Rattus Norvegicus*, variedade *Albinus*), com 100-120 dias de idade, e 240 crias recém-nascidas, do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da UFPE, pesando entre 260 - 360g e mantidos em condições-padrão de iluminação (12h claro/12h escuro), temperatura constante de $24^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (MERUSSE; LAPICHICK, 1996). As ratas foram acasaladas com machos da mesma linhagem, na proporção de 1 macho: 3 fêmeas, por 5 dias, descansando durante 2 dias e retornando ao acasalamento por mais 5 dias (perfazendo 12 dias), conforme as normas estabelecidas para a linhagem (LAUS, 1996).

Vale ressaltar que a parte experimental do estudo somente começou a ser realizada após aprovação do plano de trabalho pelo Comitê da Ética de Animais Experimentais do Centro de Ciências Biológicas, UFPE (Anexo A).

4.1.2 - Esquema Experimental

Os animais foram divididos em 5 (cinco) grupos de igual número, sendo o dia do nascimento considerado dia 0 (zero). O estudo foi realizado obedecendo um esquema experimental desenhado de conformidade com o tipo de alimentação oferecida a cada grupo:

GC - Grupo controle: água e dieta equilibrada (18% de PTN) para a lactação, constituída de uma mistura alimentar "ad libitum".

GA - Grupo álcool: solução hidroalcoólica com 5% de etanol + dieta controle "ad libitum";

GPFA - Grupo Peer-fed álcool: solução de água + maltodextrina e dieta controle, nas mesmas quantidades da dieta e calorias ingeridas nos líquidos pelo grupo G2;

GCER - Grupo cerveja: cerveja (5% de álcool) e dieta controle "ad libitum";

GPFCE - Grupo Peer-fed cerveja: solução de água + maltodextrina e dieta controle nas mesmas quantidades e calorias dos líquidos ingeridos pelo grupo G4.

A introdução de 2 grupos peer-fed no estudo teve como principal objetivo controlar a desnutrição, variável constante nas pesquisas com álcool, principalmente a DPC (Desnutrição Protéico-Calórica), provocada pela redução do consumo alimentar, resultante da ingestão alcoólica. Este procedimento propiciou a coleta de subsídios para estabelecer as diferenças entre os efeitos da desnutrição e os da ingestão alcoólica.

No 2º dia de vida, as ninhadas eram padronizadas, por redução, para 8 filhotes, sendo medidos a evolução de peso e o peso das lactantes, de 2 em 2 dias, até o sacrifício, no 12º dia. Este período foi estabelecido para evitar rejeição das crias, pela mãe, e possibilitar o controle do peso por ninhada, e não individual, reduzindo assim o tempo de manipulação dos filhotes. Deste modo, se obteve uma redução na mortalidade, uma vez que, neste tipo de estudo, por modificação de comportamento das mães e outros fatores envolvidos, a mortalidade é bastante elevada.

4.1.3 - Controle do consumo de alimentos e peso corporal

Após o nascimento, registrou-se, diariamente, o consumo alimentar e a cota hídrica ingerida nos 5 grupos de mães, uma vez que a ninhada, neste período de vida (0 - 12º dia), recebe leite materno, através da amamentação exclusiva.

As cotas dietética e líquida foram calculadas através da diferença entre o que foi ofertado e o rejeitado.

O consumo calórico total diário foi estimado pelo cálculo do valor calórico da dieta controle (cal/g). Nos grupos tratados com álcool (5% de etanol) e cerveja (5% de etanol) foram acrescentados 5,6 cal/ml e 4,7 cal/ml

+ 0,9 cal/ml com maltodextrina (para evitar esteatose hepática, freqüente com uso de CH simples), respectivamente.

4.1.4 - Dietas

A dieta-controle foi assim constituída:

- feijão carioquinha (*Phaseolus vulgaris* L);
- arroz polido (*Oriza sativa* L.);
- farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz);
- frango de granja (*Gallus galináceo*).

Os líquidos ingeridos pelos ratos foram os seguintes:

- água potável;
- solução de 95 ml de água + 5 ml de álcool etílico (P.A. pureza 99,50, da MERCK, nº 130, produzindo 7.1 cal/ml);
- cerveja Brahma, com 5% de álcool, lote nº066630 (constituída de água potável, malte, cereais não malteados, CH, lúpulo, antioxidante INS 316, estabilizante INS 405), com teor calórico de 42,9 cal/100ml;
- solução de água + maltodextrina (cota do consumo de álcool a 5% / cerveja 5%.

Os alimentos constituintes das dietas, bem como as cervejas, foram adquiridos de uma única vez, no comércio local. O feijão, o arroz e o frango foram cozidos em água, separadamente, durante 2 horas, posteriormente dessecados em estufa (60°C), por 12h, e pulverizados em moinho (FLOOR GRIND MILL - CHUO BOEKI KAISHA), para obtenção das respectivas farinhas.

A dieta foi equilibrada de acordo com a AIN 1993, recomendações para animais de laboratório (roedores) na lactação (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993).

4.1.5 - Sacrifício dos animais e coleta das amostras de leite/sangue

No 12º dia de experimento, os animais foram pesados às 7h da manhã, no próprio Biotério, e transferidos para o Laboratório de Bioquímica

da Nutrição do Departamento de Nutrição, onde foram realizados todos os sacrifícios. Antes da aplicação do anestésico, os animais permaneceram no Laboratório por, no mínimo, 30 minutos, para ambientação, reduzindo assim o "**stress**" do sacrifício.

As ratas foram anestesiadas, via intramuscular, com ketalar (Ketamin), na proporção de 1ml/g de peso animal; 10 a 15 minutos após a anestesia, foi injetado oxitocina (prolacton), via subcutânea, na região abdominal, na proporção de 1ml. Após intervalo de 30 minutos, iniciou-se a coleta manual do leite, através de rodízio no manuseio das tetas, de acordo com a ejeção de maior volume de leite. A coleta durou cerca de uma (1) hora, seguida de punção cardíaca, para retirada do sangue, dosagem de vitamina A; dosagens de glicose, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicerídeos, PTN totais e albumina, no Departamento de Farmácia/UFPE; determinação da alcoolemia, nos grupos que ingeriram álcool e cerveja (Departamento de Engenharia Química/UFPE).

Imediatamente, a pulsão cardíaca à anestesia foi aprofundada, com inalação de éter etílico, para retirada do fígado, lavado com soro fisiológico, pesado em balança analítica de marca OHAUS, modelo AP 2105, para obtenção do peso.

No mesmo dia do sacrifício das mães (12º dia de lactação), as crias foram pesadas e decapitadas, sendo-lhes retirado o sangue, formando um "pool" de sangue para análise.

Além do sangue, foram retirados o cérebro, fígado e coração das crias, seguindo o mesmo protocolo de procedimento descrito para as nutrizes.

As carcaças das mães e o "pool" das ninhadas, após evisceração, foram armazenados a -20°C, para posterior dosagem de gordura da carcaça.

4.2 – Métodos

Todos os alimentos sólidos foram oferecidos sob forma de farinha, sendo analisados previamente (Tabela 1), o mesmo ocorrendo com o teor alcoólico da cerveja do lote utilizado, cuja composição química foi fornecida pela empresa.

4.2.1 - Químicos

A composição centesimal dos alimentos utilizados na dieta foi analisada no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição/UFPE, segundo a metodologia recomendada pela Association of Official Analytical Chemists (HORWITZ, 1975).

O mesmo procedimento foi seguido para a cerveja, tendo as análises constatado teor alcoólico semelhante aos valores fornecidos pela empresa fabricante.

4.2.2 - Biológicos

- ♦ Lactantes: Para o registro, a cada 2 dias, do peso corporal, foi utilizada balança de precisão elétrica, marca OHAUS, capacidade para 2.6/oz. A variação de peso correspondeu à diferença entre o peso inicial (2º dia de lactação) e o peso final (12º dia).

A ingestão alimentar diária (IA) correspondeu à diferença entre a cota oferecida (CO) e o residual (RS) + limpo (RL), em g, calculada através da seguinte fórmula: $IA = CO - (RS + RL)$.

Tabela 1 - Composição centesimal e calórica da dieta e líquidos ingeridos pelos animais em estudo

ALIMENTOS	GRUPOS		GRUPO ÁLCOOL		GRUPO CERVEJA	
	CONTROLE		CONTROLE	PAIR-FED	CONTROLE	PAIR-FED
Arroz	34,00		34,00	34,00	34,00	34,00
Feijão	30,00		30,00	30,00	30,00	30,00
Farinha de Mandioca	12,00		12,00	12,00	12,00	12,00
Frango	11,00		11,00	11,00	11,00	11,00
Fibras	2,17		2,17	2,17	2,17	2,17
Óleo de soja	5,98		5,98	5,98	5,98	5,98
Mistura Vitamínica ¹	1,00		1,00	1,00	1,00	1,00
Sais Minerais ¹	3,50		3,50	3,50	3,50	3,50
Bitartarato de Colina	0,35		0,35	0,35	0,35	0,35
Álcool	-		5,00	-	-	-
Cerveja	-		-	-	100,00	-
Maltodextrina	-		1,90	8,88	-	10,75
Água	100,00		100,00	100,00	-	100,00
% de Calorias ³						
Proteínas	18		18	18	18	18
Carboidratos	64		54	54	54	54
Gorduras	18		18	18	18	18
Etanol ²	-		08	-	-	-
Cerveja ²	-		-	-	10	-
Maltodextrina ²	-		02	10	-	10

1- AIN 93 GCálculo de calorias: etanol = 7,1 cal/g; cerveja = 0,43 cal/g; maltodextrina = 4,0 cal/g

2- 434 cal/100g

- ♦ Ninhadas: O registro do peso corporal das crias (8 em cada ninhada) obedeceu o mesmo procedimento utilizado nas mães, sendo ainda observado o tempo de aparecimento de pêlos no tronco e de abertura dos olhos (indicadores de maturação somática), até o dia do sacrifício (12º dia).

4.2.3 – Bioquímicos

- **Determinações no sangue**

a - Dosagem de Vitamina A

Por ocasião das dosagens, as amostras foram descongeladas, diluídas e centrifugadas (Centrífuga Universal 5403 - EPPENDORF), a 3000 rpm/20 minutos, para determinação de vitamina A no plasma, de acordo com o método de Bessey et al. (1946), modificado por Araújo e Flores (1978).

Após irradiação, durante uma hora, foi realizada a leitura no espectrofotômetro Beckman DO, em comprimento de onda de 325 nm.

b - Dosagem de Glicose, Colesterol (CT) e Triglicerídeos (TG)

O método empregado foi o enzimático, descrito por Trinder (1969) e modificado pelo LABTEST Diagnóstica (Lagoa Santa, MG/BR). A modificação consistiu na colocação de um tampão, que assegura maior sensibilidade e estabilidade das enzimas e reagentes.

Foram utilizadas amostras de 0,02ml (sendo o soro utilizado para a dosagem de TG e CT, e o plasma para a dosagem de glicose). A amostra foi misturada vigorosamente e colocada em banho-maria, a 37°C, por 15 minutos. O nível de água do banho-maria foi superior ao nível dos reagentes.

Determinou-se as absorbâncias do teste e do padrão, em fotocolorímetro com comprimento de onda de 505 nm.

c - Dosagem de HDL-colesterol

As lipoproteínas de alta densidade, ligadas ao colesterol, foram avaliadas por sistema enzimático automatizado, após centrifugação e precipitação quantitativa das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDLs) e das lipoproteínas de baixa densidade (LDLs), por ação do reagente fosfotungstato, utilizando o mesmo princípio metodológico empregado na determinação do colesterol total (RAUTELA; LIEDTKE, 1978). Utilizou-se o "Kit" comercial da Labtest Diagnóstica (Lagoa Santa, MG/BR).

d - Dosagem de LDL-colesterol

Foi utilizado o método indireto, mediante cálculo estimativo do colesterol contido nesta lipoproteína (VIRELLA et al., 1977).

e - Proteínas totais

Utilizou-se o método de biureto, descrito por Gornall, Bardawell e David (1949). Uma amostra de 0,1 ml de soro e 0,5 ml de Biureto foi colocada em tubo de ensaio, misturada e deixada em repouso por 15 minutos, à temperatura ambiente, até obter coloração azul violeta. Após o tempo de repouso, foi realizada a leitura, no fotocolorímetro, em comprimento de onda de 545nm. Utilizou-se o "Kit" comercial da Labtest Diagnóstica (Lagoa Santa, MG/BR).

f - Albumina

Dosada pela metodologia de ligação com corantes, sendo utilizado o verde de bromocresol. O sistema de medição se baseia no desvio do pico de absorvidade máxima do corante complexo, quando se liga à albumina. A cor que aparece é medida colorimetricamente entre 600-640 nm, sendo proporcional à quantidade de albumina na amostra, até a concentração de 610g/dl. Utilizou-se o "Kit" comercial da Labtest Diagnóstica (Lagoa Santa, MG/BR).

- **Determinação do conteúdo de gordura total na carcaça**

A dosagem seguiu a metodologia de Entenman (1957), com modificações. As carcaças foram moídas, separando-se 20g, colocadas em becker de 100ml. Adicionou-se 40ml de KOH (30%) e deixou-se em repouso, por 12 horas. Em seguida, foram levadas ao banho-maria, por 3 horas, adicionando-se etanol absoluto (concentração 50-60% do volume total final) $\pm$ 20ml, com retorno ao banho-maria, por mais 2 horas, até a dissolução total dos tecidos. Após retirada do banho-maria, foi medido o volume final do homogenato, retirando-se 5 ml, colocados em tubos de 50ml com tampa esmerilhada e levados à estufa (60°C), para evaporar o etanol, por $\pm$ 2 horas; a seguir, deixou-se esfriar.

Foram adicionados 5ml de H₂SO₄ 5N, agitando-se por 2 minutos, sendo verificada a acidez da solução, com papel tornassol.

Em continuidade, foram acrescentados 20ml de clorofórmio, agitando-se por 3 minutos; a seguir, a solução foi centrifugada, por 20 minutos.

Posteriormente, foram retirados 5ml da fase do CHCl₃, colocados nos beckers, em duplicata, e levados à estufa (105°C), por 24h, sendo então realizada a 1^a pesagem. Determinou-se a umidade até peso constante.

- Determinação da composição do leite das ratas

A retirada do leite foi realizada no 12º dia, antes do sacrifício, segundo técnica descrita por Keen et al. (1981). As mães foram separadas das crias, por um período de 1-2 horas (KEEN et al., 1981; PINE; JESSOP; OLDHAM, 1994); em seguida, anestesiadas com Ketalar (Ketamin 1 ml/g de peso corporal), no músculo glúteo; após o início do efeito anestésico, aplicou-se injeção intra-peritoneal de oxitocina (1 ml = 5UI). Após um período de 10-30 minutos, procedeu-se à coleta do leite, por retirada manual das glândulas mamárias (inguinais e peitorais), colocado em tubos de ensaio de 5ml, com tampa, sendo imediatamente acondicionados em freezer a -20°C, para posterior determinação de CH, PTN, triglicerídeos, lipídeos e minerais.

a - CARBOIDRATO: A determinação colorimétrica dos CH em cada 10ml de alíquotas do leite foi feita em solução de fenol e ácido sulfúrico concentrado,

seguindo basicamente o método descrito por Dubois et al. (1956). A leitura da densidade óptica foi realizada em espectrofotômetro, a 540nm, e os resultados expressos em g/dl.

b - TRIGLICERÍDEOS: Pesquisados pelo método enzimático colorimétrico, conforme descrito por Bucolo e David (1973), utilizando-se o "kit" comercial da LABORLAB (Laborlab Ltda., Guarulhos/SP). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 505nm, sendo os resultados expressos em mg de T G/dl de leite.

c - LIPÍDEOS TOTAIS: Obtidos pelo método colorimétrico com ácido sulfúrico concentrado, utilizando-se o "kit" comercial Doles (Goiânia/GO). A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 530nm e os resultados expressos em mg/dl de leite.

d - PROTEÍNAS TOTAIS: Dosadas pelo método clássico de biureto, utilizando-se "kit" comercial da LABORLAB (Laborlab Ltda, Guarulhos/SP), de acordo com o princípio da união bromocresol - sulfonaftaleína. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 540nm, sendo os resultados expressos em g/dl de leite.

e- MINERAIS: Sódio e potássio foram analisados pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica (AOAC, ref. nº 990.23,1998).

4.2.4 - Físico-Químicos

a - Determinação de ETANOL

A alcolemia foi realizada a partir de amostras de 1ml de sangue fresco, retirado das fêmeas adultas no dia do sacrifício.

As alíquotas foram imediatamente acondicionadas em frasco vaporizador de vidro, com tampa de borracha e invólucro de alumínio, sendo armazenadas a -20°C, até o dia das análises.

As determinações foram realizadas no Laboratório de Cromatografia Instrumental/Departamento de Engenharia Química/CTG/UFPE, utilizando a técnica de cromatografia gasosa, descrita por Eriksson, Sippel e Forsander (1977).

Todas as amostras foram dosadas nas seguintes condições:

1- Técnica Oficial

- Frasco vaporizador de 10ml;
- Solução padrão de etanol (0,0482%) de cada substância;
- Alíquota do padrão introduzida no frasco vaporizador: 1ml de solução;
- Alíquota das amostras injetadas: 0,5ml do vapor das amostras de sangue;
- Tempo de permanência da amostra na estufa a 120°C: 10 minutos;
- Duração da análise no cromatógrafo: 3 minutos.

2- Condições Cromatográficas

- Cromatógrafo à Goz, modelo CG - Master;
- Detector: de ionização de chama;
- Temperatura do detector: 140°C;
- Temperatura do vaporizador: 120°C;
- Coluna: CARBOWAX 20M, 10%;
- Temperatura da coluna: 100°C 1,8n x 1/8";
- Vazão Fase Monel(N₂): 30ml/min

4.2.5 - Estatísticos

Para a análise dos dados foram obtidas análises descritivas através da média e do desvio padrão e a técnica de estatística inferencial,

através do teste não paramétrico de Mann-Whitney, Logrank, e testes de duas proporções (CONOVER,1980).

A escolha do teste não paramétrico foi ocasionada pelo número de casos, insuficiente para verificar a hipótese de normalidade dos dados em cada grupo, exigência necessária para a utilização do teste t-Student.

O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0% (ALTMAN, 1991) e o software para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SAS (Statistical Analysis System), na versão 8.0.

5. RESULTADOS

Com o objetivo de facilitar a análise dos resultados obtidos, inicialmente serão descritos os parâmetros avaliados nas ratas lactantes, nos diferentes grupos e, posteriormente, em suas respectivas crias.

Efeito do etanol sobre o peso corporal, parâmetros teciduais e plasmáticos

A) LACTANTES

Analisando o efeito do etanol sobre o peso corporal materno, através da figura 1, observa-se que as ratas do GC no 12º dia apresentaram peso corporal significativamente superior ao dos animais do GA. Por outro lado, o grupo GCER apresentou um peso corporal superior ao GC, durante o período experimental; entretanto, esta diferença mostrou-se significativa apenas nos 2º e 10º dias de lactação.

Na comparação do GA e GCER, observa-se ganho de peso significativo do último, já a partir do 2º dia, sendo esta diferença mantida nos 4º, 8º e 10º dias.

Em relação ao efeito do etanol sobre a composição química do leite materno, os resultados estão apresentados na tabela 2 e demonstram ter havido redução significativa nos teores de TG do GPFA, quando comparado ao GA. Nos demais, nenhuma variação ocorreu em relação ao controle, fato constatado também nos teores de PTN, lipídios e sódio. A lactose foi a dosagem que apresentou maior variação entre os grupos, com valor significativamente mais elevado no GCER, quando comparado ao GC, GA e GPFCER. O valor do GPFA revelou diferença significativamente maior, em relação ao GA e ao GPFCER. Por outro lado, o potássio mostrou-se significativamente aumentado no GA, quando comparado ao GC.

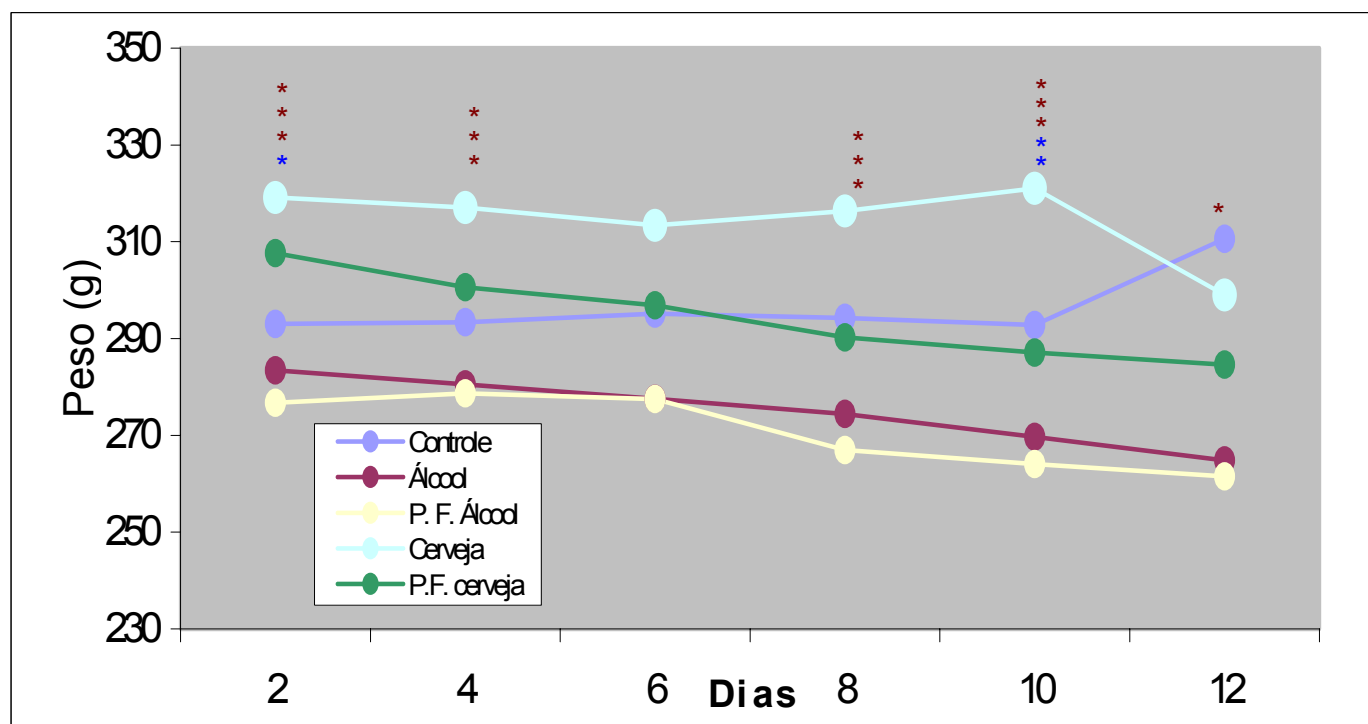


Figura 1 - Curva ponderal de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

* $P < 0,05$ = Controle vs Álcool ** $P < 0,05$ = Cerveja vs Controle *** $P < 0,05$ = Álcool vs Cerveja

Tabela 2 - Composição química do leite materno de ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

Composição química	GRUPOS				
	Controle (a)	Álcool (b)	Pair-Fed Álcool (c)	Cerveja (d)	Pair-Fed cerveja (e)
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Proteína (g/100ml)	7,61 ± 1,99	7,08 ± 3,04	7,31 ± 0,44	8,06 ± 2,07	8,44 ± 3,08
Triglicerídeos (mg/100ml)	1,28 ± 0,38	1,16 ± 0,23 ^(c)	0,69 ± 0,32	1,29 ± 0,12	0,92 ± 0,41
Lípidos (mg/100ml)	1,80 ± 0,90	1,51 ± 0,80	1,23 ± 0,40	2,18 ± 0,59	1,49 ± 0,43
Lactose (g/100ml)	3,49 ± 1,14 ^(d)	3,57 ± 1,26 ^(c, d)	5,02 ± 0,89 ^(E)	5,92 ± 0,85 ^(E)	2,91 ± 0,58
Sódio (mg %)	26,72 ± 14,21	46,79 ± 20,17	31,99 ± 5,71	35,56 ± 15,63	26,80 ± 17,51
Potássio (mg %)	39,73 ± 19,27 ^(b)	64,48 ± 16,30	45,83 ± 19,53	50,74 ± 10,99	31,71 ± 23,73

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no teste de MANN-WHITNEY.

Analizando o efeito do etanol sobre os parâmetros bioquímicos do sangue, observa-se, na tabela 3, que a glicemia materna foi reduzida significativamente no GA, em relação ao GCER, e no GPFA, em comparação ao GPFCER. O teor de colesterol manteve-se semelhante entre os diversos grupos estudados e o GC, com exceção da comparação dos dois grupos pair-fed, em que ocorreu redução significativa no GPFA. Os valores da HDL-C, LDL-C, TG e albumina não diferiram, nos grupos analisados. No entanto, a proteína do GCER mostrou-se a mais alta entre os grupos, com diferença estatística em relação ao GA e ao GC. O teor de vitamina A circulante nas ratas que ingeriram etanol e cerveja ocasionou uma diminuição significativa na sua concentração ($p < 0,01$)

Nos resultados explicitados na tabela 4 denota-se o efeito do etanol sobre o peso do fígado e do rim. Observa-se que o tratamento com álcool e cerveja não provocou alteração no peso relativo do fígado nos grupos estudados. No que concerne ao peso relativo dos rins, ficou demonstrado que o GA e o GCER foram significativamente maiores do que seus respectivos pair-fed e o GA significantemente maior que o GC.

O efeito do etanol sobre a gordura da carcaça (Tabela 5) evidencia que o teor de gordura corporal foi significativamente maior no grupo que recebeu cerveja, em relação ao seu pair-fed GA, e ao GC.

Um outro aspecto estudado foi a ingestão alimentar/calórica relativa diária (Figura 2), que apresentou diferença significativa no 2º dia, apenas entre os pair-fed (GPFA > GPFCER). No 4º dia, o GA apresentou valores significativamente mais elevados em relação ao GCER e entre os pair-fed (GPFA > GPFCER). No 8º dia, o GC mostrou-se significativamente maior que o GCER.

Analizando a ingestão hídrica relativa diária (Tabela 6), denota-se a superioridade significativa do GCER em relação ao GC (2º dia), GA (2º ao 12º dia), e GPFCER (2º ao 6º, 10º e 12º dia). Por outro lado, a ingestão calórica hídrica mostrou-se significantemente diferente entre os grupos, com maiores volumes ingeridos no GCER vs GA e GPFCER, em todos os dias, com exceção do GPFCER, no 8º dia (Tabela 7).

Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

Parâmetros	GRUPOS				
	Controle (a)	Álcool (b)	Pair-Fed Álcool (c)	Cerveja (d)	Pair-Fed cerveja (e)
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Glicose (mg/dl)	111,49 ± 16,67	74,62 ± 37,16 ^(d)	88,67 ± 45,04 ^(e)	122,32 ± 27,13	146,85 ± 25,41
Colesterol (mg/dl)	122,15 ± 19,47	114,07 ± 18,48	110,25 ± 30,34 ^(e)	164,98 ± 60,77	172,50 ± 38,82
HDL-C (mg/dl)	41,18 ± 9,66	42,62 ± 9,07	43,52 ± 10,42	53,47 ± 20,34	57,32 ± 10,24
LDL-C (mg/dl)	57,58 ± 17,67	50,63 ± 7,19	62,27 ± 15,59	90,73 ± 52,71	92,27 ± 34,86
Triglicerídeos (mg/dl)	92,57 ± 21,15	90,67 ± 36,20	100,83 ± 24,59	109,83 ± 9,52	104,67 ± 31,81
Proteína (g/dl)	4,45 ± 1,39 ^(d)	4,55 ± 1,18 ^(d)	5,57 ± 0,96	6,02 ± 1,21	5,45 ± 1,07
Albumina (g/dl)	2,57 ± 0,29	2,52 ± 0,75	2,60 ± 0,58	2,52 ± 0,62	2,12 ± 0,35
Vitamina A (mmol/l)	102,72 ± 4,32 ^(B, D)	53,38 ± 17,82	39,72 ± 15,77	37,99 ± 14,23	47,06 ± 2,52

• Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no teste de MANN-WHITNEY.

Tabela 4 – Peso úmido relativo dos órgãos de RNs e de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

Parâmetros (g)	GRUPOS				
	Controle (a) Média ± DP ¹	Álcool (b) Média ± DP	Pair-Fed Álcool (c) Média ± DP	Cerveja (d) Média ± DP	PAIR-FED CERVEJA (e) Média ± DP
· <u>Ratas Lactantes</u>					
Peso do fígado	3,33 ± 0,50	3,39 ± 0,10	3,39 ± 0,46	3,26 ± 0,17	3,24 ± 0,17
Peso do Rim	0,30 ± 0,04 ^(b)	0,37 ± 0,03 ^(c)	0,31 ± 0,01	0,35 ± 0,03 ^(e)	0,32 ± 0,01
· <u>Ninhadas</u>					
Peso do fígado	3,06 ± 0,56	3,39 ± 0,45	3,36 ± 0,54	3,18 ± 0,49	3,12 ± 0,46
Peso do rim	0,09 ± 0,01 ^(B)	0,26 ± 0,36 ^(D)	0,82 ± 0,01 ^(E)	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,02
Peso do coração	0,62 ± 0,23	0,65 ± 0,11	0,65 ± 0,10	0,58 ± 0,09	0,56 ± 0,07
Peso do cérebro	3,77 ± 0,67 ^(b)	4,68 ± 0,35	4,74 ± 0,47 ^(e)	4,11 ± 0,84	3,94 ± 0,70

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no teste de MANN-WHITNEY.

Tabela 5 – Gordura da carcaça (g) de RNs e de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

GRUPOS	Grupos				
	Controle	Álcool	Pair-Fed Álcool	Cerveja	Pair-Fed cerveja
	(a) Média ± DP	(b) Média ± DP	(c) Média ± DP	(d) Média ± DP	(e) Média ± DP
Ratas Lactantes	8,23 ± 0,73 ^(d)	6,97 ± 1,69 ^(d)	7,41 ± 2,31	11,37 ± 3,13 ^(e)	7,07 ± 2,18
Recém-nascidos	6,06 ± 1,44	4,61 ± 1,05 ^(d)	3,92 ± 0,40	7,36 ± 1,51	5,35 ± 1,81

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no teste de MANN-WHITNEY.

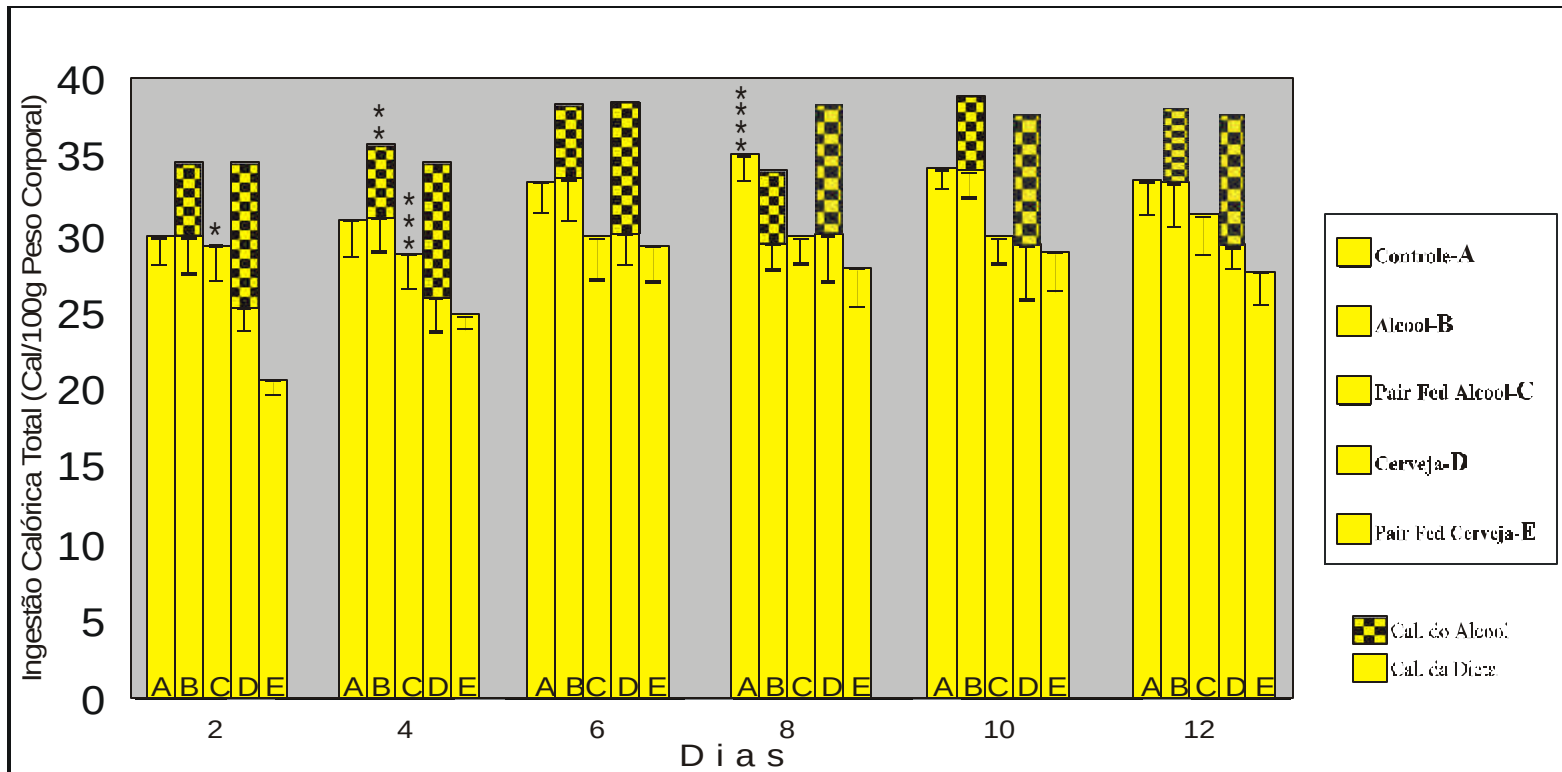


Figura 2 – Ingestão relativa total de calorias provenientes do álcool e da dieta de ratas lactantes

* $P < 0,01$ – C vs E

** $P < 0,05$ – B vs D

*** $P < 0,05$ – C vs E

**** $P < 0,01$ – A vs D

Tabela 6 - Ingestão líquida relativa diária de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

INGESTÃO LÍQUIDA RELATIVA (ml)						
Grupos	Dias					
	2 Média ± DP	4 Média ± DP	6 Média ± DP	8 Média ± DP	10 Média ± DP	12 Média ± DP
Controle (a)	11,71 ± 4,08 (D)	13,96 ± 3,27 (D)	16,15 ± 2,41 (b,D)	17,45 ± 2,44 (b)	19,26 ± 2,84 (b)	17,82 ± 2,54
Álcool (b)	11,68 ± 2,98 (D)	9,54 ± 3,28 (D)	12,58 ± 3,15 (D)	12,75 ± 3,51 (d)	13,33 ± 3,05 (d)	15,67 ± 1,75 (d)
Pair-fed álcool (c)	12,01 ± 3,14	9,59 ± 3,11	11,61 ± 3,80	13,21 ± 3,58	19,90 ± 2,81	15,29 ± 3,29
Cerveja (d)	21,03 ± 2,65 (e)	21,13 ± 2,86 (e)	20,73 ± 4,41 (e)	21,02 ± 3,70	20,55 ± 4,40 (e)	21,11 ± 4,57 (e)
Pair-fed cerveja (e)	16,03 ± 2,83	13,78 ± 5,71	13,78 ± 5,71	17,20 ± 5,70	12,79 ± 4,60	15,19 ± 2,62

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula $p < 0,01$, segundo o teste de MANN-WHITNEY.

Tabela 7 - Calorias líquidas diárias de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

INGESTÃO LÍQUIDO/CALÓRICA (ml)						
Grupos	Dias					
	2 Média ± DP	4 Média ± DP	6 Média ± DP	8 Média ± DP	10 Média ± DP	12 Média ± DP
Controle (a)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Álcool (b)	4,20 ± 1,05 (D)	3,44 ± 1,18 (D)	4,53 ± 1,13 (D)	4,59 ± 1,26 (d)	4,80 ± 1,10 (d)	5,64 ± 0,63 (d)
Pair-fed álcool (c)	4,32 ± 1,13 (E)	3,46 ± 1,12	4,18 ± 1,37	4,75 ± 1,29	4,64 ± 1,01	5,51 ± 1,18
Cerveja (d)	8,83 ± 1,11 (e)	7,61 ± 1,03 (e)	7,46 ± 1,59 (e)	7,57 ± 1,33	7,40 ± 1,59 (e)	7,60 ± 1,65 (e)
Pair-fed cerveja (e)	6,73 ± 1,19	4,96 ± 5,71	6,08 ± 2,04	6,19 ± 2,05	4,67 ± 1,66	5,47 ± 0,94

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula $p < 0,01$, segundo o teste de MANN-WHITNEY.

Observando o efeito do etanol sobre a ingestão calórica total relativa (Figura 3), verifica-se que a ingestão calórica alimentar foi reduzida com a bebida destilada (GA) e fermentada (GCER), com diferença significativamente maior do GA e GC em relação ao GCER. No entanto, a ingestão calórica hídrica foi maior no GCER, em relação a todos os grupos, mostrando diferença a nível de $p < 0.01$, em relação ao GA, e a nível de $p < 0.05$, para o GPFCER. Quanto ao consumo de calorias totais no período (Figura 3), foi maior no GCER em relação ao GC e GPFCER, similar ao GA, com ingestão maior do que o GC.

Analisando a IA (Figura 4), constata-se superioridade do GC e GA em relação ao GCER, mostrando que este parâmetro foi influenciado apenas pela bebida destilada. Quanto à ingestão hídrica do período, foi significativamente maior no GCER, em relação ao GA, GPFCER e GC e, neste último, em relação ao GA.

Considerando o efeito do etanol sobre a ingestão etílica (Figura 5), observa-se que a ingestão absoluta e relativa, durante o período experimental, com os animais tratados com cerveja foi significativamente maior do que no GA ($p < 0.001$). Por outro lado, o teor de álcool no sangue (alcoolemia), analisado no dia do sacrifício (12º dia), apesar de ter sido maior no GCER, não mostrou diferença significativa.

B) RECÉM-NASCIDOS

Os resultados apresentados na figura 6 evidenciam que o peso dos RNs de mães que ingeriram álcool e seus pair-fed não mostrou retardo do crescimento, quando comparado ao controle. Por outro lado, os RNs do GCER mantiveram maior peso durante todo o período do estudo, todavia este aumento só foi significativo no 8º dia, em relação ao GC, e no 12º dia, ao GA.

Quanto aos pesos relativos dos órgãos estudados (Tabela 4), os do fígado e do coração foram semelhantes, em todos os grupos. O mesmo não foi observado quanto ao peso do rim e do cérebro, bastante aumentado no GA, em relação ao controle (rim: $p < 0.01$; cérebro: $p < 0.05$); fato semelhante também ocorreu entre os pair-fed. Por outro lado, neste mesmo grupo (GA), o peso do rim estava significativamente aumentado ($p < 0.01$), em relação ao GCER.

Na tabela 5 observa-se, nos teores de gordura da carcaça, aumento no GCER, em relação a todos os grupos; contudo, a diferença foi significativa apenas em relação ao GA.

Outro aspecto a ser considerado é a maturação somática, avaliada pelo tempo de abertura dos olhos (Tabela 8) e do aparecimento de pêlos no tronco (Tabela 9); observa-se que o tratamento com álcool provocou retardo significativo do dia de aparecimento de pêlos, no GCER, em relação ao GC, GA e GPFCER, apesar de todos os RNs estarem com pêlos no 12º dia. Do mesmo modo, o dia de abertura dos olhos foi significativamente retardado ($p<0,01$) pelas duas formas de etanol ingerido (destilado e fermentado), em relação ao GC.

A incidência de mortalidade pós-natal está demonstrada na tabela 10, evidenciando-se o efeito do consumo de etanol pelo aumento significativo de animais mortos, devorados, e da mortalidade total dos grupos GA e GCER, em comparação ao GC; motivo pelo qual utilizou-se grande número de animais para conclusão do estudo com 48 RNs por ninhadas por grupo. Os grupos tratados com etanol (GA e GCER) apresentaram diferença significativa, em relação aos seus respectivos pair-fed, em todos os parâmetros estudados. Na análise entre os pair-fed, observa-se esta diferença significativa, com filhotes devorados apenas no GA.

A tabela 11 apresenta os parâmetros bioquímicos do sangue, no 12º dia de vida, verificando-se que a glicose e o LDL-C do GA foram significativamente inferiores ($p<0,01$) aos valores dos GC e GCER, sendo este último significativamente maior que o GC. Entretanto, ao comparar os pair-fed, apenas o LDL-C apresentou-se significativamente menor em relação ao GPFA.

Quanto aos valores obtidos nas determinações de HDL-C, TG, PTN e albumina, não foi constatada nenhuma diferença estatística entre os resultados; no entanto, o teor de CT, na comparação entre os pair-fed, evidenciou aumento significativo para o GPFCER.

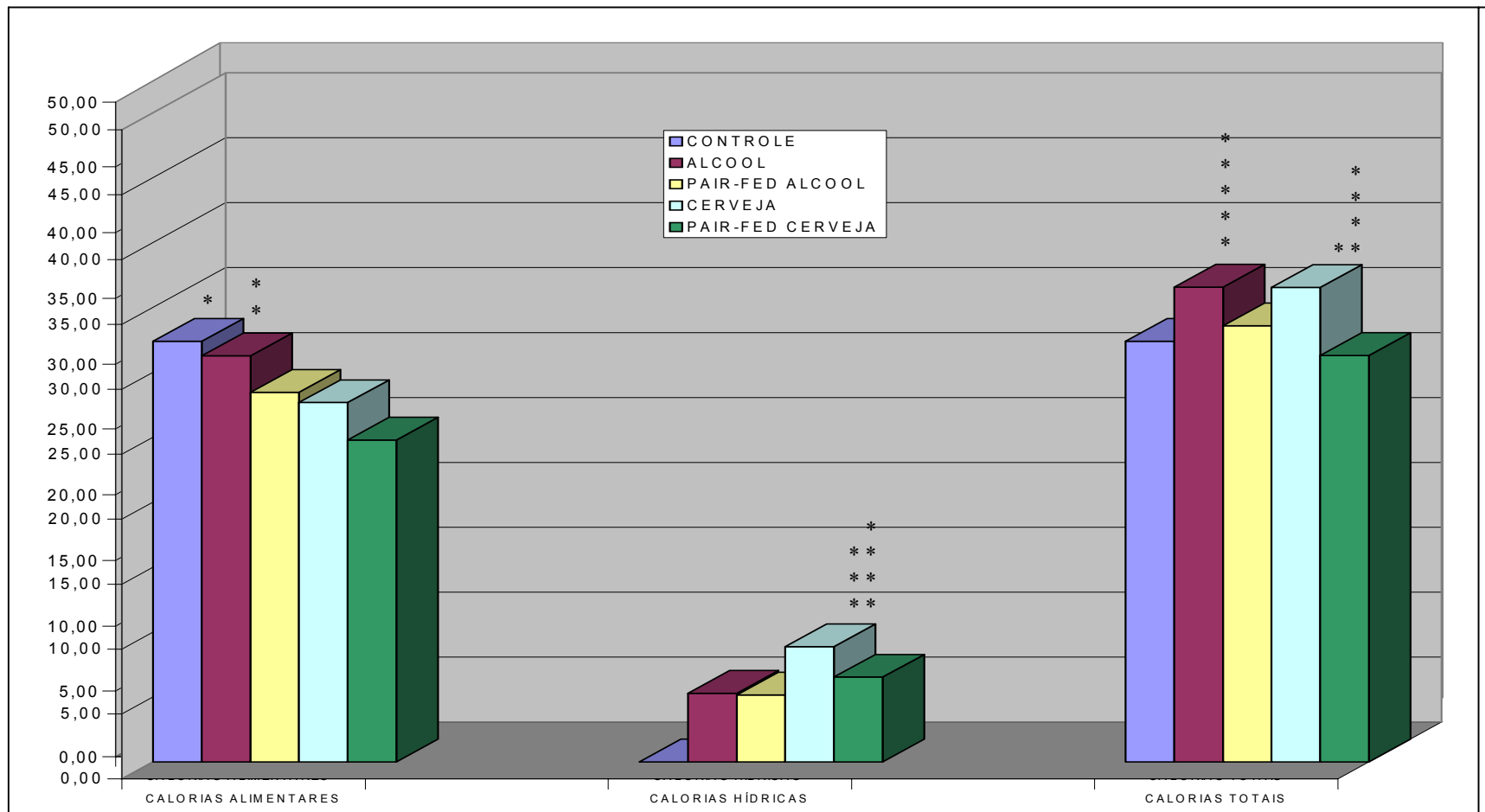


Figura 3 – Ingestão calórica total, alimentar e hídrica relativa de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

* $p < 0,01$ = GC vs GCER ** $p < 0,05$ = GA vs GCER *** $p < 0,01$ = GCER vs GA **** $p < 0,05$ = GCER vs GPFCER ***** $p < 0,05$ = GA vs GC

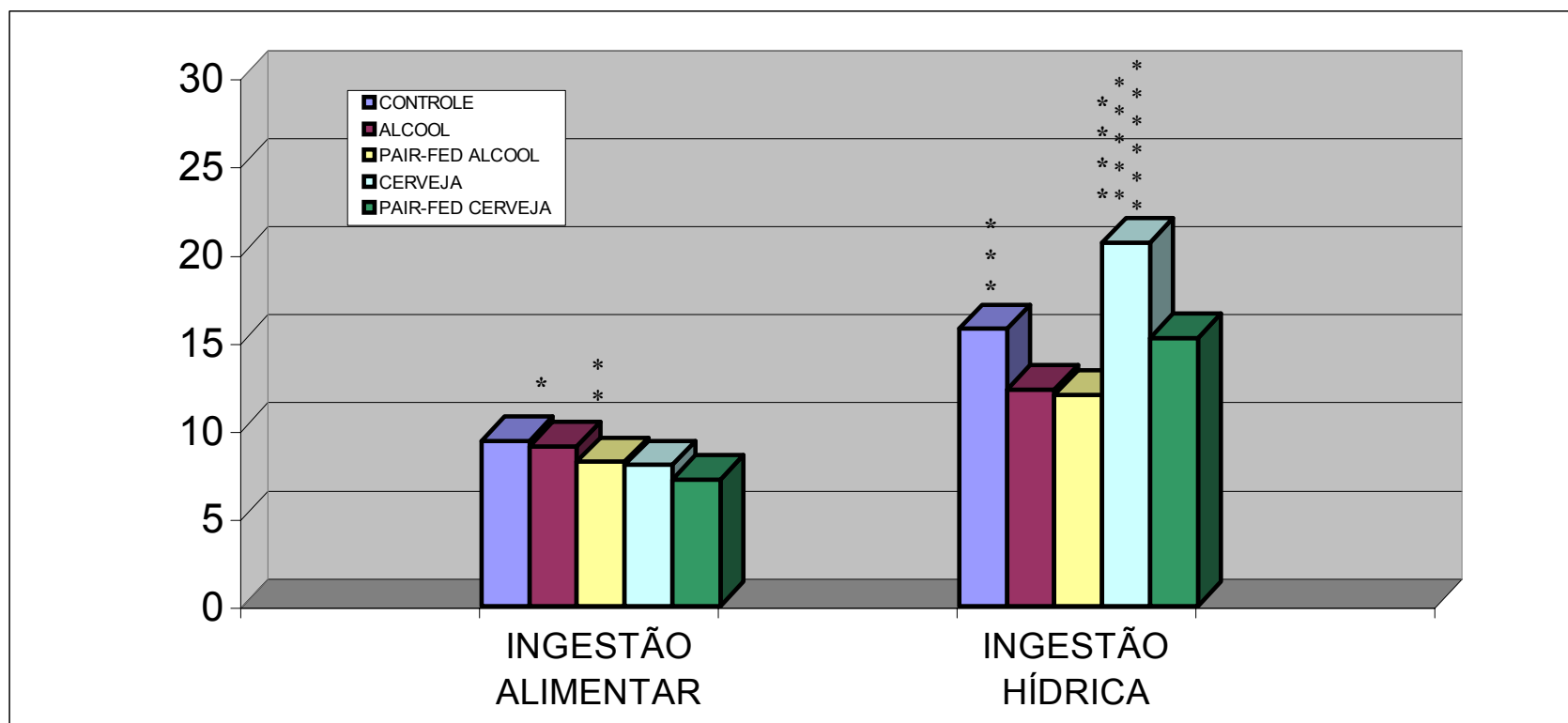


Figura 4 – Ingestão hídrica e alimentar relativa de ratas lactantes submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

* $p < 0,01$ = GC vs GCER

** $p < 0,005$ = GA vs GCER

*** $p < 0,05$ = GC vs GA

**** $p < 0,01$ = GCER vs GC

***** $p < 0,05$ = GCER vs GA

***** $p < 0,05$ = GCER vs GPFCER

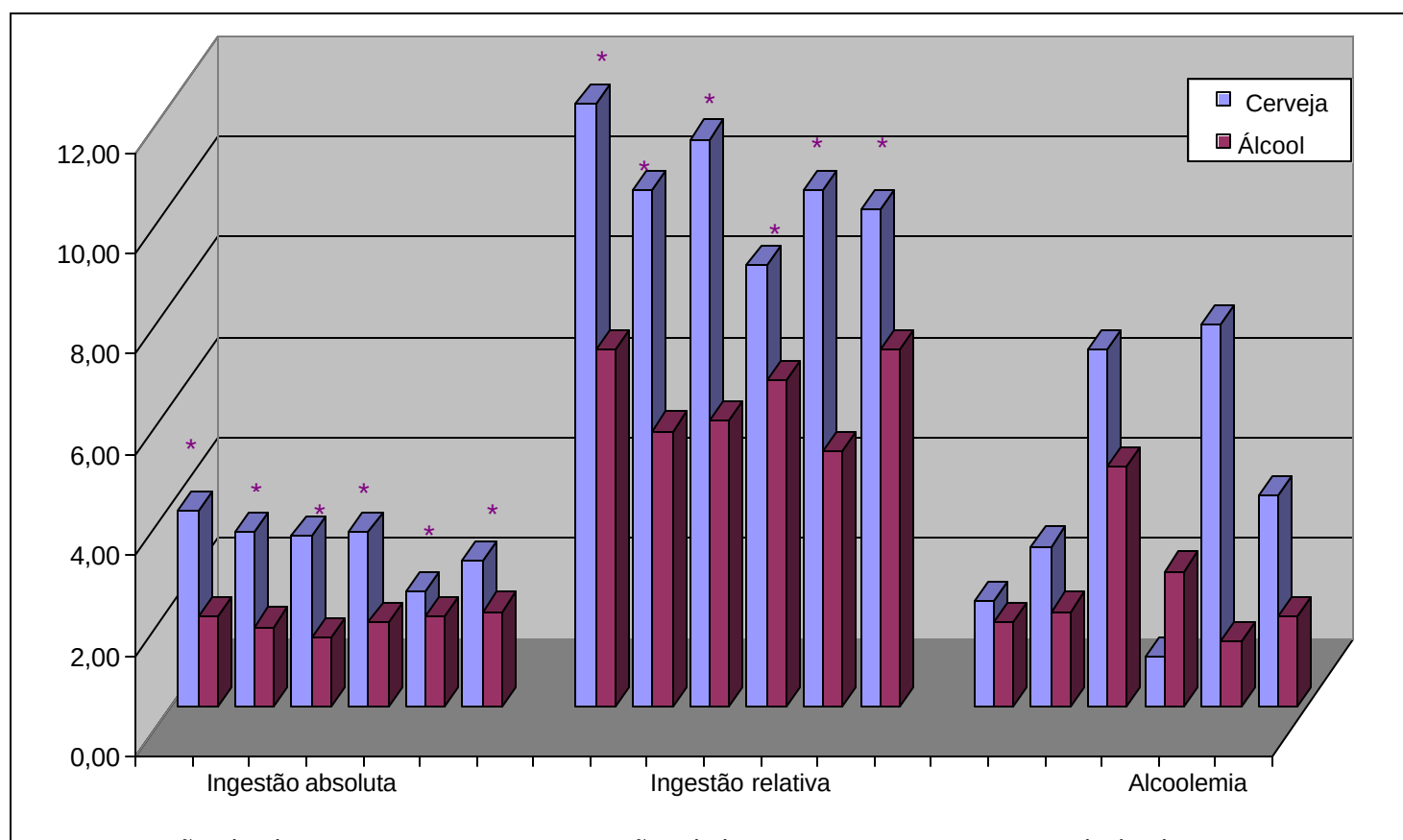


Figura 5 - Ingestão etílica absoluta, relativa e alcoolemia de ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionadas de cerveja (5%) ou etanol (5%)

* $P < 0,001$ = Cerveja vs Álcool

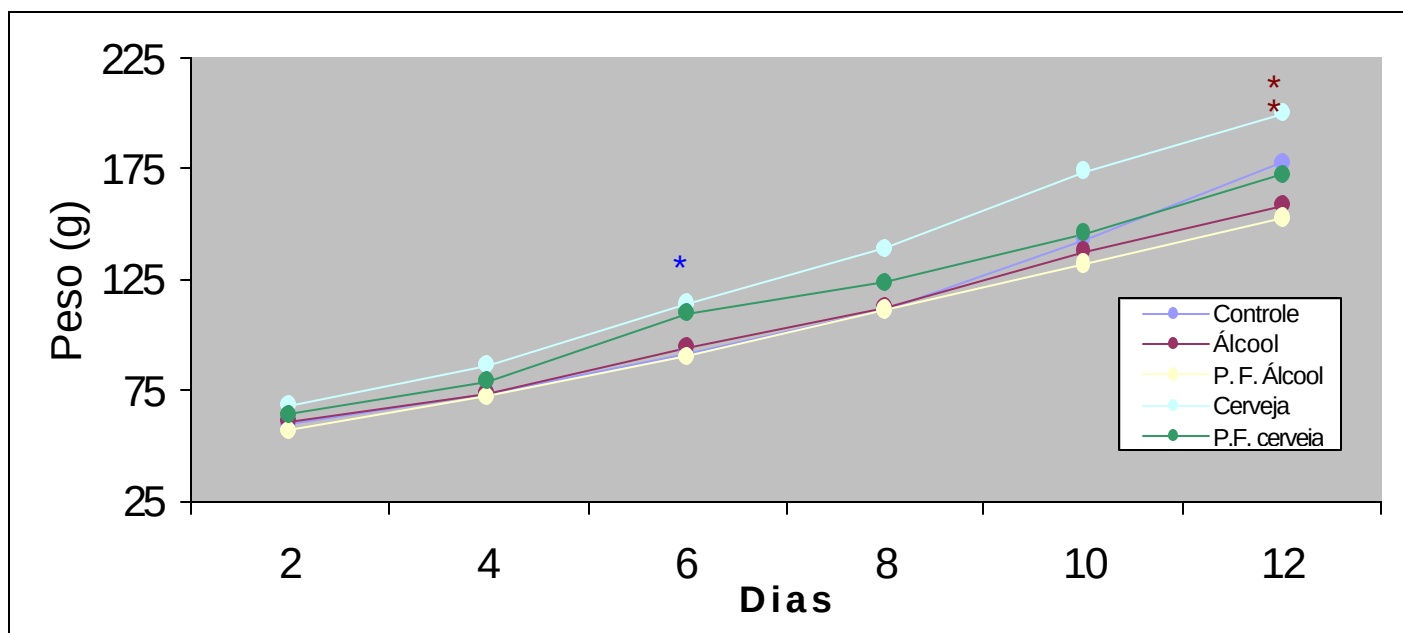


Figura 6 - Curva ponderal das ninhadas de mães submetidas a uma mistura alimentar, adicionadas de cerveja (5%) ou etanol (5%)

* $P < 0,05$ = Cerveja vs Controle

** $P < 0,05$ = Cerveja vs Álcool

Tabela 8– Indicador de Maturação Somática: Tempo de abertura dos olhos (dias) dos RNs amamentados por ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) e etanol (5%)

Grupos	Nº de RNs que abriram os olhos até o 12º dia	Mediana	[Mínimo- Máximo]
Controle (a)	48 / 48	12,00 ^(B, D)	[12 - 12]
Álcool (b)	3 / 48	*	[11 - 12]
Pair - fed álcool (c)	2 / 48	*	[11 - 12]
Cerveja (d)	4 / 48	*	[11 - 12]
Pair - fed cerveja (e)	3 / 48	*	[11 - 12]

• Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, segundo o teste de LOGRANK.

* - Ausência de dados para o cálculo da mediana.

Tabela 9 – Indicador de maturação somática: Tempo de aparecimento de pêlos (dias) de RNs amamentados por ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

Grupos	Nº de RNs com pêlos até o 12º dia.	Mediana	[Mínimo- Máximo]
Controle (a)	48 / 48	7,00	[6 - 8]
Álcool (b)	48 / 48	7,00	[4 - 7]
Pair - fed álcool (c)	48 / 48	7,00	[5 - 7]
Cerveja (d)	48 / 48	8,00	[5 - 8]
Pair- fed cerveja (e)	48 / 48	7,00	[4 - 7]

• Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no teste de MANN-WHITNEY.

Tabela 10 – Incidência de mortalidade pós-natal nos diferentes grupos

GRUPOS	Recém-nascidos						
	Período Experimental		Devorados		Mortos		Mortalidade Total
	Início	Fim	N	%	N	%	
Controle	51	48	-	-	3	5,9 ^(B)	5,9 ^(B,D)
Álcool	208	48	54	26 ^(C)	106	51,0 ^(C,D)	76,9 ^(C,D)
Pair-fed álcool	62	48	6	9,7 ^(e)	8	12,9	22,6
Cerveja	119	48	37	31,1 ^(E)	34	28,6 ^(e)	59,7 ^(E)
Pair-fed cerveja	56	48	-	-	8	14,3	14,3

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no TESTE DE DUAS PROPORÇÕES.

Tabela 11– Parâmetros bioquímicos de RNs amamentados por ratas submetidas a uma mistura alimentar, adicionada de cerveja (5%) ou etanol (5%)

Parâmetros	Controle (a) Média ± DP	Álcool (b) Média ± DP	Pair-Fed Álcool (c) Média ± DP	Cerveja (d) Média ± DP	Pair-Fed cerveja (e) Média ± DP
Glicose (mg/dl)	138,37 ± 2,90 ^(B, d)	91,03 ± 28,71 ^(D)	116,73 ± 32,95	161,32 ± 20,74	164,25 ± 41,62
Colesterol (mg/dl)	185,57 ± 7,79	169,17 ± 32,18	138,82 ± 35,16 ^(e)	210,27 ± 50,58	191,58 ± 34,05
HDL-C (mg/dl)	55,75 ± 5,65	56,47 ± 6,92	49,60 ± 13,30	65,28 ± 7,84	62,52 ± 7,35
LDL-C (mg/dl)	115,67 ± 8,41 ^(B, d)	67,03 ± 9,12 ^(D)	65,93 ± 19,43 ^(e)	139,90 ± 15,60	122,73 ± 33,00
Triglicerídeos (mg/dl)	128,75 ± 6,63	143,57 ± 27,10	138,17 ± 26,59	135,63 ± 20,55	129,70 ± 22,70
Proteína (g/dl)	4,10 ± 0,70	5,08 ± 1,27	4,73 ± 0,98	4,87 ± 0,74	4,52 ± 1,12
Albumina (g/dl)	2,15 ± 0,40	2,02 ± 0,28	2,23 ± 0,29	2,33 ± 0,43	1,82 ± 0,40

- Letra entre parênteses indica diferença significativa do grupo representado na respectiva linha com o grupo da letra correspondente, sendo minúscula, ao nível de significância $p < 0,05$, e maiúscula, ao nível $p < 0,01$, no teste de MANN-WHITNEY.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo foi utilizado um método que causa menor **stress** materno e se aproxima mais do modelo humano (TAVARES DO CARMO, 1993; TESTAR et al., 1986). Entretanto, a administração de álcool é apontada por Silva, Ribeiro e Masur (1980), como uma das maiores dificuldades para comparações em estudos experimentais, pela grande variedade de aspectos específicos envolvidos. Há trabalhos utilizando a via intramuscular, intra-peritoneal, dieta líquida, gavagem, e como parte do consumo "ad libitum" dos animais experimentais (FUCHS, 1969; HEIL; SUBRAMANIAM, 2000; LINCOLN, 1973; NAASSILA; DAOUST, 2002; OYAMA et al., 2000a; REN et al., 2002).

Outro ponto bastante discutido, na literatura (OTHMAN et al., 2002; OYAMA et al., 2000b), em relação aos ratos lactantes, é o percentual de álcool utilizado, que freqüentemente varia em torno de 10% a 20%. Entretanto, no presente trabalho usou-se apenas 5% de etanol (forma destilada e fermentada/cerveja), bem abaixo dos valores apontados na literatura. Foram utilizadas duas formas de bebida, para avaliar se o álcool teria o mesmo efeito na nutrição e no metabolismo dos grupos estudados.

Sabe-se que a ingestão de etanol pode levar a alterações do metabolismo intermediário de CH, PTN e gorduras, ocasionando um paradoxo entre o álcool e o peso corporal. A ingestão diária de etanol foi de 6,18kg/dia $\pm$ 0,86 (bebida destilada) a 10,45kg/dia $\pm$ 1,12 (bebida fermentada). Segundo Arola et al. (1997), a ingestão de pequena quantidade de álcool não tem efeito sobre o peso corporal e, se moderada, poderá levar a um aumento de peso, por efeito supressor da via de oxidação lipídica, enquanto a ingestão crônica de doses excessivas, em alcoólicos, acarreta perda de peso, provavelmente por aumento da oxidação lipídica e do gasto energético, associado a alterações de vitaminas lipossolúveis, hidrossolúveis e elementos traços, como: Mg, Se e Zn (MAILLOT; FARAD; LAMISSE, 2001).

Para Ferner (2001), a relação entre a ingestão etílica e a alcoolemia é bastante variável, dependendo principalmente do *background* genético do grau de absorção, da eliminação e do volume distribuído pelo corpo (relação

entre a quantidade corporal / concentração sanguínea), sendo que essa distribuição poderá sofrer alterações conforme a idade, sexo, etnia, altura, peso e composição corporal (FERNER, 2001; SILVA et al., 1993).

No presente estudo, a ingestão de etanol na forma destilada provocou redução de peso das mães apenas no 12º dia, em comparação ao grupo que não recebeu álcool. Achados semelhantes foram encontrados por Subramanian (1995a) e Detering et al. (1979), que relataram redução de peso só após o 8º e 21º dia de lactação, respectivamente.

Por outro lado, vários autores apontam a perda de peso durante todo o período experimental, em ratas lactantes (ALBUQUERQUE et al.,1998; HEIL; SUBRAMANIAN, 2000; NEVES; FACCIN; TAVARES DO CARMO, 1995; OTMAN et al., 2002; OYAMA et al., 2000a; SANCHES;SANCHOTELLO;GUERRI, 1989; TAVARES DO CARMO, 1993, 1996, 1999), não obstante a variação do percentual de etanol (10%, 13.5%, 15%, 20%) na dieta e as diferentes formas de administração. Essa diminuição de peso corporal é explicada pela redução alimentar que ocorreu nos grupos alcoólicos e seus respectivos pair-fed, redução esta previamente descrita por vários autores (DETERING et al., 1979; FORSANDER, 1994; OYAMA et al.,2000b; PIANO et al., 2001; TAVARES DO CARMO, 1993, 1996). A ingestão alimentar (IA) também poderá aumentar na presença de álcool, ou não sofrer alteração (FORSANDER, 1988, 1994); todavia, Albuquerque et al. (1998) constatarem aumento no consumo alimentar, do 8º ao 12º dia de lactação, apesar da redução de peso observada no mesmo grupo.

Os resultados deste estudo permitem também confirmar que as calorias alcoólicas extras ingeridas pelas ratas do GA e GCER não foram aproveitadas eficientemente em todos os dias, para ganho de peso, como já previamente descrito por Lieber (1994).

As ratas do grupo GCER apresentaram maior peso em relação ao controle apenas no 2º e 10º dias, em concordância com os resultados de Villalpando (1993), em mulheres que ingeriram bebida fermentada (5% de etanol) na gestação-lactação. A bebida fermentada, apesar do efeito tóxico do etanol, é veículo de minerais, vitaminas, PTN (cevada) e CH (ARGOTE et al.,1992;VILLALPANDO, 1993), o que poderia explicar o aumento de peso

nestes dois dias, em relação ao controle, e na maioria dos dias (2º, 4º, 8º e 10º), em relação ao GA.

Em ratas lactantes sem consumir álcool, Cripps e Williams (1975) relatam que a IA diária sofreu aumento em torno de 250% do VCT (valor calórico total), do 3º ao 18º dia de lactação, fato também registrado neste estudo, em que os animais do GA, GCER e seus respectivos pair-fed acompanharam a IA do GC, com exceção do 8º dia, em que a do GC superou a do GCER. Portanto, a IA foi semelhante em todos os grupos, contrariando a maioria dos dados da literatura, com exceção de Detering et al. (1979), que também utilizaram 5% de etanol. Dietas com 10 a 20% de etanol promovem redução da IA durante todo o período de tratamento (OYAMA et al., 2000b; TAVARES DO CARMO, 1993, 1996, 1999), ou apenas no 10º dia (PIANO et al., 2001), ou ainda após elevado consumo de bebida alcoólica (FORSANDER, 1994). Depreende-se daí que ocorre aumento da IA com a ingestão de 5% a 20% de etanol. Em outro trabalho, Forsander (1998) afirma que pequeno ou nenhum efeito poderá ocorrer com a ingestão de 10-20% de etanol, concluindo que a razão para a grande diferença dos resultados até o momento permanece obscura. Por outro lado, estudo prospectivo recente, realizado em homens de meia idade, detectou ganho de peso e obesidade com ingestão alcoólica $\geq 30\text{g/dia}$ (WANNAMETHEE; SHAPER, 2003).

Outro ponto avaliado no estudo foi o efeito do etanol sobre a composição química do leite materno. O álcool tem múltiplos e variados efeitos adversos sobre a reprodução e lactação, principalmente por seu papel em algumas funções e secreções endócrinas. Distúrbios têm sido documentados ao nível do hipotálamo, pituitária, ovário e glândulas mamárias, pós-consumo de álcool (HEIL; SUBRAMANIAN, 2000). Vilaró, Vinas e Remesar (1987, 1989), estudando animais tratados com álcool evidenciaram alterações na estrutura e funções da mama. Os resultados, mostrados na tabela 2, comprovam que o etanol da bebida fermentada provocou alterações na composição química do leite, com elevação da lactose no GCER. Em relação a este nutriente, Sanchis, Sancho-Tello e

Guerri (1989) mencionam sua elevação, associada a alterações lipídicas e protéicas, justificado pela atrofia da mama de ratas consumindo 5% de etanol. No presente estudo, a elevação ocorreu no grupo cerveja, cuja composição inclui malte, cereais malteados e carboidratos, o que poderia explicar o maior teor de lactose encontrado. Empiricamente era atribuído ao polissacarídeo da cevada e ao salsulino-I (substância encontrada nas cervejas) a ação lactagoga deste tipo de bebida. Vale ressaltar que os valores de lactose no GC e GA se encontram dentro dos padrões normais (FORTE et al., 2001; HARKNESS; VAGNER, 1993), diferente dos achados de Neves et al. (1995), que relatam redução da lactose em ratos recebendo 20% de solução de etanol; todavia, o GPFA apresentou teores maiores do que o GA e GPFCER, não se tendo encontrado, na literatura, dados que possam explicar ou confirmar estes achados; por outro lado, a maior redução de lactose ocorreu no GPFCER, o que pode ser explicado por se tratar do grupo com menor ingestão alimentar e calórica total, coincidente com os relatos de Keen et al. (1981), estudando ratas lactantes desnutridas.

No leite materno, denota-se uma elevação do potássio no GA, provavelmente decorrente de uma maior absorção e reabsorção, concomitante à ingestão crônica de álcool, em animais e humanos (RODRIGO et al., 1998). No que concerne ao teor de gordura, os resultados não evidenciaram alteração em sua quantidade, com o uso de etanol, a exemplo do encontrado por outros autores, apesar de ter sido constatado por Heil et al. (1999) modificação no perfil dos ácidos graxos, bem como redução de fosfatidil serina (MENELLA, 1998).

Na bioquímica sanguínea (Tabela 3) foram encontrados valores reduzidos de glicose no GA, possivelmente devido a mecanismo semelhante ao relatado por Furuya, Binsack e Onishi (2002), em ratos Wistar: redução de secreção de insulina e aumento de sua sensibilidade (elevação da fosforilação de IRS-2 e AKT hepático). Sabe-se que o consumo de etanol altera a sensibilidade à insulina de maneira dose-dependente, revelando um padrão em U invertido, no qual uma dose intermediária de 3% já acarreta aumento de sensibilidade (FURUYA; BINSACK; MACHADO, 2001). Diferentemente, Tavares do Carmo e Nascimento Curi (1996) não

encontraram alterações na glicose, com o uso crônico de etanol a 20%, e Cha et al. (2000), em ratos bem nutridos, afirmam que o álcool não altera o metabolismo da glicose, o qual poderá ser modificado conforme a duração e a quantidade de ingestão alcoólica. No entanto, este efeito não foi observado na ingestão de cerveja, provavelmente por interação do álcool com seus componentes.

Também foram estudados os teores de CT, HDL-C e TG, os quais não apresentaram alterações, resultados concordantes com os de Furuya, Binsack e Onishi (2002), em ratos recebendo álcool a 3%, e de Arola et al. (1997), utilizando vinho tinto e doce (12,5 - 20%), após 30 dias de ingestão, ambos os trabalhos realizados com ratos adultos; entretanto, após 6 meses de tratamento, ocorreu aumento dos teores de TG e redução do CT, em relação ao seu pair-fed. Tavares do Carmo (1993), utilizando álcool a 20% na lactação, encontrou valores reduzidos de TG e CT, resultado este não observado por Heil et al. (1999) que, em modelo experimental idêntico, constataram elevação do CT.

Baraona e Lieber (1979), revisando estudos em animais e humanos, encontraram elevações de TG, CT e lipídeos no consumo crônico de bebidas alcoólicas.

Por outro lado, Lorimier (2000) relata aumento do HDL-C (10%) e redução de LDL-C (8%), quando foi utilizada quantidade moderada de bebida alcoólica, sem contudo esclarecer o que considera quantidade moderada e que tipo de bebida alcoólica foi utilizado.

Na bioquímica do sangue também foi analisado o teor de PTN, que se elevou no GCER. Contudo, resultados diferentes foram encontrados, em ratos adultos, por Arola et al. (1997), utilizando vinho (30 dias), e por Tavares do Carmo e Nascimento-Curi (1990), na lactação com solução hidroalcoólica a 20% (12 dias); ambos os trabalhos não evidenciaram alterações. Baraona e Lieber (1979) alertam para outro aspecto importante: redução de absorção protéica, no alcoolismo crônico; Piano et al. (2001) relatam redução protéica plasmática com 7 dias, utilizando álcool a 9%.

Pode-se inferir que esta discrepância entre a literatura e os resultados encontrados no presente trabalho, em relação ao grupo cerveja, foi resultante do teor protéico da levedura (OLIVEIRA et al., 2001).

Os resultados evidenciados quanto à vitamina A plasmática, teores reduzidos no GA e GCER, não encontraram similares na literatura, valores que pudessem ser comparados na lactação, apesar dos estudos relatarem efeito negativo do álcool sobre a vitamina A e seu precursor, o β -caroteno. De acordo com revisão recentemente publicada por especialistas na área de nutrição (LEO; LIEBER, 1999), o uso crônico de etanol diminui os teores de vitamina A e β -caroteno, por redução de RBP e aceleração da quebra da molécula do retinol, via degradação enzimática. Por outro lado, também ocorre competição na absorção entre moléculas de álcool e vitamina A. Albuquerque et al. (1998) encontraram redução de vitamina A no leite de ratas recebendo etanol a 20%.

Analisando o efeito do etanol sobre o teor de gordura da carcaça, denota-se a superioridade do GCER em relação a todos os grupos, ocorrendo, por outro lado, perda da gordura corporal no GA e nos pair-fed, quando comparados ao controle, sem, no entanto, mostrar diferença estatística. Pelos resultados apresentados, fica evidente que um ou mais constituintes da cerveja, e não o álcool "per si", provocaram aumento da atividade lipogênica, nos animais; porém não foram encontrados dados, na literatura, que expliquem este resultado.

Quanto à IH diária, observou-se superioridade do GCER em relação aos demais grupos, na maioria dos dias, os animais consumindo mais cerveja do que água pura, água açucarada ou a solução hidroalcoólica, fato justificado possivelmente pela maior docilidade da cerveja, que concentra maior quantidade e variedade de CH. Por outro lado, o consumo de cerveja provoca maior ingestão de etanol, o que desencadeia um bloqueio na liberação do ADH (Hormônio anti-diurético) da neurohipófise (COBO, 1973), levando a maior diurese.

Os resultados encontrados por Baer e Crumpacker (1977), na gestação - lactação de ratos (10% de etanol), e Piano et al. (2001), na lactação (6-9% de etanol), constatando redução na IH nos grupos de álcool, foram semelhantes aos do presente estudo, no 6º, 8º e 10º dia. Corroborando os presentes resultados no GCER, Villalpando (1993) encontrou, em mulheres lactantes ingerindo bebida fermentada, maior IH calórica durante os 2 períodos, o que provocou IE de 0,48 a 0,55g / kg / dia, bem abaixo da IE do GCER, que foi de $10,45g \pm 1,12$, o que equivale a uma diferença de 95%.

Quanto aos parâmetros estudados nos RNs, ao avaliar a curva ponderal, durante os 12 dias de lactação (Figura 6), observou-se que as crias das mães recebendo cerveja apresentaram uma tendência a ganhar mais peso que aquelas de lactantes que receberam solução de etanol, maltodextrina ou água, apesar de haver diferença estatística apenas relativa a 2 dias, um em relação ao GC e outro em relação ao GA. De fato, Juarez, Barrios e Vazquez (2000) já haviam demonstrado, em animais experimentais, que RNs de mães recebendo 2 g/Kg/dia de solução hidroalcoólica (13º ao 18º dia) não alteravam o peso corporal.

Diferentes resultados foram relatados por Albuquerque et al (1998), Detering et al. (1979), Heil e Subramanian (2000), Heil e Piano et al. (2001), Lilliquist, Highfield e Ansel (1999), Lalitha et al. (1988), Lincoln (1973), Llamas et al. (1998), Neves, Faccin e Tavares do Carmo, (1995), Sanchis, Sancho-Tello e Guerri, (1989), Subramanian (1995a , 1997), Tavares do Carmo, (1993), Tavares do Carmo e Nascimento-Curi (1990) e Tavares do Carmo et al. (1999), utilizando de 5 a 12.5% de etanol durante a lactação, constatando redução de peso corporal. Vale salientar o trabalho de Subramanian (1997), chamando a atenção para os efeitos adversos do etanol sobre o crescimento de RNs, somente após 8 dias de administração. Por outro lado, Lancaster et al. (1984), pesquisando os efeitos do álcool na gestação-lactação, relatam redução de peso corporal mais severa na lactação do que na gestação.

Quanto ao peso relativo dos órgãos (Tabela 4), o fígado e o coração, não apresentaram alterações, o que se contrapõe a alguns achados da literatura: valor reduzido do fígado, em animais alimentados com 10% de etanol (OYAMA et al., 2000 a) e 20% de etanol (TAVARES DO CARMO;1993; TAVARES DO CARMO; NASCIMENTO-CURI, 1990). Murillo-Fuentes et al. (2001) observaram o mesmo resultado, com 20% de ingestão de etanol, durante a gestação - lactação, além de esteatose, redução do conteúdo de DNA e PTN nos hepatócitos (TAVARES DO CARMO, 1993). Quanto ao peso do coração na gestação / lactação, Fuseler (1993) relatou hiperplasia e Ren et al. (2002), na gestação, observaram redução de peso.

É possível que um dos fatores explicativos da ausência do efeito etílico sobre o peso dos órgãos, neste trabalho, esteja relacionado ao baixo teor (5%) de etanol utilizado, "ad libitum". Outra hipótese seria de que o período de tratamento (12 dias) tenha sido insuficiente para causar alterações na multiplicação celular destes tecidos. Ainda um outro fator que poderia explicar parcialmente esta diferença, em relação à literatura, seria a composição dos constituintes da dieta: nos demais trabalhos foi utilizada a dieta labina industrializada.

Resultados adversos podem ser observados no rim e no cérebro, em que ocorreu aumento dos órgãos, similar ao encontrado por Paiva (2002) e diferentemente dos estudos com 15% (OTHMAN et al., 2002) e com 15 e 20% (MURILO-FUENTES et al., 2001), em relação ao primeiro órgão, na gestação-lactação, e Tavares do Carmo (1993), com 20% de etanol, Lalitha et al. (1988), com 15%, Rawat (1981), com 6%, durante a lactação, e Detering et al. (1979), com 5%, na gestação-lactação, em relação aos dois órgãos. Entretanto, é possível que o aumento do peso úmido do cérebro seja resultado de uma desnutrição secundária ao etanol, o que indicaria uma desproporção do tamanho do corpo/cabeça dos animais, freqüentemente relacionada a episódios de desnutrição precoce (PAIVA, 2002).

Ao analisar o peso relativo do rim, foi constatado aumento significativo em relação ao grupo controle e cerveja, que apresentaram valores exatamente iguais. Não foi encontrada, na literatura, nenhuma alusão a aumento de peso relativo e/ou absoluto com o uso de etanol. Por

consequente, os escassos estudos existentes são controvertidos, mencionando redução de peso renal de RNs (MURILLO-FUENTES et al., 2001; OTHMAN, 2002), menor até que no grupo pair-fed (MURILLO-FUENTES et al., 2001), ingerindo solução hidroalcoólica de 15 e 20%, respectivamente. Ademais no alcoolismo crônico ocorre aumento da água corporal total, o que justificaria o aumento do peso renal por edema (VILLALPANDO, 1993).

Estudos sobre ingestão de álcool e peso cerebral relacionado à gestação - lactação e/ou lactação são escassos e as conclusões divergentes; enquanto, na gestação - lactação é inibida a proliferação da matriz celular e de alguns tipos específicos de células (SVNIDEZE; DIDIMOVA; TSAISHVLLI, 2001), na lactação a ingestão de baixas doses de etanol poderá provocar efeitos deletéricos no SNC, seguido de uma redução na expressão de neurotrofina. De um modo geral, a administração crônica de etanol, neste período, poderá influenciar a plasticidade do SNC durante o desenvolvimento (GERMANI et al., 1999).

No rato recém-nascido, alto grau de desenvolvimento cerebral e de mielinização ocorrem nos primeiros quinze dias de vida; poderá haver redução de concentração na mielina, caso as lactantes recebam álcool na dieta (LANCASTER et al., 1984); neste período, o peso cerebral aumenta mais rapidamente do que o peso corporal (OYAMA et al., 2000 b).

Outra hipótese que não pode ser descartada refere-se à possível ocorrência de outras alterações funcionais e bioquímicas, não detectadas no presente estudo, face à constatação, de vários autores, de que o etanol aumenta a fluidez das membranas celulares cerebrais, afetando sua composição e funcionalidade e desempenhando um importante papel em vários processos fisiológicos, durante a maturação e desenvolvimento cerebral (CLIMENT et al., 2002; DETERING et al., 1979; LALITHA et al., 1988; LILLIQUIST; HIGHFIELD; ANSEL, 1999; NAASSILA; DAOUST, 2002; OYAMA et al., 2000b; TAVARES DO CARMO et al., 1999; THOMAS et al., 2000; TRAN; KELLY, 1999; VANGLENOVA; PETKOV, 1998).

Outro parâmetro estudado para avaliar o peso corporal foi a gordura da carcaça (Tabela 5), demonstrando que os RNs de mães que ingeriram

cerveja apresentaram maior percentual de gordura em relação apenas ao grupo álcool, mostrando-se semelhante ao grupo controle, apesar de revelar uma tendência de maior acúmulo lipídico, explicado possivelmente pela hiperplasia do tecido adiposo marron, segundo Huttunen, Kortelainen e Hirvonen (1989).

Esses dados permitem sugerir que a elevada ingestão calórica, líquida e etílica pelas lactantes deste grupo resultou em uma maior taxa de lipogênese nos RNs, quando comparada com o grupo recebendo bebida destilada, semelhante aos resultados encontrados no teor de gordura da carcaça materna.

Em animais adultos, à semelhança do que ocorre em humanos, o excessivo consumo de etanol reduz a geração de energia proveniente dos CH e lipídeos, causando perda de peso e aparente deficiência de energia (LIEBER,2000).

Na análise dos dados relacionados à maturação somática observa-se, nos RNs do GCER, retardo no aparecimento de pêlos (tabela 9), provavelmente pelo efeito do etanol "per si", visto que este grupo teve maior IE do que o GA (10,45 x 6,18 resp). Nota-se ainda que a diferença do GCER não foi observada no seu pair-fed, ou seja, apesar da cota calórica alimentar e hídrica serem iguais, o aparecimento de pêlos não foi atrasado. O mesmo ocorreu quanto ao tempo da abertura dos olhos, em que o efeito do etanol "per si" se fez presente com diferenças significativas ($p < 0.01$), nos dois grupos que ingeriram bebida alcoólica, contrariamente aos achados de Paiva (2002), administrando 3g/kg/pc de etanol a ratos, durante a lactação. Vários autores estudaram os efeitos tóxicos do etanol e sua influência adversa no SNC, durante a lactação (CLIMENT et al., 2002; DETERING et al., 1979; LALITHA et al., 1988; LILLQUIST; HIGHFIELD; AMSEL, 1999; NAASSILA; DAOUST, 2002; OYAMA et al., 2000b; TAVARES DO CARMO et al., 1999; THOMAS et al., 2000; VANGLENOVA; PETROV, 1998).

Na tabela 10 analisou-se o índice de mortalidade que, a exemplo dos resultados encontrados por outros pesquisadores (ABEL,1974; NEVES; FACCIN; TAVARES-DO-CARMO,1995; OYAMA et al., 2000a ; VANGLENOVA; PETROV, 1998), foi bem maior no grupo álcool e,

posteriormente, no pair-fed. Heil e Subramanian (2000), investigando mães de RNs, no 5º e 12º dia de lactação, evidenciaram mortalidade total de 35% no grupo álcool, com ingestão de 2g/Kg/dia, enquanto Sanchis, Sancho Tello e Guerri (1989) relatam mortalidade de 53,7%, durante a lactação, e 31,8%, para o pair fed.

Quanto ao comportamento muricida (canibalismo), os resultados também estão em concordância com a literatura e evidenciaram alto percentual de devorados no GA e GCER (ação do álcool "per si"), semelhantes aos achados de Vanglenova e Petrov(1998), na gestação - lactação, com índice de 12.5%, no grupo álcool. Dados encontrados em alguns estudos com ratas lactantes alcoolizadas oferecem importantes argumentos favoráveis à hipótese, que justifica esse alto canibalismo e mortalidade total (ABEL, 1974; HEIL;SUBRAMANIAN, 2000; NEVES; FACCIN; OYAMA et al., 2000a;TAVARES DO CARMO, 1995; PEPINO et al., 2002). Segundo Sanchis; Sancho Tello e Guerri (1989), o "status nutricional" materno é alterado pelo etanol, provocando desnutrição primária, desde que afeta a absorção, o metabolismo e o transporte da maioria dos nutrientes essenciais (TAVARES et al., 2000); a relação mãe-filho fica alterada (PEPINO, 2002; SWANBERG; WILSON, 1979), resultando em menor habilidade do RN para mamar, podendo reduzir o tempo de cuidados maternos e, assim, a quantidade de leite ingerida pelos RNs. Neste estudo, observou-se ainda que os RNs não foram devorados e que morriam antes do fim do estudo, apresentavam estômago totalmente vazio, confirmando os achados de vários estudos, indicando ser o álcool um inibidor do reflexo de ejeção láctea, além de reduzir a secreção e liberação de oxitocina/prolactina (FUCHS, 1969; GIBBENS; CHARD, 1976;SUBRAMANIAN; HEIL, 2000).

Analisando os resultados da concentração de metabólicos sanguíneos (Tabela 11), verificou-se hipoglicemia nos dois grupos alcoolizados, semelhante aos achados de Oyama (2000 a), usando concentração de etanol igual à do presente trabalho, durante a lactação, relatando ainda que, neste nível de alcoolemia, apesar de não haver alteração de peso cerebral, já ocorrem alterações no metabolismo da glicose

do cérebro, possivelmente por redução da glicogênio fosforilase que, segundo Rovinsk e Hosein (1984), seria de 30%, quando os RNs são filhos de lactantes recebendo álcool na gestação - lactação. Do mesmo modo, Tavares do Carmo (1993) e Tavares do Carmo et al., (1999) encontraram, na lactação, redução da glicemia no grupo álcool e seu pair fed, utilizando 20%. No entanto, Cha et al. (2000), pesquisando ratos adultos nutridos que recebiam 5g/Kg/dia de etanol, não observaram alterações na glicemia. Tem sido demonstrado a baixa capacidade de RNs metabolizar o etanol, sendo, contudo, necessários estudos específicos que permitam explicar todas as etapas fisiológicas e bioquímicas envolvidas no processo (ARGOTE et al., 1992).

Nos valores de LDL-C, semelhantes à glicose, o grupo álcool também mostrou redução, quando comparado ao GC, fato provavelmente explicado, como em humanos, pelo efeito do álcool na inibição da agregação plaquetária, quando ocorre consumo de vinho, em doses moderadas (AROLA et al., 1997). No entanto, a cerveja, ao contrário do vinho, aumentou o teor de LDL-C no GCER. No que se refere à interação do álcool com o metabolismo lipídico, Denkins et al. (2000) relatam aumento de ácido esteárico no sangue do cordão umbilical de RNs de mães alcoólicas que ingeriram, na gestação, quantidades maiores que 30ml de etanol/dia.

Quanto aos valores de CT e PTN, não foram encontradas alterações; entretanto, Tavares do Carmo (1993) e Tavares do Carmo et al. (1999), em ratos ingerindo 20% de etanol, constataram aumento significativo para o primeiro parâmetro e redução para o segundo.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, é possível inferir que:

1. A ingestão de bebida alcoólica com 5% de etanol, durante a lactação, em ratos, provocou:

- Aumento de peso corporal com cerveja e redução com etanol;
- Elevação do peso renal com etanol e acúmulo de gordura nos animais recebendo cerveja;
- Alteração na composição química do leite materno, com elevação da lactose, pela cerveja, e do potássio, pela bebida destilada;
- Diminuição dos níveis circulantes de vitamina A, com os dois tipos de bebida, assim como elevação na concentração de PTN plasmáticas, com cerveja;
- Elevação da ingestão líquida, pela cerveja, o mesmo ocorrendo com as calorias líquidas totais e a ingestão etílica, levando a uma tendência de maior alcoolemia;
- O consumo alimentar não sofreu alterações com o uso de bebidas alcoólicas, entretanto, a ingestão calórica diária sofreu aumento com a cerveja;

2. A ingestão materna de bebida alcoólica com 5% de etanol, durante a lactação, promoveu, nos RNs;

- Tendência a maior ganho ponderal, com o uso de cerveja, pelas mães;
- Elevação do peso do rim e cérebro, pela bebida destilada, sem alterar o conteúdo de gordura da carcaça;
- Retardo no tempo de abertura dos olhos, com os dois tipos de bebidas, e atraso no tempo de aparecimento de pêlos, com a cerveja;
- Elevação do percentual de mortos / devorados, com as bebidas utilizadas, com maior gravidade para a destilada, não obstante ter sido ingerida em menor quantidade;
- Diminuição dos níveis circulantes de glicose e LDL-C, com a destilada, e aumento, com a cerveja.

Todos estes achados indicam que a ingestão de bebidas alcoólicas com baixo teor de etanol, provoca graves alterações no comportamento, nutrição e metabolismo das mães, comprometendo o desenvolvimento normal dos RNs, além de elevar sua morbi-mortalidade.

8-PERSPECTIVAS

A partir do presente estudo são sugeridos algumas idéias para experimentos futuros:

1. Analisar neste modelo experimental os efeitos do etanol na infância, adolescência e senilidade;
2. Observar se o etanol de bebidas alcoólicas, oferecido na dieta afeta o desempenho físico de crianças, adolescentes, gestantes e lactantes;
3. Delinear o efeito do etanol induzido por doses menores e maiores (curva dose-resposta) na lactação;
4. Investigar modificações produzidas pelo etanol nos demais nutrientes circulante e/ou teciduais;
5. Pesquisar os efeitos do etanol na lactação, infância e adolescência sobre parâmetros imunológicos.

9. BIBLIOGRAFIA

ABEL, C. L. Alcohol ingestion in lactating rats: effects on mothers and offspring. **Archives of Internal Pharmacology**, v. 210, p. 121-127, 1974.

ABRAMOVAY, M; CASTRO, M. **Drogas nas escolas**. Brasília: UNESCO, 2002.

ADDOLORATO, G. Prenatal exposure to ethanol in rats: effects on liver energy level and antioxidant status in mothers, fetuses and new borns. **Alcohol**, v.14, p. 569-573, 1998.

ALBUQUERQUE, K. T.; RAMALHO, R. A.; SOARES, A. G.; TAVARES-DO-CARMO, M. G. Effects of ethanol intake on retinol concentration in the milk of lactating rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 929-321, 1998.

ALTMAN, D. G. **Practical statistics for medical research**. London: Chapman and Hall, 1991. 611 p.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC. Committee on Drugs. The transfer of drugs and other chemicals into human breast milk. **Pediatrics**, Evanston, v. 72, p. 375-383, 1983.

ANDERSON, R. O. Alcohol and breastfeeding. Alcohol and breastfeeding. **Journal of Human Lactation**, v. 11, p. 321-322, 1995.

ARAÚJO, C. R. C.; FLORES, H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. **Clinical Chemistry**, v. 24, p. 386-392, 1978.

ARGOTE, E.; FLORES-HUERTA, S.; HERNANDES-MONTES, H.; VILLALPANDO-HERNANDES, S. Depuración plasmática de ethanol y su excreción en la leche de mujeres rurales que consumen pulque. **Revista de Investigación Clínica**, v. 44, p. 31-36, 1992.

AROLA, L.; ROIG, R.; CASCON, E.; BRUNETE, M. J.; FORNOS, N.; SABATE, M.; RAGA, X.; BATISTA, J.; SALVADO, M. J.; BLADE, C. Model for voluntary wine and alcohol consumption in rats. **Physiology & Behavior**, v. 65, n. 2, p. 353-357, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. AOAC ref. n.990.23, 1998.

BA, A.; SERI, B.; HAN, S. Thiamine administration during chronic alcohol intake in pregnant and lactating rats: effects on the offspring neurobehavioural development. **Alcohol and Alcoholism**, v. 31, p. 27-40, 1996.

BÄCKMAN, C.; WEST, J. R.; MAHONEY, J. C.; PALMER, M. R. Electrophysiology characterization of cerebellar neurons from adult rats. Exposed to ethanol during development. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n.5, p. 1137 - 1145, 1998.

BAER, D. S.; CRUMPACKER, D. W. Fertility and offspring survival in mice selected for different sensitivities to alcohol. **Behavior Genetics**, v. 7, p. 95-103, 1977.

BARAONA, E.; LIEBER, C. S. Effects of ethanol on lipid metabolism. **Journal of Lipid Research**, v. 20, p. 289-315, 1979.

BARAONA, E.; PIKKARAINEN, P.; SALSPURO, M.; FINKELMAN, F.; LIEBER, C. S. Acute effects ethanol on hepatic protein synthesis and secretion in the rat. **Gastroenterology**, v.79, p. 104-111, 1980.

BERGHEIM, I.;PARLESACK, A.;DIERKS,C.;BODE, J. C.;BODE, C. Nutritional deficiencies in german middle-class male alcohol consumers:relation to dietary intake and severity of liver disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.57, p.431-438, 2003.

BESSEY, O. A.; LOWRY, O. H.; BROOKS, M. J.; LOPEZ, J. A. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. **Journal of Biological Chemists**, v.166, p. 177, 1946.

BLUME, S. Beer and breast-feeding mom. **Journal of American Medical Associaton**, v.15, p. 21-26, 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição**. Brasília, 1989.

BREKELMANS, C. T. Risk factors and risk reduction of breast and ovarian cancer. **Current Opinion Obstetric and Gynecology**, v. 15, n. 1, p. 63-68, 2003.

BUCOLO, L.; DAVID, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. **Clinical Chemistry Whinston - Salen**, v. 19, n. 5, p. 476-482, 1973.

CANO, M. J.; AYALA, A.; MURILLO, M. L.; CARRERAS, O. Protective effect of folic acid against oxidative stress produced in 21-day postpartum rats by maternal-ethanol chronic consumption during pregnancy and lactation period. **Free Rad Research**, v. 34, p. 1-8, 2001.

CHA, B. C.; AHN, C. W.; SONG, Y. D.; LIM, S. K.; KIM, K. R.; WUH, K. B.; LEE, H. C. Chronic alcohol intake differently influences glucose metabolism according to nutritional status. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 10, p. 3646-3652, 2000.

CHEEMA, Z. F.; WEST, J. R.; MIRANDA, R. C. Ethanol induces FAS/APO (apoptosis-1 mRNA and cell suicide in the developing cerebral cortex). **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 24, p. 535-543, 2000.

CHESLOCK, S. J.; VARLINSKAYA, E. I.; SILVERI, M. M.; PETROV, E. S.; SPEAR, L. P.; SPEAR, N. E. Acute effects of ethanol and the first suckling episode in the newborn rat. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 24, p. 996-1002, 2000.

CHURCH, M. W.; MORBACH, C. A.; SUBRAMANIAN, M. G. Comparative effects of prenatal cocaine, alcohol, and undernutrition on maternal-fetal toxicity and fetal body-composition in the Sprague-Dawley rat with observations on strain-dependent differences. **Neurotoxicology Teratology**, v.17, p. 559-567, 1995.

CLIMENT, E.; PASCUAL, M.; RENAU PIQUEIRAS, J.; GUERRI, C. Ethanol exposure enhances cell death in the developing serie cortex: role of brain-derived neurotrophic factor and its sign pathways. **Journal of Neuroscience on Research**, v. 68, n. 2, p. 213-225, 2002.

COBO, E. Effect of different doses of ethanol on the milk-ejecting reflex in lactating women. **American Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 115, p. 817-821, 1973.

COIRO, V. Inhibition by ethanol of the oxytocin response to breast stimulation in normal women and the role of endogenous opioids. **Acta Endocrinologica**, v.126, p. 213, 1992.

CONOVER, S. W. J. **Practical nonparametric**. 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 1980. 495 p.

COSTA, E. T.; SAVAGE, D. D.; VALENZUELA, C. F. A review of the effects of prenatal or early posnatal ethanol exposure on brain ligand-gated ion channels. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 24, p. 706-715, 2000.

CRIPPS, A. W.; WILLIAMS, V. J. The effect of pregnancy and lactation on foods intake, gastrointestinal anatomy and the absorptive capacity of the small intestine in the albino rat. **The British Journal of Nutrition**, v. 33, p. 17-33, 1975.

CUNHA, C. V. Álcool e amamentação. **Gazeta Clínica**, v. 21, p. 60-62, 1923.

DANIEL, M. A.; EVANS, M. A Quantitative comparison of maternal ethanol and maternal tertiary butanol diet on postnatal development. **Pharmacology and Experimental Therapy**, v. 222, p. 294-300, 1982.

DANTAS, R. O. Alcoolismo em trabalhadores da zona urbana e rural. Uma experiência em Brasil. **Boletín de la Oficina Sanitária Panamericana**, Washington, v. 94, p. 76-81, 1983.

De ROSA, G.; COSERLLO, R. M. P.; DELLA CASA, S.; PASARGILIAN, E Prolactin secretion after beer. **Lancet**, v. 2, p. 934, 1981.

Del RIO, V. Bases fisiológicas y nutricionales para una lactancia materna exitosa. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 21, p. 19-32, 1993.

DENKINS, Y. M.; WOODS, J.; WHITTY, J. E.; HANNIGAN, J. H.; MARTIER, S. S.; SOKOL, R.; SALEM Jr., N. Effects of gestational alcohol exposure on the fatty acid composition of umbilical cord serum in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 71, n. 1, p. 300S-306S, 2000.

DETERING, N.; REED, W. D.; OZAND, P. T.; KARAHASAN, A. The effects of maternal ethanol consumption in the rat on the development of their offspring. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.109, p. 999-1009, 1979.

DUBBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analcal Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

ENTENMAN, C. General procedures for separating lipid components of tissue. **Methods in Enzymology**, v. 3, p. 301-302, 1957.

ERIKSSON, C. J.; SIPPEL, H. W.; FORSANDER, O. A. The determination of acetaldehyde in biological samples by head space gas chromatography. **Analytical Biochemistry**, n. 80, p. 116-124, 1977.

FERNER, R. E. Alcohol intake: measure for measure. **The British Medical Journal**, v. 323, p. 1439-1440, 2001.

FERRIER, S. Alcohol and maternal consumption. **Lancet**, v. 2, p. 1496, 1976.

FISHER, J. O.; MIYCHELL, D. C.; SMICKLAS-WRIGHT, H.; BIRCH, L. L. Maternal milk consumption predicts the tradeoff between milk and soft drinks in young girls' diets. **The Journal of Nutrition**, v.131, p. 246-250, 2001.

FORBES, R. J **Short history of the art of distillation**. Leiden: E J Brill, 1970.

FORSANDER, O. A. Dietary influences on alcohol intake: a review. **Journal on Study of Alcohol**, v.59, p. 26-31, 1998.

_____.Hypothesis: factors involved in the mechanisms regulating food intake affect alcohol consumption. **Alcohol and Alcoholism**, v. 29, n. 5, p. 503-512, 1994.

_____.The interaction between voluntary alcohol consumption and dietary choice. **Alcohol and Alcoholism**, v. 23. n. 2, p. 143-149, 1988.

FORTE, M. C.; ARTEAGA, P. M.; PONCE, C. P.; FRANCIS, T. L. Metodología para la liberación, extracción y evaluación nutritiva de la leche de rata. Animales de experimentación. **La Revista Hispano Americana**, v. 6, n.1, p. 2-4, 2001.

FUCHS, A. R. Ethanol and the inhibition of oxytocin release in lactating rats. **Acta Endocrinologica**, v. 62, p. 546-554, 1969.

FUCHS, A. R.; WAGNER, G. The ethanol of ethyl alcohol on the release of oxytocin in rabbits. **Acta Endocrinologica**, v. 44, p. 593-605, 1963.

FURUYA, D. T.; BINSACK, R.; MACHADO, U. F. Consumo leve de etanol aumenta a sensibilidade à insulina em ratos Wistar. **Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 2, p. S-546, supl. 1, 2001.

FURUYA, D. T.; BINSACK, R.; ONISHI, M. E. O consumo de etanol a fosforilação de IRS-2 e AKT no território hepático. **Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. S-506, supl. 1, 2002.

FUSELER, J. W. Maternal ethanol consumption induces transient compensatory hyperplasia of developing cardiac tissue in the neonatal rat. **Alcohol and Alcoholism**, v. 28, p. 657-666, 1993.

GALDUROZ, J. C. **1º levantamento domiciliar nacional sobre uso de drogas psicotrópicas**. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2000.

GERMANI, E.; SUCK, M.L.; DI GIULIO, A. M.; GORIO, A. Perinatal supplementation of low doses of ethanol enhances 5 - HT resoration in the central nervous system. **Journal of Neuroscience Research**, v. 58, n. 3, p. 449-455, Nov. 1999.

GIBBENS, J. L. D.; CHARD, T. Observations on maternal oxytocin release during human labor and the effect of intravenous alcohol administration. **The American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 126, n. 2, p. 243-246, 1976.

GIOVANNUCCI, E. Folate intake and carcinogenesis of the colon and rectum. **International Journal of Epidemiology**, v. 20, p. 368-374, 1991.

GOODLETT, C. R. et al. A single day of alcohol exposure during the brain growth spurt induces brain weight restriction and Purkinje cell loss. **Alcohol**, v. 7, p. 107-114, 1990.

GOODWIN, D. W.; GABRIELLI Jr, W. F.; PENICK, E. C.; NICKEL, E. J.; CHHIBBER, S.; KNOP, J.; JENSEN, P.; SCHULSINGER, F. Breast-feeding and alcoholism: the Trotter hypothesis. **American Journal of Psychiatry**, v. 156, n. 4, p. 150-152, 1999.

GORNALL, A. G.; BARDAWELL, C. J.; DAVID, M. J. B. Determination of serum protein by means of biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v.117, p.751, 1949.

GOTTSFELD, A.; LEGRUE, S. J. Lactational alcohol exposure elicits long-term immune deficits and increased noradrenergic synaptic transmission in lymphoid organs. **Life Science**, v. 47, p. 457-465, 1990.

GREEN, J. T.; ROGERS, R. F.; GOODLETT, C. R.; STEINMETZ, J. E. Impairment in eyeblink classical conditioning in adult rats exposed to ethanol as neonates. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 24, p. 438-447, 2000.

GROSSMAN, E. Beer and breast feeding: the wisdom of old wines. **Journal of American Medical Association**, v. 259, p. 1096, 1988.

GRÜNSPUM, H. Introdução à psiquiatria. In: MARCONDES M. **Clínica médica - propedêutica e fisiopatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1984. p.104-105.

GUERRI, C.; SANCHIS, R. Alcohol and acetaldehyde in rat's milk following ethanol administration. **Life Science**, v. 15, p. 43-56, 1986.

HALSTED, C. H. Alcohol: efectos clínicos y nutricionales. In: OPS/ILSI. **Conocimientos actuales sobre nutrición**. Washington, 1997. p. 584-593.

_____. Ethanol feeding of micropigs increased methionine metabolism and proliferation. **Hepatology**, v. 23, p. 497-505, 1996.

_____. Intestinal absorption in folate deficient alcoholics. **Gastroenterology**, v. 64, p. 526-532, 1973.

HAMMOUMI, S.; NASSASSILA, M.; DAOUST, M. Experimental findings in the study of the reduction of alcohol intake. **European Neuropsychopharm**, v. 7, p. 337-340, 1997.

HARKNESS, J. E.; VAGNER, J. E. **Biologia e clinica de roedores**. 3. ed. São Paulo: Rocca, 1993. P. 41-54.

HEIL, S. H.; HUNGUND, B. L.; ZHENG, Z. H. H.; JEN, K. L. .C.; SUBRAMANIAN, M.G. Ethanol and lactation: effects on milk lipids and serum constituents. **Alcohol**, v.18, p. 43-48, 1999.

HEIL, S. H.; SUBRAMANIAN, M. G. Chronic alcohol exposure and lactation. **Alcohol**, v. 21, n. 2, p. 127-132, 2000.

HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 3.ed. Washington: AOAC, 1975. 1094 p.

HUNGUND, B. L. Maternal alcohol abuse and milk lipid composition. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 20, p. 120 A, 1996.

HUTTUNEN, P.; KORTELAINE, M. L.; HIRVONEN, J. Foetal and lactational exposure to alcohol increases oxidative capacity of brown adipose tissue in the rat. A possible relationship to death. **The British Journal for Experimental Pathology**, v. 70, p. 691-705, 1989.

JASON, J. Breast-feeding in 1991. **New England Journal of Medicine**, v. 325, p. 1036-1037, 1991.

JOHN, U; HANKE, M. Alcohol attributable mortality in a high per capita consumption country - Germany. **Alcohol and Alcoholism**, v. 37, n. 6, p. 581-585, 2002.

JONES, K. K.; SMITH, D. W.; ULLELAND, C. N.; STREISSGUTH, A. P. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. **Lancet**, v.1, p. 1267-1271, 1973.

JUAREZ, J.; BARRIOS, T. E.; VAZQUEZ, C. Alcohol treatment during lactation produces and advance in the onset of puberty in female rats. **Alcohol**, v. 21, p. 181-185, 2000.

KEEN, C. L.; LÖNNERDAL, B. O.; CLEGG, M.; HURLEY, L. S. Developmental changes in composition of rat milk. Trace elements, minerals, protein, carbohydrate and fat. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 111, p. 226-230, 1981.

KELLY, S. J.; TRAN, T. D. Alcohol exposure during development alters social recognition and social communication in rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 19, n. 5, p. 383-389, 1997.

KLINTSOVA, A. Y. Therapeutic motor training increases parallel fiber synapse number Purkinje neuron in cerebellar cortex of rats given postnatal binge alcohol exposure. Preliminary report. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 21, p. 1257-1263, 1997.

KLINTSOVA, A. Y.; COWELL, R. M.; SWAIN, R. A.; NAPPER, R. M.; GOODLETT, C. R.; GREENOUGH, W. T. Therapeutic effects of complex motor training on motor performance deficits induced by neonatal binge-like alcohol exposure in rats. I. Behavioral results. **Brain Research**, v. 800, p. 48-61, 1998.

KOLETZKO, B.; LEHNER, F. Beer and breastfeeding. **Advances in Experimental Medical Biology**, v. 478, p. 23-28, 2000.

KUMAR, B. S. A. Premorbid hair growth over the trunk and severity of alcohol - related liver disease. **Diagnostic Disease Science**, v. 43, p. 1111-1115, 1998.

LALITHA, T.; KUMAR, K.; RAMAKRISHNAN, C. V.; TELAND, S. D. Effect of maternal alcohol consumption on the lipid composition of CNS in the offspring. **Journal of Neurochemistry**, v. 50, p. 1346-1451, 1988.

LANCASTER, F. E.; PHILLIPS, S. M.; PATSALOS, P. N.; WIGGINS, R. C. Brain myelination in the offspring of ethanol-treated rats: in utero versus lactational exposure by crossfostering offspring of control, paired and ethanol treated dams. **Brain Research**, v. 309, p. 209-216, 1984.

LAUS, J. E. Biologia e reprodução. In: COMISSÃO DE ENSINO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2.ed. rev.ampl. São Paulo: EMP, 1996. p.57-66.

LAWTON, M. E. Alcohol in breast milk. **Australian and New Zealand Journal of Obstetric Gynecology**, v. 25, p. 71-73, 1985.

LEEVY, C. M.; BAKER, H.; TENHOV, E. W. B-complex vitamins in liver disease of the alcoholic. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.16, p. 339-346, 1965.

LEO, M. A Metabolism of retinol and retinol acid by human liver cytochrome pyso II C8. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 269, p. 305-312, 1989.

LEO, M. A.; LIEBER, C. S. Hepatic vitamin A depletion in alcoholic liver injury in man. **New England Journal of Medicine**, v. 307, p. 597-601, 1982.

_____.Alcohol, vitamin A, and β -carotene: adverse interaction including hepatotoxicity and carcinogenicity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 6, p. 1071-1085, 1999.

LEONARD, L. et al. Second generation effects of maternal ethanol consumption on imunity to *trichinella spiralis* in female rats. **Alcohol and Alcoholism**, v. 34, p. 520-528, 1999.

LIEBER, C. S. Alcohol and liver. **Gastroenterology**, v. 106, p. 1085-1105, 1994.

_____.Alcohol: its metabolism and interaction with nutrients. **Annual Review of Nutrition**, v. 20, p. 395-430, 2000.

LIEBER, C. S.; De CARLI, L. M. The feeding of alcohol in liquid diets: two decades of applications and 1982 update. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 6, p. 523-531, 1982.

LILLQUIST, M. W.; HGHFIELD, D. A.; AMSEL, A. Effects of early postnatal exposure on learning in the developing rat: replication with intubation method of delivery. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 23, n. 6, p. 1085-1093, 1999.

LIMA, L. A.; MELO-JUNIOR, M. R.; CAVALCANTE, C. L. B.; MELO, C. B.,; PONTES FILHO, N. T. Does the exposition to alcohol in pre and postnatal periods interfere on the formation and maturation of Peyer's Patches? **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v. 47, n. 1, p. 22-26, 2002.

LINCOLN, D. W. Milk ejection during alcohol anaesthesia in the rat. **Nature**, London, v. 243, p. 222-229, 1973.

LISTON, J. Breastfeeding and the use of recreational drugs - alcohol, caffeine, nicotine and marijuana. **Breastfeed Review**, v. 6, p. 27-30, 1998.

LITTLE, R. E Maternal use of alcohol and breastfed infants - Reply. **New England Journal of Medicine**, v. 322, p. 339, 1990.

LITTLE, R. E.; KEVIN, W.; ANDERSON, B.; ERVIN, C. H. Maternal alcohol use during breast-feeding and infant mental and motor development at one year. **New England Journal of Medicine**, v. 321, p. 425-431, 1990.

LITTLE, R. E.; NORTHSTONE, K.; GOLDING, J. Alcohol, breastfeeding, and development at 18 months. **Pediatrics**, v. 109, n. 5, p. 72, 2002.

LITTLE, R. E. Maternal alcohol use during breast-feeding and infant mental and motor development at one year. **New England Journal of Medicine**, v. 321, p. 425-430, 1989.

LLAMAS, J.; MARTINEZ, M. A. C.; JARAMILLO-JUAREZ, F.; MUNOZ-FERNANDEZ, L.; BUSTOS, L.; REYES, J. L. Increase in the renal damagi induced by paracetamol in rats exposed to ethanol translactationally. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 5, p. 1137-1145, 1998.

LORIMIER, A. A. Alcohol, wine, and health. **American Journal of Surgery**, v. 180, p. 357-361, 2000.

MAC CLAIN, C. J. Increased tumor necrosis factor production by monocytes in alcoholic hepatitis. **Hepatology**, v. 9, p. 349-351, 1989.

_____. Zinc and alcohol. In: WATSON, R. R.; WATZ, B. **Nutrition and alcohol**. Boca Raton: CRC Press, 1992. p. 281-308.

MAHAN, K. L.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10.ed. Rio de Janeiro: Roca, 2000.

MAILLOT, F.; FARAD, S.; LAMISSE, F. Alcohol and nutrition. **Pathology Biology**, v. 49, n. 9, p. 683-688, 2001.

MENELLA, J. A. Infants' suckling responses to the flavor of alcohol in mothers' milk. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 21, p. 581-585, 1997.

_____. Regulation of milk intake after exposure to alcohol in mother's milk. **European Journal of Nutrition**, v. 40, n. 4, p. 147-154, 2001.

_____. Short-term effects of maternal alcohol consumption on lactational performance. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, p. 1389-1391, 1998.

MENELLA, J. A.; BEAUCHAMP, K. Effects of beer on breast - fed. **Journal of the American Medical Association**, v. 269, p. 1637-1668, 1993.

_____. The transfer of alcohol to human milk. **New England Journal of Medicine**, v. 325, p. 981-985, 1991.

MERUSSE, J. L. B.; LAPICHICK, V. B. V. Instalações e equipamentos. In: COMISSÃO DE ENSINO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2.ed. São Paulo: EPM, 1996. p.15-25.

MINANA, R.; CLIMENT, E.; BARETTINO, D.; SEGUI, J. M.; RENAUPQUERAS, J.; GUERRI, C. Alcohol exposure alters the expression pattern of neural cell adhesion molecules during brain development. **Journal of Neurochemistry**, v. 75, p. 954-964, 2000.

MITCHELL, M. C. Alcohol. In: OPS/ILSI. **Conocimientos actuales sobre nutrición**. 6.ed. Washington, 1991. p. 530-535.

MONTEIRO, M. G. Alcohol research in Latin America. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 20, p. 176A-180A, 1996.

MUKAMAL, R. J.; KULLER, L. H.; FITZPATRICK, A. L.; LONGSTREPH, W. T.; MITTLEMAN, M. A.; SISCOVICK, D. S. Prospective study of alcohol consumption and risk of dementia in older adults. **The Journal of the American Medical Association**, v. 289, p. 1405-1413, 2003.

MURILLO-FUENTES, L.; ARTILLO, R.; CARRERAS, O.; MURILLO, L. Effects of maternal chronic alcohol administration in the rat: lactation performance and pup's growth. **European Journal of Nutrition**, v. 40, n. 4, p. 147-154, 2001.

NA, A. R., DANIELS, L. C.; SEELIG Jr., L. L. Preliminary study of how alcohol consumption during pregnancy affects immune components in breast milk and blood of postpartum women. **Alcohol-Alcohol**, v. 32, p. 581-589, 1997.

NAASSSILA, M.; DAOUST, M. Effect of prenatal and postnatal ethanol exposure on the developmental profile of mRNAs encoding NMDA receptor subunits in rat hippocampus. **Journal of Neurochemistry**, v. 80, n. 5, p. 850-860, 2002.

NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM. **Report of a Subcommittee of the National Advisory Council on Alcohol Abuse and Alcoholism on the Review of the Extramural Research Portfolio for Fetal Alcohol Syndrome (FAS)**. Bethesda, 1997.

NEGRETE, J. C. El alcohol y las drogas como problemas de salud en America Latina. **Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 81, p. 158-175, 1976.

NEVES, J. D. A. S.; FACCIN, G. L.; TAVARES-DO-CARMO, M. das G. Efeito da ingestão de álcool durante a lactação sobre a produção e composição do LM e sobre o crescimento da prole: estudo em ratas. **Revista de Nutrição da Puccamp**, v. 8, p. 47-64, 1995.

O'BRIEN, J. M.; ALEXANDER, E. D. The invisible enemy. **Annual Scholar**, v. 1, p. 31-46, 1980.

OLIVEIRA, S. R. P.; BION, F. M.; LOPES, S. M. L.; METRI, A. C. Uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas (*Saccharomyces Cerevisiae*):Efeitos sobre a gestação, a lactação e o crescimento de ratos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 51, n.1, p.72-79, 2001.

OPS/ILSI. **Conocimientos actuales sobre nutrición**. 6.ed. Washington, 1991.

OTHMAN, T.; LEGARE, D.; SADRI, P.; WAYNE, W.; PARKINSON, F. E. A preliminary investigation of the effects of maternal ethanol intake during gestation and lactation on brain adenosine A1 receptor expression in rat offspring. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 24, n. 2, p. 275-279, 2002.

OYAMA, L. M.; COUTO, R. C.; COUTO, G. E. C., DAMASO, A. R.; NASCIMENTO, C. M. O. do. Ethanol intake during lactation. I. Effects on dams' metabolism and pups body weight gain. **Alcohol**, v. 21, p. 195-200, 2000 a.

_____. Ethanol intake during lactation. II. Effects on pups' liver and brain metabolism. **Alcohol**, v. 21, p. 201-216, 2000 b.

PAIVA, A. M. A. **Efeitos do tratamento com etanol durante a gestação e o aleitamento sobre a depressão alastrante cortical em ratos adultos jovens**. Recife: Companhia Editora de Pernambuco, 2002. p.112.

PELLETIER, S.; VAUCHER, E.; AIDER, R.; MARTIN, S.; PERNEY, P.; BALMES, J. L.; NALPAS, B. Wine consumption is not associated with a decreased risk of alcoholic cirrhosis in heavy drinkers. **Alcohol & Alcoholism**, v. 37, n. 6, p. 618-621, 2002.

PEPINO, M. Y.; ABATE, P.; SPEAR, N. E.; MOLINA, J. C. Disruption of maternal behavior by alcohol intoxication in the lactante rat: a behavioral and metabolic analysis. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 26, n. 8, p. 1205-1214, 2002.

PIANO, M. R.; ARTWOHL, J.; KIM, S. D.; GASS, G. The effects of liquid ethanol diet on nutritional status and fluid balance in the rat. **Alcohol & Alcoholism**, v. 36, n. 4, p. 298-303, 2001.

PINE, A. P.; JESSOP, N. S.; OLDHAM, J. D. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. **The British Journal of Nutrition**, v. 72, p. 815-830, 1994.

PRENTICE, A. M. Alcohol and obesity. **International Journal of Obesity**, v. 19, p. 44-50, 1995.

RAUTELA, G. S.; LIEDTKE, R. J. Automated enzymic measurement of total cholesterol in serum. **Clinical Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 108-114, 1978.

RAWAT, A. K. Ethanol and psychotropic drug interaction during pregnancy and lactation. **Biochemistry Pharmacology**, v. 30, p. 2457-2460, 1981.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN - 1993. Purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76^A rodent diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 10, p. 1939-1951, 1993.

REN, J.; LOREN, E.; NATAVIO, M.; REN, B.H.; HANNIGAN, J. H.; BROWN, R. A.. Influence of prenatal alcohol exposure on myocardial contractile function in adult rat hearts: role of intracellular calcium and apoptosis. **Alcohol and Alcoholism**, v. 37, n. 1, p. 30-37, 2002.

RODRIGO, R.; THIELEMANN, L.; OLEA, M.; MUNOZ, P.; CERECEDA, M.; ORELLANA, M. Effect of ethanol ingestion on renal regulation of water and electrolytes. **Archives of Medical Research**, v. 29, n. 3, p. 209-218, 1998.

ROUQUETTE, J. **Thesis**. Paris: University of Paris, 1957.

ROVINSKI, B.; HOSEIN, E. A Chronic maternal ethanol administration in the rat decreases the stimulation by (-) epinephrine of glycogen phosphorylase a in the livers of the progeny during development. **Substances Alcohol Actions Misuse**, v. 5, p. 77-85, 1984.

SANCHIS, R.; SANCHO-TELLO, M.; GUERRI, C. The role of liquid diet formulation in the postnatal ethanol exposure of rats via mother's milk. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 119, p. 82-91, 1989.

SCHUCKIT, P. Minimizing alcohol exposure of the breastfeeding infant. **Journal of Human Lactation**, v. 11, p. 317-319, 1995.

SCHUCKIT, P.; HARISON, Minimizing alcohol exposure of the breastfeeding infant. **Journal of Human Lactation**, v. 12, n. 2, p. 129-135, 1996.

SEELIG Jr., L. L.; STEVEN, W. M.; STEWART, G. L. Second generation effects of maternal ethanol consumption on immunity to *Trichinella spiralis* in female rats. **Alcohol and Alcoholism**, v. 34, p. 520-528, 1999.

SILVA, V. A.; RIBEIRO, M. J.; MASUR, J. Developmental, behavioral and pharmacological characteristics of rats offspring from mothers receiving ethanol during gestation or lactation. **Developmental Psychobiology**, v. 13, n. 6, p. 653-660, 1980.

SILVA, V. A.; MALHEIROS, L. R.; MORAES-SANTOS, A. R.; BARZANO, M. A.; MCLEAN, A. E. Ethanol pharmacokinetics in lactating women. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, p. 1097-1103, 1993.

SMITH, I. et al. The effect of volume and duration of exposure on neonatal physical and behavioral development. **Neurobehavioral and Toxicology Teratology**, v. 8, p. 375-381, 1986.

SREERANJITKUMAR, C. V.; LAL, J. J.; SURESH, M. V.; INDIRA, M.; VIJAYAMMAL, P. L. Effect of ethanol/arrack on the lipid metabolism of mammary gland during pregnancy and lactation in rats. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 43, p. 332-336, 1999.

STREISSGUTH, A. P.; DWYER, S. L.; MARTIN, J. C.; SMITH, D. W. Teratogenic effects of alcohol in humans and laboratory animals. **Science**, v. 209, p. 353-361, 1980.

SUBRAMANIAN, M. G. Alcohol inhibits suckling-induced oxytocin release in the lactating rat. **Alcohol**, v. 19, p. 51-55, 1999.

_____.Beta-endorphin-stimulated prolactin-release in lactating rats following alcohol administration. **Alcohol**, v. 11, p. 269-272, 1994.

_____.Effects of chronic alcohol administration on lactational performance in the rat. **Alcohol**, v. 12, p. 137-143, 1995a.

_____.Evaluation of lactational parameters after alcohol administration for four days during early or midlactation in the rat. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 21, p. 799-803, 1997.

_____.Inhibitory effect of alcohol on the established suckling-induced prolactin surge in lactating rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 198, p. 579, 1991.

_____.Lactation and prolactin release in foster dams suckling prenatally ethanol exposed pups. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 16, n. 5, p. 891-894, 1992.

_____. Prolactin secretion in lactating rats following chronic alcohol exposure - provocative tests with secretagogues. **Life Science**, v. 57, p. 533-539, 1995b.

SUBRAMANIAN, M. G.; CHEN, X. G.; BERGESKI, B. A.; SAVOY-MOORE, R. T. Alcohol inhibition of suckling-induced prolactin release in lactating rats: threshold evaluation. **Alcohol**, v. 8, p. 203-206, 1991.

SUBRAMANIAN, M. G.; HEIL, S. H. Chronic alcohol exposure and lactation - extended observations. **Alcohol**, v. 21, p. 127-132, 2000.

SUBRAMANIAN, M. G.; SAVOYMOORE, R. T. Alcohol effects on TRH-induced prolactin response in lactating rats - **in vivo** and **in vitro** studies. **Alcohol**, v. 10, p. 11-15, 1993.

SVANIDZE, I. K.; DIDIMOVA, E. V.; TSAISHVILI, T.S. Proliferative activity of the matrix cells in the lateral ventricles and granule cells in the dentate gyrus of the hippocampus in the rats after pre-and postnatal alcoholic intoxication. **Izv Akad Nauk Ser Biol**, v. 9, n. 1, p. 117-120, 2001.

SWANBERG, K. M.; WILSON Jr. Genetic and ethanol-related differences in maternal behavior and offspring viability in mice. **Development Psychobiology**, v. 12, p. 61-66, 1979.

TARELO-ACUNA, L.; OLVERA-CORTES, E.; GONZALEZ-BURGOS, I. Prenatal and postnatal exposure to ethanol induces changes in the shape of the dendritic spines from hippocampal CA1 pyramidal neurons of the rat. **Neurosciences Letters**, v. 286, p. 13-16, 2000.

TAVARES, E.; CARRERAS, O.; GÓMES, T. A.; PAGLIALI, H.; MURILLO, M. L. Zinc intestinal absorption in newborn rats at 21 day postpartum: effects of maternal ethanol consumption. **Life Science**, v. 62, p. 787-797, 1998.

TAVARES, E.; CARRERAS, O.; GOMEZ-TUBIO, A.; MURILLO, D.; MURILLO, M. L. Effects of folic acid and amino acids supplementation on

zinc intestinal absorption in the progeny of ethanol-treated rats. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 56, p. 247-256, 2000.

TAVARES, E.; GOMES-TUBIO, A.; MURILLO, M. L.; CARRERAS, O. Brown and white adipose tissue lipid composition in the three successive progenies of rat: effects of ethanol exposure. **Archives Tierernanhr**, v. 55, n. 1, p. 53-67, 2001.

TAVARES-DO-CARMO, M. das G. **Efeito da ingestão de álcool sobre o metabolismo lipídico em ratas lactantes**. 1993. 198f. Tese (Mestrado) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

TAVARES-DO-CARMO, M. G.; NASCIMENTO-CURI, C. M. O. Effect of ethanol intake during lactation on the metabolism on dams and on pup development. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 23, p. 1161-1163, 1990.

_____. Effects of ethanol intake on lipid metabolism in the lactating rat. **Alcohol**, v. 13, p. 443-448, 1996.

TAVARES-DO-CARMO, M. G.; NASCIMENTO-CURI, C. M. O.; MARTIN, A., HERRERA, E. Ethanol intake during lactation impairs milk production in rats and affects growth and metabolism of suckling pups. **Alcohol**, v. 18, p. 71-76, 1999.

TESTAR, X.; LÓPES, D.; LLOBERA, M.; HERRERA, E. Ethanol administration in the drinking fluid to pregnant rats as a model for the fetal alcohol syndrome. **Pharmacology and Biochemistry Behavior**, v. 24, n.3, p. 625-630, 1986.

THADAN, L.; STOTKIN, S. Effects of maternal ethanol ingestion on amine uptake into: syntoptosomes of fetal and neonatal rat brain. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapy**, v. 97, p. 292-297, 2000.

THOMAS, J. D. Behavioral deficits induced by binge-like exposure to alcohol in neonatal rats: importance of developmental timing and number of episodes. **Development Psychobiology**, v. 29, p. 433-452, 1996.

THOMAS, J. D.; BURCHETT, T. L.; DOMINGUEZ, H. D.; RILEY, E. P. Neonatal alcohol exposure produces more severe motor coordination deficits in high alcohol sensitive rats compared to low alcohol sensitive rats. **Alcohol**, v. 20, p. 93-99, 2000.

TOMLINSON, D.; WILCE, P.; BEDI, K. S. Spatial learning ability of rats following differing levels of exposure to alcohol during early postnatal life. **Physiology and Behavior**, v. 63, p. 205-211, 1998.

TRAN, D.; KELLY, S. J. Alterations in hippocampal and hypothalamic monoaminergic neurotransmitter systems after alcohol exposure during all three trimester equivalents in adult rats. **Journal of Neural Transmission**, v. 106, p. 773-786, 1999.

TRINDER, P. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v. 6, p. 24, 1969.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO. **Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas** (CEBRID). Obtido em 02-11-2002 Disponível em: www.unifesp.br/dpsicobio.

VANGLÉNOVA, J.; PETKOV, V. V. Effect of maternal alcohol consumption on the lipid composition. **Journal of Neurochemistry**, v. 22, p. 697-703, 1998.

VALLEE, B. L. Alcohol in human history. In: JANON, B.; JÖRNVALL, H.; RYDBERG, U.; TERENIUS, L. **Toward a molecular basis of alcohol use and abuse**. Basel: Birkhäuser Verlag, 1994. p.1-8.

VILALPANDO, S. Ethanol consumption during pregnancy and lactation: changes in the nutritional status of predominantly breast feeding mothers.

Archives of Medical Research, v. 24, p. 333-338, 1993.

VILLARÓ, S.; VIÑAS, O.; REMESAR, X. Altered ultrastrutucure of lactating rat mammary epithelial cells induced by chronic ethanol ingestion. **Alcohol:**

Clinical and Experimental Research, v. 1, p. 128-136, 1989.

_____.Effect of chronic ethanol consumption on lactation performance in rat: mammary gland and milk composition and pup's growth and metabolism.

Pharmacology and Biochemical Behavior, v. 2, p. 333-339, 1987.

VIRELLA, M. F. L.; STONE, P.; ELLIS, S.; COLWELL, G. Cholesterol determination in hight densid lipoproteion separated by three diferent metods. **Clinical Chemistry**, v. 23, n. 5, p. 882-884, 1977.

VITOLO, M. R.; PATIN, R. B., VON BULOW, A. C.; GANZERLI, N.; FISBERG, M. Conhecimentos e crendices populares de puérperas na prática da amamentação. **Revista de Nutrição da Puccamp**, Campinas, v. 7, p. 132-147, 1994.

VOLPI, E. Moderate and large doses of ethanol differentially affect hepatic protein metabolism in humans. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, p. 198-203, 1998.

VORHERR, H Alcohol and teratogenic effects. **Postrand Grand Medicine**, v. 56, p. 97, 1974.

WANNAMETHEE, S. G.; SHAPER, A. G. Alcohol, body weight, and weight gain in middle - aged men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 1312-1317, 2003.

WARNER, R. H.; ROSETT, H. L. The effects of drinks on offspring. As historical survey of the American and British literature. **Journal of Studies on Alcohol** ,v. 36, p. 1395-1398, 1975.

WATMAMAN, R. Alcohol in lactation. **American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 40, p. 180, 1972.

WIGLE, D. A.; PANG, S. C.; RADAKOVIC, N. N.; SARDA, I. R.; WATSON, J. D.; RAY, R. N.; FLYNN, T. G. Chronic ethanol ingestion modifies the renin-aldosterone axis independent of alterations in the regulation of atrial natriuretic peptide. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 17, n. 4, p. 841-846, 1993.

WILSON, W. R.; PHILLIPS, K. S.; LESLIE, S. W. Ethanol and glutamate effects of intracellular magnesium. **Alcohol**, v. 14, p. 533-536, 1997.

ZHU, X.; SEELIG Jr., L. L. Developmental aspects of intestinal intraepithelial and lamina propria lymphocytes in the rat following placental and lactational exposure to ethanol. **Alcohol and Alcoholism**, v. 35, p. 25-30, 2000.

ZORDANO, A.; HERRERA, E. Decreased *in vivo* rate of ethanol metabolism in the suckling rat. **Alcohol: Clinical and Experimental Research**, v. 13, p. 527-532, 1989.

10 - ANEXO
