
Katiucha Karolina Honório Ribeiro Rocha

Efeitos do resveratrol, polifenol da uva, sobre metabolismo basal e hepático, estresse oxidativo e perfil lipídico em ratos submetidos a dieta rica em sacarose e sua associação ao consumo de etanol

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências biológicas, área de concentração Farmacologia, do Instituto de Biociências- UNESP, Botucatu para obtenção do Título de Doutora

*Orientadora: Professora Titular Dra Ethel Lourenzi Barbosa
Novelli*

*Botucatu
2010*

Agradecimientos

*Agradeço o apoio financeiro da
Fundação de Amparo a Pesquisa do
Estado de São Paulo (FAPESP)*

(Processo nº 07/59086-0)

Agradeço

A Deus,

Aos meus pais e irmã pelo carinho, amor e paciência,

Aos funcionários da pós-graduação e do departamento de bioquímica sempre dispostos a auxiliar quando necessário,

E aos meus queridos amigos Gisele, Geovana, Fábio e Juliana cujo apoio e amizade foram fundamentais na realização deste trabalho.

Agradecimento especial

Agradeço a Dra Ethel pela dedicação, por acreditar em meu trabalho e principalmente por me ensinar a trilhar os caminhos da pesquisa científica

Capítulo 1- Resveratrol: Ação sobre parâmetros nutricionais e morfométricos de ratos submetidos ao consumo de etanol e a associação de etanol e sacarose

I. ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effects of resveratrol in animals supplemented with ethanol by 3 days weeks by morphometrics and nutritional parameters in rats. 30 Wistar rats were divided into 5 groups. Control group (C, n=6) received drinking water. The ethanol group (E, n=6) received ethanol aqueous solution during 3 days and drinking water for 4 days. ER group (n=6) received ethanol and resveratrol (6mg/L) aqueous solution during 3 days and drinking water for 4 days. ES group (n=6) received ethanol and sucrose (30%) solution in drinking water 3 days/week; and ESR group, received ethanol and sucrose solution as ES group and resveratrol (6mg/L) 3 days/week during 30 days. All animals received standard chow diet and solutions *ad libitum*. Statistical analyses: ANOVA, with Bonferroni, post hoc test, $p < 0.05$. Ethanol intake reduced the palatability and solution intake, increased total energy intake in relation a control, except ESR group. Ethanol increased length body in relation a control group in animals without supplementation with sucrose. Ethanol and sucrose solution reduced chow consumption, alimentary preference and increased alimentary efficiency compared with C and E groups, and increased total energy intake in relation a E. Resveratrol treatment reduced ethanol consumption and total energy intake in ER group in comparison with E and reduced alimentary preference and Lee index when compared to C. Resveratrol treatment in rats received ethanol and sucrose increased total energy intake, preference and efficiency alimentary, and reduced chow consumption in relation to C, E and ER groups. The resveratrol in ESR group increased solution and ethanol consumption when compared to E, ER e ES, beyond of increased palatability and resveratrol consumption in relation an ER group. The resveratrol in ESR elevated the body final weight in relation to C, ER and ES; and body weight gain in compared with C and ER. In conclusion, resveratrol had beneficial in ER group because reduced ethanol consumption in relation to E group. This effect was not observed in ESR group, because sucrose stimulated ethanol consumption independently of resveratrol presence.

II. RESUMO

O objetivo deste capítulo foi determinar os efeitos do resveratrol sobre parâmetros morfométricos e nutricionais de ratos suplementados com etanol e com etanol associado à sacarose, foram utilizados 30 ratos machos Wistar divididos em 5 grupos (n=6/grupo). O grupo C, considerado controle recebendo água destilada; grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais; grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30% com etanol 30% durante 3 dias semanais e o grupo ESR que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose e etanol como no grupo ES e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais. Os animais receberam dieta padrão *ad libitum*. Período experimental: 75 dias. Estatística: ANOVA, (p<0,05). O etanol reduziu a palatabilidade e consumo líquido e promoveu elevação da energia total ingerida em relação ao C, exceto no grupo ESR. A associação de etanol com sacarose reduziu o consumo de ração, preferência alimentar e elevou a eficiência alimentar em comparação com C e E, bem como energia total ingerida em relação ao E. O tratamento com resveratrol no grupo ER reduziu o consumo de etanol e a energia total ingerida em relação ao E, além de reduzir a preferência alimentar e o índice de Lee, quando comparado ao C. Já o tratamento com resveratrol em animais que receberam etanol e sacarose elevou a energia total ingerida, preferência e eficiência alimentar, além de reduzir o consumo de ração em relação aos grupos C, E e ER. O tratamento com resveratrol aumentou o consumo líquido e de etanol no grupo ESR em comparação com E, ER e ES e elevou a palatabilidade e consumo de resveratrol em relação ao grupo ER. O resveratrol no grupo ESR também aumentou o peso final em relação a C, ER e ES e ganho de peso em comparação a C e ER. Concluiu-se que resveratrol apresentou efeito benéfico nos animais do grupo ER, desde que reduziu o consumo de etanol. Este efeito não foi observado nos animais do grupo ESR, indicando que a presença de sacarose estimulou o consumo de etanol, independente da presença de resveratrol.

III. INTRODUÇÃO

3.1. Consumo de etanol e peso corporal

O etanol é um dos mais importantes solventes, sendo utilizado como combustível e empregado na indústria de produtos farmacêuticos, cosméticos, tintas e resinas sintéticas. Entretanto, sua maior disseminação e notoriedade estão nas bebidas alcoólicas, como cervejas (4%), vinhos (11%) e destilados (30 a 55%) (LIEBER, 1992).

A ingestão de álcool tem grandes efeitos no equilíbrio energético e metabolismo de outros macronutrientes e de fato, quando ingerido é oxidado imediatamente competindo diretamente com a oxidação de outros macronutrientes (SUTER et al., 1994; SONKO et al., 1994). Interações entre os macronutrientes dietéticos e o consumo de etanol podem ser importantes para analisar o metabolismo e a utilização dos nutrientes (CORNIER et al., 2002), pois a energia para suportar os processos vitais é obtida pela oxidação dos nutrientes contidos nos alimentos ingeridos.

Em muitas sociedades o etanol é considerado como parte da alimentação básica. Independentemente das circunstâncias, o elevado consumo de álcool resulta em vários efeitos tóxicos, atingindo a maioria dos tecidos, sendo os mais afetados o fígado e o cérebro (LIEBER, 1983). O consumo de etanol é classificado com leve, moderado e excessivo. O consumo leve a moderado associa-se ao consumo de doses menores que 30 gramas/dia. Quantidades maiores que 30 gramas por dia são consideradas como consumo excessivo (AGARWAL 2002).

Após ingestão de etanol, cerca de 20% do total é absorvido no estômago e nas primeiras porções do intestino delgado. Somente de 2 a 10% do etanol absorvido é eliminado via rins e pulmões; o restante deve ser oxidado no fígado, visto que o álcool não pode ser armazenado (LIEBER & ABITTAN, 1999).

Por ser uma molécula pequena e solúvel tanto em meio aquoso como lipídico, o etanol atinge todos os tecidos do organismo e afeta a maioria das funções vitais (LIEBER, 1992). A absorção de etanol é rápida através do estômago, intestino delgado e cólon. Difundindo-se facilmente pelas membranas biológicas, atinge, em poucos minutos, elevadas concentrações sanguíneas. O consumo prolongado de etanol aumenta os riscos de doenças hepáticas, doenças cardiovasculares, úlceras, certos tipos de cânceres, complicações na gestação e danos cerebrais (AGARWAL & SEITZ, 2001).

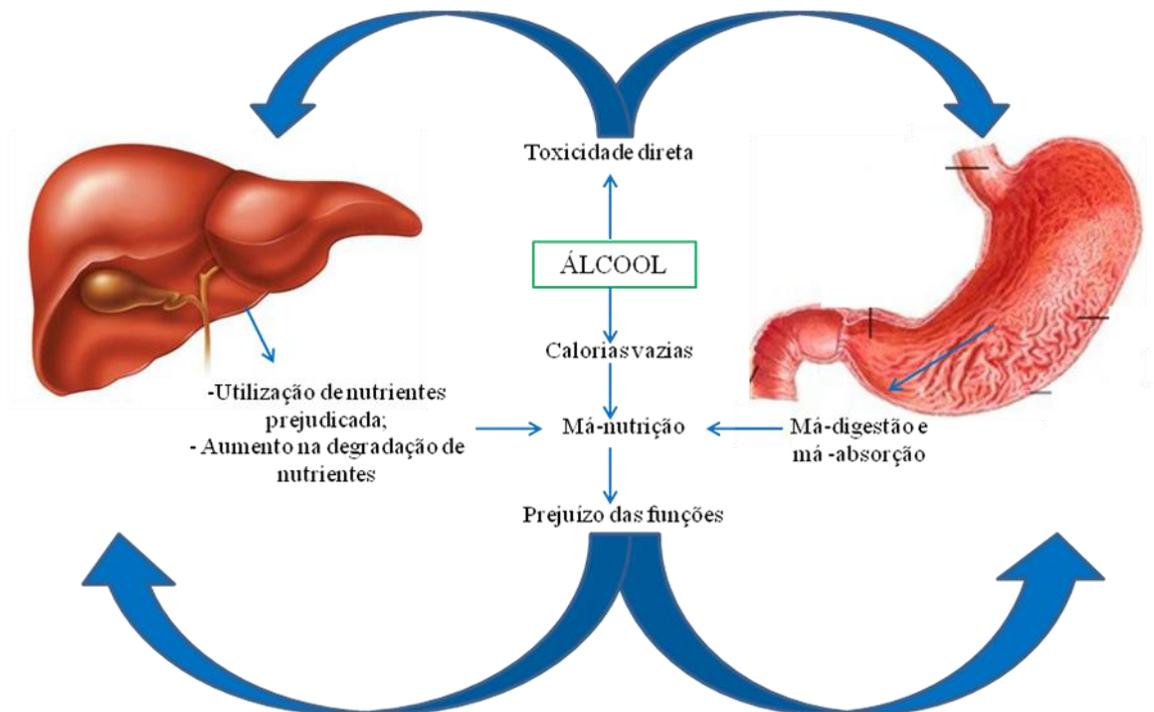
Estudos mostram que as calorias do etanol são usualmente adicionadas a dieta normal de indivíduos que consomem esta substância (CAMARGO et al., 1987). Quando o consumo habitual de etanol excede a energia necessária ao organismo, favorece o estoque de lipídios e o aumento do peso corporal (SUTTER et al., 1992) e conseqüentemente o desenvolvimento de obesidade. O álcool tem prioridade no metabolismo, alterando outras vias metabólicas, incluindo a oxidação lipídica, o que permite o estoque de gorduras no organismo que se depositam preferencialmente na área abdominal (SUTER et al., 2005). Além disso, o álcool é considerado um estimulador do apetite, que atua sobre vários sistemas neuroquímicos através da inibição da leptina, peptídeo glucagon-like-1 e serotonina, ou aumentando o efeito do ácido gama-aminobutírico, opióides e neuropeptídeo Y (YEOMANS et al., 2003; YEOMANS et al., 2004).

CORNIER et al. (2002) demonstraram que o consumo de etanol não foi capaz de alterar o ganho de peso e nem mesmo o balanço energético de ratos. Segundo LIEBER (2003), o consumo excessivo de álcool causa desnutrição, pela redução na ingestão de nutriente e também pela má-absorção de nutrientes no intestino. A desnutrição pode promover danos no fígado e prejuízo das funções hepáticas (LIEBER, 2003), além de redução no peso corporal. Estudos realizados com animais mostraram que quando o etanol constitui 30% do total calórico, o ganho de peso é reduzido significativamente, uma vez que as calorias do etanol não podem ser utilizadas eficientemente pelo corpo, sendo classificadas como calorias vazias (LIEBER, 1991).

O consumo de etanol pode induzir um déficit de energia, ao contrário do que foi descrito por SUTTER et al. (1994). Este déficit foi associado com aumento do tônus simpático e termogênese (LIEBER, 1991; McCARTY, 1999).

Segundo FALCK-YTTER et al. (2000), bebidas alcoólicas têm vários efeitos no status nutricional, incluindo ganho de peso ou perda de peso dependendo das circunstâncias.

Baseado nas controvérsias a respeito do papel do etanol sobre o organismo, e a fim de compreender o papel energético do etanol no controle do ganho de peso, este capítulo abordou o estudo da ingestão de etanol e sua relação direta com parâmetros morfométricos e nutricionais em ratos submetidos à dieta padrão e suplementados com sacarose.



Esquema 1. Danos promovidos pelo consumo excessivo de etanol (LIEBER, 1991)

3.2. Suplementação com sacarose e desenvolvimento de obesidade

A ingestão de sacarose tem crescido, principalmente pelo aumento no consumo de refrigerantes, cereais matinais, condimentos e sobremesas adoçadas com sacarose e xarope de milho (ELLIOT et al., 2002).

A ingestão de dietas ricas em carboidratos simples, como a sacarose, altera o perfil lipídico e a função endotelial (NADERALI & WILLIAMS, 2003) podendo estar associada a doenças cardiovasculares (NOVELLI et al., 2002), além de acelerar o aparecimento de modificações degenerativas observadas no envelhecimento (DROGE, 2002) e aparecimento de vários tipos de câncer (HART et al., 1999).

Dietas contendo alimentos ricos em carboidratos, que promovem elevada resposta glicêmica, alteram o apetite e a utilização da energia promovendo o ganho de peso. Elevada ingestão de carboidratos está geralmente associada com aumento no efeito glicêmico da dieta. Tanto a quantidade como a qualidade dos carboidratos influenciam a glicemia pós-prandial, e a interação entre os dois pode ser sinérgica (BRAND-MILLER et al., 2002).

Indivíduos que consomem alimentos com alto índice glicêmico, podem apresentar hiperglicemia, possivelmente decorrente da exaustão das células β pancreáticas, podendo

desenvolver diabetes tipo 2 (SALMERON et al., 1997), pelo aumento na demanda pela secreção de insulina (FOSTER-POWELL & BRAND-MILLER, 1995; HOLT et al., 1997).

Tem sido demonstrado que ingestão de sacarose pode elevar o peso corporal, quando administrada em solução, ou como suplemento (LAWTON & BLUNDELL, 1992; KIM et al., 2005). A variação nos componentes da dieta, além do conteúdo calórico, bem como o número de refeições diárias influencia consideravelmente o ganho de peso (ACHESON, 2004) e os parâmetros metabólicos a ela associados (FAINE et al., 2002; DINIZ et al., 2002).

Dietas ricas em energia podem antecipar os efeitos da idade no ganho de peso, na forma de gordura, tanto em humanos quanto em roedores jovens (IOSSA et al., 2003). Estudos prévios em nosso laboratório demonstraram que dieta rica em carboidratos leva a alterações metabólicas como aumento do ganho de peso corporal, do índice de massa corporal (IMC), índice de Lee e da superfície corporal de animais (FAINE et al., 2002; EBAID et al., 2006; DINIZ et al., 2008; SOUZA et al., 2008).

De maneira geral, quando a energia ingerida excede o gasto energético, o excesso de energia é depositado como lipídios nos adipócitos, caracterizando a obesidade (WARHLICH & DOS ANJOS, 2001; IOSSA et al., 2002; LOPES et al., 2004).

Obesidade é uma doença crônica proveniente do desequilíbrio calórico, cuja prevalência tem aumentado em vários países, contribuindo substancialmente com a morbidade e mortalidade associadas a patologias como diabetes, hiperlipidemia, hipertensão e doenças cardiovasculares (KIM et al., 2005).

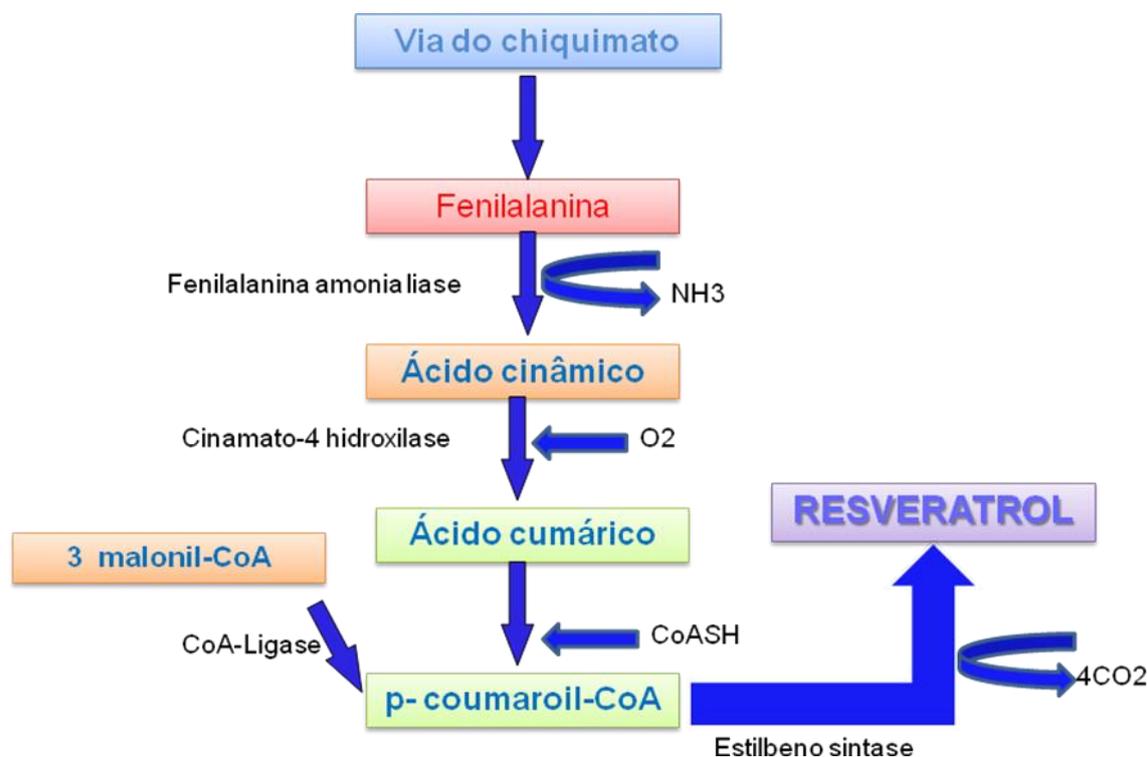
Conhecendo o papel da sacarose sobre o desenvolvimento de obesidade e tendo em vista as inúmeras controvérsias sobre a participação do etanol no ganho de peso, este capítulo abordou também o estudo da interação entre etanol e sacarose sobre parâmetros nutricionais e morfométricos.

3.2. Papel do resveratrol na dieta

O resveratrol é um fenilpropanoíde com atividade de fitoalexina produzida nos vegetais em resposta a condições adversas tais como radiação UV e ataque de patógenos (FLOREANI, 2003; MARTINEZ & MORENO, 2000).

As fitoalexinas constituem um grupo de metabólitos secundários quimicamente diversos, que se acumulam em torno do local de infecção e apresentam atividade antimicrobiana (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os precursores do resveratrol são os ácidos

cumárico e malônico na proporção de 1:3 (SOLEAS et al., 1997), provenientes das rotas do ácido chiquímico e ácido mevalônico (Esquema 2).

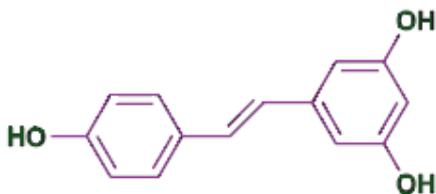


Esquema 2. Via de síntese do resveratrol (SOLEAS et al., 1997)

Resveratrol (3,4', 5- trihidroxiestilbeno) tem sido identificado em 72 espécies de plantas distribuídas em 31 gêneros e 12 famílias (ACQUAVIVA et al., 2002) muitas incluídas na dieta humana como amoras, amendoins e uvas (SOLEAS et al., 1997; WENZEL, 2005).

O resveratrol é sintetizado por diversos vegetais em resposta a condições adversas, como estresse, radiação UV e infecção por fungos (FLOREANI et al., 2003). Constitui um composto fenólico de *Vitis vinífera L* que possui diversos efeitos farmacológicos (OU et al., 2006). Existe em duas formas isoméricas, cis e trans (STOJANOVIC, 2001). Devido à sensibilidade a luz, poucas são as informações sobre as propriedades do isômero cis-resveratrol (BASLY, 2000). O isômero trans é a forma mais estável do resveratrol e farmacologicamente ativa (MARRIER et al., 2002) (Esquema 3).

Resveratrol tem atraído interesse desde sua identificação em vinhos e sua relação com ingredientes ativos usados na medicina asiática tradicional *kojo-kon* para tratamento de hiperlipemia (ARICHI & KIMURA 1982).



Esquema 3. Estrutura da molécula de trans-resveratrol (SOLEAS et al., 1997)

O resveratrol tem sido reportado por seu efeito protetor contra lesões isquêmicas (WANG et al., 2002) e doenças neurodegenerativas (HUNG et al., 2000; FREMONT, 2000; SUN et al., 2002). Além disso, uma série de estudos tem descrito os efeitos benéficos do resveratrol sobre doenças cardiovasculares, baseados em sua propriedade antioxidante (MARTINEZ & MORENO, 2000; SATO et al., 2000) e anticoagulante (SOLEAS et al., 1997).

Segundo HOU e colaboradores (2008) o resveratrol pode proteger o organismo contra doenças metabólicas mimetizando a condição de restrição calórica (BAUR et al., 2006). Embora o resveratrol mimetize uma restrição calórica, não há estudos conclusivos a respeito de seu papel sobre ganho de peso e obesidade.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 30 ratos machos adultos *Wistar* de peso médio $334,9 \pm 6,5$ g. Os animais foram provenientes do Biotério Central da UNESP, "campus de Botucatu", e transferidos para o "Laboratório de Bioquímica na Experimentação Animal" do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu, onde permaneceram durante todo o período experimental, à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ com períodos claro/escuro de 12 horas. O protocolo experimental nº 76/07 está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da UNESP/Botucatu.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais recebendo ração padrão, sendo divididos em 5 grupos ($n=6/\text{grupo}$), diferindo no componente líquido da dieta: grupo C,

considerado controle recebendo água destilada; grupo E - (água destilada 4 dias + etanol 3 dias), que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais; grupo ER – (água destilada 4 dias + etanol com resveratrol 3 dias), que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES – (sacarose 4 dias + etanol 3 dias), que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR – (sacarose 4 dias + etanol com sacarose e resveratrol 3 dias), que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais.

Durante a primeira semana experimental os animais dos grupos E, ER, ES e ESR receberam suas respectivas soluções com etanol a 15% para adaptação, passando a receber etanol a 30% nas demais semanas, até o final do experimento. O experimento foi realizado durante 70 dias.

A concentração de resveratrol foi estimada para corresponder a sua ingestão diária contida em 1 litro e meio de suco de uva por dia (DONG, 2003) para humanos de 70 Kg, corrigida de acordo com a ingestão diária por Kg de peso para os animais (HABOLD et al., 2004). O resveratrol foi dissolvido em água (6mg/L), usando-se etanol como carreador (25mg resveratrol/1mL etanol). Nesta concentração, o etanol não possui efeito farmacológico ou sinérgico (BRADAMANTE et al., 2003). O resveratrol é sensível à luz, portanto todos os bebedouros foram totalmente cobertos por folhas de papel alumínio durante o decorrer do experimento (BRADAMANTE et al., 2003).

4.2. Determinações morfométricas e parâmetros nutricionais

A ingestão alimentar foi controlada diariamente, no mesmo horário (9:00 as 11:00 horas). Semanalmente os animais foram pesados. O consumo de água e de soluções líquidas foi determinado a cada três dias.

Calculou-se a quantidade de energia ingerida (Kcal/dia) por animal, por dia. Para os grupos com ingestão de etanol e com etanol suplementado com sacarose, foram acrescentadas aos cálculos as quantidades calóricas correspondentes às respectivas substâncias (7 Kcal/g para etanol e 4 Kcal/g para sacarose).

Foram determinados segundo DINIZ et al. (2002) os parâmetros nutricionais:

- **Preferência Alimentar (%):** (consumo alimentar/ quantidade de dieta ofertada) x 100;

-
- **Palatabilidade (%):** (ingestão de solução aquosa / quantidade de solução aquosa ofertada) x 100;
 - **Eficiência Alimentar (%):** (ganho de peso/energia ingerida) x 100.

Ao término do período experimental, 75 dias, após jejum de 12 horas os animais foram anestesiados (pentobarbital sódico 3%, 0,1mL, i.p.) e foram determinados parâmetros morfométricos, que incluíram:

- **Circunferência abdominal (cm);**
- **Comprimento corporal total (exceto cauda) (cm).**

Os valores obtidos do comprimento e do peso corporal dos animais experimentais foram utilizados para o cálculo do índice de massa corpórea (IMC) dos animais, adaptado do IMC utilizado em humanos bem como para o cálculo de índice de Lee (NOVELLI et al., 2007), nos quais:

- **IMC (g/cm²):** peso corporal/ comprimento corporal²
- **Índice de Lee (g³/ cm¹):** raiz cúbica peso corporal /comprimento corporal.

4.3. Análise Estatística

Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão. Para comparação entre as médias foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para esquema fatorial 2x2 no modelo ao acaso, complementada com o teste de Bonferroni. O teste t de “Student” foi utilizado para comparação entre dois grupos experimentais. Comparações entre parâmetros nutricionais e morfométricos foram analisados através da correlação linear de Pearson. O nível de significância foi estimado com $p < 0,05$ (CURI, 1997; SMITH et al., 1998).

V. RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os parâmetros morfométricos dos grupos em estudo. Observou-se que animais que receberam solução aquosa contendo etanol, sacarose e resveratrol aumentaram seu peso corporal final quando comparados aos grupos C, ER e ES. O grupo ESR apresentou também elevação no ganho de peso em relação aos grupos C e ER, bem como aumento do comprimento corporal em comparação com os grupos C e ES (Tabela 1). Animais suplementados com etanol e etanol associado ao resveratrol elevaram o comprimento corporal, quando comparados ao controle. O resveratrol reduziu o índice de Lee em animais suplementados com etanol em relação ao grupo C.

Os parâmetros morfométricos como peso inicial, superfície corporal, circunferência abdominal e índice de massa corporal (IMC) não apresentaram diferença significativa entre os grupos experimentais (Tabela 1).

Houve redução do consumo médio de ração pelo grupo ESR em relação aos grupos C, E e ER, bem como no grupo ES quando comparado aos grupos C e E (Tabela 2).

O consumo líquido está apresentado na Tabela 3. Houve redução na ingestão líquida nos grupos E, ER e ES em relação ao controle. O grupo ESR elevou o consumo líquido quando comparado aos demais grupos que receberam solução contendo etanol.

Os parâmetros nutricionais estão descritos na Tabela 4. Pode-se notar que o consumo de etanol foi reduzido no grupo ER em relação ao grupo E, e elevado no grupo ESR quando comparado aos demais grupos suplementados com etanol. A palatabilidade apresentou-se reduzida nos grupos E, ER e ES em relação ao controle, enquanto o grupo ESR aumentou a palatabilidade quando comparado ao grupo ES.

A energia total ingerida apresentou-se elevada nos animais que receberam etanol quando comparados ao controle. Os grupos suplementados com sacarose elevaram a energia ingerida em relação aos demais grupos em estudo (Tabela 4). O parâmetro eficiência alimentar apresentou-se elevado nos animais suplementados com sacarose, quando comparados aos grupos com ausência do carboidrato na dieta, entretanto, a preferência alimentar foi reduzida nos grupos ER, ES e ESR em relação a C e a E (Tabela 4).

A Tabela 5 apresenta o consumo de resveratrol pelos animais dos grupos ER e ESR. Observou-se que animais pertencentes ao grupo ESR apresentaram maior consumo de resveratrol em relação ao ER.

As Figuras 1 e 2 apresentam correlações entre o consumo de etanol e parâmetros nutricionais como energia total ingerida e preferência alimentar. Foi observada a presença de correlação positiva entre o consumo de etanol e energia ingerida ($r=0,836$), bem como correlação negativa entre o consumo de etanol e preferência alimentar ($r=-0,706$). A Figura 3 apresenta a correlação negativa entre consumo de resveratrol e a preferência alimentar ($r=-0,797$).

Tabela 1. Peso inicial, peso final, ganho de peso, comprimento, superfície corporal, circunferência abdominal, índice de massa corporal (IMC) e índice de Lee dos animais pertencentes ao grupo C considerado controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
Peso inicial (g)	337,91±33,98	342,31±35,17	328,57±27,68	327,62±33,00	338,37±27,36
Peso final (g)	422,83±17,36	444,95±23,28	420,50±24,86	420,54±27,96	465,76±25,23 ^{acd}
Ganho de peso (g)	79,63±17,36	102,64±17,83	91,94±17,83	96,12±15,53	124,67±18,53 ^{ac}
Comprimento (cm)	24,33±0,52	25,25±0,42 ^a	25,17±0,41 ^a	24,58±0,47	25,50±0,45 ^{ad}
Superfície corporal (g/cm ³)	70,09±3,99	71,40±2,64	68,63±2,84	68,18±3,27	72,82±3,84
Circunferência abdominal (cm)	18,00±0,55	17,75±0,27	17,33±0,41	17,67±0,49	17,58±0,38
IMC (g/cm ²)	0,73±0,04	0,70±0,04	0,66±0,04	0,67±0,07	0,70±0,07
Índice de Lee	0,311±0,005	0,302±0,006	0,298±0,006 ^a	0,304±0,005	0,302±0,005

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com $p < 0,05$; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com $p < 0,05$; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com $p < 0,05$; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com $p < 0,05$

Tabela 2. Consumo de ração pelos animais pertencentes ao grupo C considerado controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
1 semana	24,62±1,65	24,63±2,09 ^{BC}	22,37±1,79 ^{BC}	13,45±2,12 ^{abB}	15,20±1,77 ^{abcC}
2 semana	25,30±1,53	22,90±1,86	21,79±1,10 ^a	12,07±1,53 ^{ab}	12,21±2,21 ^{abc}
3 semana	24,84±1,58	23,50±1,22	22,81±1,22 ^{BC}	12,57±2,17 ^{ab}	12,70±2,06 ^{abc}
4 semana	23,25±0,87	22,66±1,22	21,95±1,26	11,15±2,32 ^{ab}	11,65±2,20 ^{abcAB}
5 semana	23,18±1,11	22,61±1,31	21,76±1,20 ^{AB}	11,44±1,59 ^{ab}	12,01±1,44 ^{abc}
6 semana	24,79±0,83	23,52±1,40	23,27±1,03 ^{BC}	11,51±2,73 ^{ab}	13,23±1,00 ^{abc}
7 semana	25,51±1,32	24,26±1,03 ^B	23,40±1,27 ^{BC}	11,71±1,96 ^{ab}	13,23±1,00 ^{abcBC}
8 semana	24,62±1,77	25,32±2,02 ^C	24,73±1,15 ^C	10,57±2,17 ^{ab}	13,12±1,23 ^{abcBC}
9 semana	24,65±1,52	20,97±1,51 ^{aA}	19,18±2,28 ^{aA}	9,25±1,12 ^{abA}	9,64±1,07 ^{abcA}
10 semana	24,40±1,42	22,01±1,43 ^{aAB}	21,03±1,36 ^{aAB}	9,71±1,37 ^{ab}	11,17±0,58 ^{abcAB}
Média	24,52±1,12	23,24±1,26	22,38±1,11	11,99±1,56^{ab}	12,39±1,37^{abc}

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com p<0,05 ; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com p<0,05; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com p<0,05; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com p<0,05. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as semanas

Tabela 3. Consumo de líquido pelos animais pertencentes ao grupo C considerado controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
1 semana	44,20±4,78 ^{AB}	34,83±3,28 ^{aA}	32,72±2,84 ^{aA}	37,61±4,89 ^{AB}	42,23±3,95 ^{bcCD}
2 semana	38,86±4,48 ^{AB}	33,62±2,81 ^A	31,50±2,60 ^{aA}	34,88±3,71 ^{AB}	37,48±3,01 ^{cAC}
3 semana	37,04±2,97 ^A	33,40±1,79 ^A	32,33±1,62 ^{aA}	36,16±3,56 ^{AB}	36,52±2,63 ^{AC}
4 semana	43,82±3,71 ^{AB}	37,10±1,96 ^{aA}	37,29±3,95 ^{aB}	40,88±3,84 ^{aB}	52,17±3,85 ^{abcdB}
5 semana	39,88±3,39 ^{ACD}	35,62±1,56 ^A	32,36±4,14 ^{aA}	37,81±3,93 ^{AB}	36,82±5,76 ^{AC}
6 semana	37,60±3,44 ^{AC}	32,48±1,62 ^{aA}	31,25±2,09 ^{aA}	33,18±1,68 ^A	34,65±3,35 ^A
7 semana	45,10±3,69 ^{BD}	37,36±1,25 ^{aA}	34,24±2,25 ^{aA}	40,00±3,00 ^{AB}	42,72±4,03 ^{bcdBD}
8 semana	44,76±2,46 ^{BC}	42,93±1,61 ^B	40,03±2,67 ^{BC}	40,90±4,05 ^B	42,72±4,03 ^{CD}
9 semana	44,73±3,59 ^{BC}	32,79±3,15 ^{aA}	29,81±2,67 ^{aA}	35,22±3,82 ^{aAB}	41,90±2,22 ^{bcdAD}
10 semana	50,41±2,78 ^B	34,50±3,05 ^{aA}	32,70±2,96 ^{aAC}	39,77±2,91 ^{abAB}	41,28±2,16 ^{abcAD}
Média	42,57±1,84	35,46±1,69^a	32,82±1,25^a	36,84±1,79^a	41,22±0,83^{bcd}

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com p<0,05 ; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com p<0,05; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com p<0,05; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com p<0,05. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as semanas

Tabela 4. Consumo de etanol, consumo de sacarose, palatabilidade, energia total ingerida, preferência alimentar e eficiência alimentar dos animais pertencentes ao grupo C considerado controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
Consumo de etanol (mL/dia)	0,00±0,00	6,03±0,67	4,25±0,75	7,06±0,84	9,20±0,97 ^{bcd}
Consumo de sacarose (mL/dia)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	11,50±1,26	12,14±0,80
Palatabilidade (%)	13,82±0,96	12,42±0,60 ^a	11,52±0,46 ^a	12,63±0,53 ^a	13,44±0,80 ^c
Energia total ingerida (Kcal/dia)	67,40±3,17	109,45±5,28 ^a	94,20±6,22 ^{ab}	138,69±8,82 ^{ab}	148,44±10,05 ^{abc}
Preferência alimentar (%)	49,08±2,23	46,41±2,53	44,71±2,24 ^a	24,52±2,49 ^{ab}	24,81±2,73 ^{abc}
Eficiência alimentar (%)	15,99±1,85	16,66±1,87	16,04±2,02	57,93±3,01 ^{ab}	55,23±2,64 ^{abc}

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com $p < 0,05$; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com $p < 0,05$; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com $p < 0,05$; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com $p < 0,05$. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as semanas

Tabela 5. Consumo de resveratrol pelos animais pertencentes ao grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos	
	ER	ESR
1 semana	0,15±0,01 ^B	0,25±0,04 ^{aAC}
2 semana	0,09±0,02 ^A	0,17±0,02 ^{aBC}
3 semana	0,08±0,02 ^A	0,13±0,01 ^{aBC}
4 semana	0,13±0,03 ^{BC}	0,30±0,07 ^{aA}
5 semana	0,05±0,02 ^A	0,21±0,05 ^{aCD}
6 semana	0,06±0,02 ^A	0,10±0,04 ^B
7 semana	0,10±0,02 ^{AB}	0,24±0,05 ^{aACE}
8 semana	0,12±0,05 ^{AB}	0,18±0,06 ^{BC}
9 semana	0,08±0,03 ^{AC}	0,16±0,04 ^{aBDE}
10 semana	0,07±0,01 ^A	0,15±0,02 ^{aBD}
Média	0,10±0,03	0,17±0,03^a

^a: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com $p < 0,05$. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as semanas.

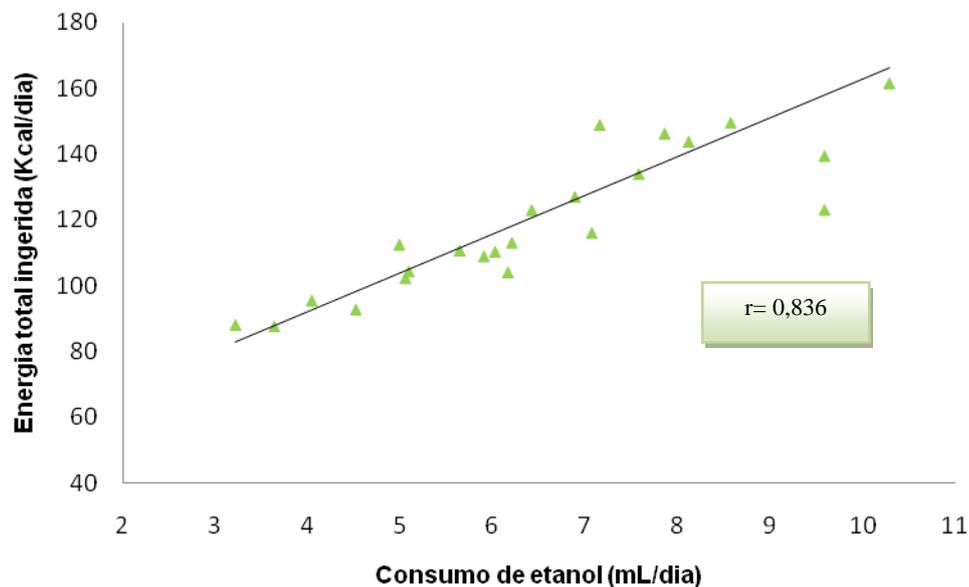


Figura 1. Correlação entre energia total ingerida (Kcal/dia) e consumo de etanol (mL/dia) dos animais pertencentes ao grupo E, que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais.

Valor de “r” foi obtido através da correlação de Pearson, diferenças consideradas significantes com $p < 0,05$.

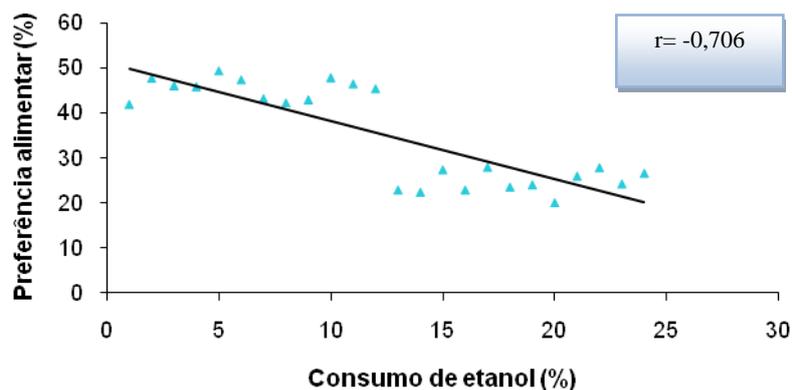


Figura 2. Correlação entre consumo de etanol (mL/dia) e preferência alimentar (%) dos animais pertencentes ao grupo E, que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais.

Valor de “r” foi obtido através da correlação de Pearson, diferenças consideradas significantes com $p < 0,05$.

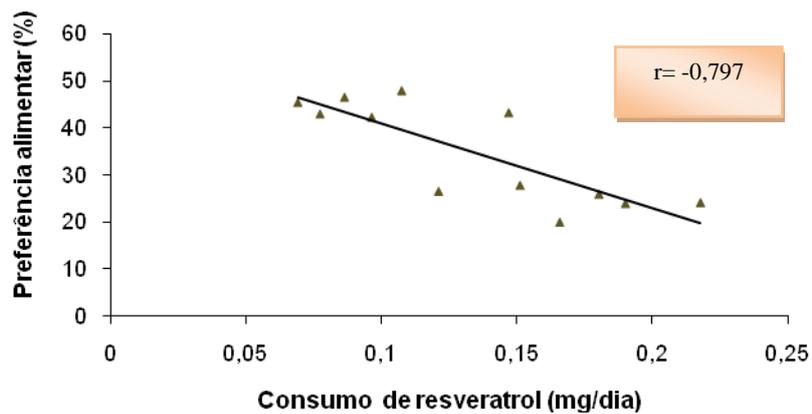


Figura 3. Correlação entre consumo de resveratrol (mg/dia) e preferência alimentar (%) dos animais do grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais.

Valor de “r” foi obtido através da correlação de Pearson, diferenças consideradas significantes com $p < 0,05$.

VI. DISCUSSÃO

O etanol é uma droga ativa largamente consumida, sendo o alcoolismo (síndrome de dependência alcoólica) considerado uma importante problemática na América Latina (NEGRETE, 1976; FERREIRA & WILLOUGHBY, 2008).

O consumo de álcool representa uma importante fonte de energia. Entretanto, a despeito do aumento do aporte de energia de 7 Kcal/g, proporcionada por esta substância, ainda é controverso se consumo moderado de álcool representa um fator de risco para aumento no ganho de peso corporal e obesidade (SUTER & TREMBLAY, 2005).

Atualmente, o elevado consumo de sacarose e sua associação com ingestão de etanol, particularmente durante os finais de semana, constituem hábitos alimentares na maioria das populações ocidentais. Entretanto, os efeitos da associação entre dietas inadequadas ricas em sacarose, com consumo de etanol sobre parâmetros morfométricos e nutricionais, ainda não estão claramente definidos. A suplementação com substâncias antioxidantes pode ser necessária para minimizar os efeitos adversos desta associação.

O etanol, considerado como substância de elevada densidade calórica, é responsável por mais de 5% da energia consumida em média pela população. Para os indivíduos que ingerem álcool regularmente, esta substância pode somar cerca de 10% da energia total ingerida (BLOCK et al., 1985). De fato, a suplementação com etanol aumentou a energia total ingerida pelos animais experimentais, embora o consumo de ração não tenha diferido do controle (Tabela 2, Figura 1). Houve redução no consumo de líquido devido à redução da palatabilidade, quando comparados ao controle (Tabelas 3 e 4).

Embora o conteúdo calórico fornecido pelo etanol (7 Kcal ou 29,70 KJ/g) represente o segundo maior macro-nutriente em energia (ATWATER & BENEDICT, 1902; CARPENTER, 1940; PRENTICE, 1995), este não foi capaz de alterar parâmetros morfométricos como peso final, ganho de peso, IMC. Nota-se que houve correlação positiva entre consumo de etanol e energia ingerida (Figura 1). Evidências sugerem que, apesar da energia total aumentar com o consumo do etanol em humanos, não ocorre conseqüente ganho de peso (WESTERTERP-PLANTENGA & VERWEGEN, 1999). Álcool altera o apetite e a saciedade, porém outras alterações metabólicas ocorrem, quando a energia ingerida é proveniente do etanol e não do consumo de ração (SEIVA et al., 2009).

Segundo SUTER (1994) e BUEMANN (2001), a termogênese induzida pela ingestão de álcool (15%) é elevada em relação a outros nutrientes, como carboidrato (8%), proteína

(25%) e lipídio (3%). Este evento tem sido associado ao fato do etanol ser oxidado pela via metabólica de oxidação microssomal do etanol (MEOS) e eliminado prioritariamente a outras fontes energéticas, sem produção de ATP, não sendo sua energia, portanto, estocada pelo organismo.

A administração de resveratrol em ratos submetidos ao consumo de etanol promoveu redução da preferência alimentar, fato que explica a redução no índice de Lee, quando comparado ao controle (Tabela 4). Segundo MIURA et al. (2003), o resveratrol não afeta o ganho de peso dos animais, entretanto em nosso trabalho observamos que sua associação com etanol induziu a redução do índice de Lee, podendo alterar o ganho de peso em longo prazo. A redução no índice de Lee pode ser atribuída a correlação negativa entre preferência alimentar e consumo de resveratrol, como observado na Figura 3.

Inúmeras controvérsias têm sido indicadas sobre os efeitos da ingestão de sacarose no peso corporal. Elevada ingestão de sacarose pode induzir ganho de peso em algumas espécies animais, ou reduzir o ganho de peso final em outras. Diferenças no efeito da sacarose sobre o peso corporal podem estar associadas à forma de administração (GOODSON et al., 2001).

A sacarose proporcionou redução do consumo de ração por reduzir a preferência alimentar (Tabelas 2 e 4). A ingestão de carboidratos (ANDERSON, 1994) afeta aspectos do funcionamento do cérebro, incluindo a regulação da ingestão de alimentos (ANDERSON, 1994). Carboidratos são fontes de energia em dieta (4 Kcal/g) (ASP, 1994; HILLERS & MASSEY, 1985) sendo, portanto, diretamente responsáveis pelo aumento da energia total ingerida, seguida pelo aumento da eficiência alimentar, nos animais suplementados com sacarose, em relação aos grupos que não receberam esta substância (Tabela 4).

É conhecido o fato de que a ingestão de energia é um fator importante na regulação do peso corporal (CHICCO et al., 1999). Dieta suplementada com frutose e sacarose induz alterações metabólicas em animais, semelhantes às observadas na obesidade (POULSOM, 1986; DINIZ et al., 2006). O consumo de sacarose por períodos longos pode ser o responsável pelo desenvolvimento de resistência a insulina (FRAYN & KINGMAN, 1995). A resistência a insulina constitui a ligação entre obesidade e outros fatores de risco de doenças cardiovasculares como hipertensão e diabetes (JONES et al., 1994). Segundo RANDLE et al. (1994) o aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados no sangue, decorrente da resistência a insulina, resulta em aumento na oxidação destes ácidos graxos e na inibição da captação de glicose pelas células. Observou-se que o grupo ES em

particular, não apresentou alteração significativa nos parâmetros morfométricos como peso final, ganho de peso e IMC (Tabela 1). O etanol é oxidado em detrimento aos demais nutrientes (RABEN et al., 2003). Entretanto em sua ausência, estes animais foram suplementados apenas com sacarose (4 dias semanais).

A associação da sacarose com resveratrol foi responsável pelo aumento no consumo líquido, bem como da palatabilidade e eficiência alimentar, uma vez que os grupos ES e ER não apresentaram o mesmo comportamento (Tabelas 3 e 4). O grupo ESR, ao contrário dos demais grupos experimentais, apresentou aumento da ingestão líquida e conseqüentemente elevação no consumo de etanol, sacarose e resveratrol em relação aos demais grupos, suplementados com etanol. Este aumento no consumo líquido foi responsável pela elevação no peso final, exceto em relação ao E. Observou-se também, que este grupo apresentou elevação no ganho de peso, em relação ao controle e ao grupo ER, embora esta alteração não tenha sido capaz de alterar os marcadores de obesidade, como IMC e índice de Lee (Tabela 1).

A suplementação com sacarose no grupo ESR proporcionou elevação no peso final em relação a ES (Tabela 1). O resveratrol pode ter impedido o desenvolvimento de resistência à insulina provocada pelo prolongado consumo de sacarose. O resveratrol pode estar associado à monofosfato de adenosina ativador de proteína quinase (AMPK), que aumenta a captação de glicose pelo músculo esquelético (PARK et al., 2007).

Segundo BAUR et al. (2006) o resveratrol promove mudanças na fisiologia de camundongos, que consomem excesso de calorias, em relação a camundongos submetidos a dieta padrão. Estas mudanças estão associadas com prolongamento de tempo de vida e incluem aumento da sensibilidade a insulina, redução na concentração de IGF-I (fator de crescimento I, ligado a insulina), aumento da AMPK ativada pela proteína quinase, além do aumento no número de mitocôndrias e melhora na função motora. Estas alterações ocorrem sem significativa redução no ganho de peso.

Um importante efeito do resveratrol nos animais do grupo ER, foi a redução no consumo de etanol, comparado ao grupo E, desde que redução no consumo de etanol significa, por si só, um efeito benéfico do resveratrol. Este efeito não foi, entretanto observado nos animais do grupo ESR, indicando que a presença de sacarose estimulou o consumo de etanol, a despeito da presença de resveratrol.

É conveniente lembrar que embora a concentração de resveratrol em ambos os grupos ER e ESR tenha sido inferior a dose máxima tolerada (CROWELL et al., 2004; BAUR &

SINCLAIR, 2006), o consumo de resveratrol foi significativamente elevado no grupo ESR em relação ao ER.

Em baixas concentrações, o influxo de resveratrol no tecido hepático envolve um processo ativo (JANNIN et al., 2004), e este mecanismo permite uma captação eficiente do resveratrol do sangue para o fígado (LANÇON et al., 2004). Além disso, a despeito dos eventos metabólicos (KUHNLE et al., 2000), após sua ingestão oral, o resveratrol atinge o nível máximo sanguíneo aproximadamente em 10 minutos, apresentando uma meia vida de 60 minutos (JUAN et al., 2002). Deste modo, quando administrado em solução aquosa como única fonte líquida é continuamente ingerido durante todo o dia, prolongando assim sua exposição plasmática e tecidual.

Vários polifenóis são considerados compostos tóxicos dependendo da concentração sanguínea (BANDELE et al., 2008) e embora as propriedades antioxidantes de compostos polifenólicos tenham sido amplamente reportadas, muitos estudos tem revelado que polifenóis podem apresentar um indesejável efeito pro-oxidante (FAINE et al., 2006).

Pode se concluir que o etanol induziu elevação na energia total ingerida, bem como redução no consumo líquido e palatabilidade, sem alterar o peso final e o ganho de peso dos animais experimentais. A ingestão de sacarose promoveu redução no consumo de ração e elevação na ingestão líquida, fatos associados à elevação na energia total ingerida por estes animais. A associação do etanol com sacarose não promoveu alterações nos parâmetros nutricionais em relação ao controle, embora tenha ocorrido elevação no consumo líquido e no peso final, em relação aos demais grupos suplementados com etanol. O tratamento com resveratrol apresentou efeito benéfico nos animais do grupo ER, desde que reduziu o consumo de etanol, comparado ao grupo E. Este efeito não foi, entretanto observado nos animais suplementados com sacarose, grupo ESR, indicando que a presença do carboidrato estimulou o consumo de etanol independente da presença de resveratrol.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted journal. *N Engl J Med.* 1997;336:309-315.

Achenson KJ. Carbohydrate and weight control: where do we stand? *Current Opinion in Clinical Nutr. and Metab. Care.* 2004; 7: 485-492.

Acquaviva R, Campisi AC, Sorrenti V, Giacomo C, Barcellona ML, Avitable M, Vanella A. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of resveratrol. *Food Chemistry and Toxicol.* 2002; 67 (1): 137-141.

Addolorato G, Capristo E, Greco AV, Stefanini GF, Gasbarrini G. Influence of chronic alcohol abuse on body weight and energy metabolism: is excess ethanol consumption a risk factor for obesity or malnutrition? *Journal of Int Med.* 1998; 244: 387-395.

Agarwal DP, Seitz HK. *Alcohol in health and disease*, 2001, New York: Marcel Dekker, p. 78.

Agarwal DP. Cardioprotective effects of light-moderate consumption of alcohol: a review of putative mechanisms. *Alcohol & Alcoholism.* 2002, 37 (5): 409-415.

Anderson GH. Regulation of food intake. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, eds. *Modern nutrition in health and disease.* Philadelphia: Lea & Febiger, 1994:524–536.

Arichi H, Kimura Y, Okuda H, Baba K, Kozawa M, Arichi S. Effects of stilbene of the roots of *Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc. On lipid metabolism. *Chem. Pharm.* 1982; 30: 1766-1770.

Asp N. Nutritional classification and analysis of food carbohydrates. *Am J Clin Nutr.* 1994; 59: 679S–81S.

Atwater WO, Benedict FG. An experimental inquiry regarding the nutritive value of alcohol. *Mem Natl Acad.* 1902; 8: 235-295.

Bandeled OJ, Clawson SJ, Osheroff N. Dietary polyphenols as topoisomerase II poisons: B ring and C ring substituents determine the mechanism of enzyme-mediated DNA cleavage enhancement. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21: 1-8.

Basly JP, Marre-Fournier F, Le Bail JC, Habrioux G, Chulia AJ. Estrogenic/antiestrogenic and scavenging properties of (E)- and (Z)-

Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang

-
- M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spence RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, Cabo R, Sinclair D. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. 2006; 444: 337-342.
- Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Review Drug Discovery*. 2006; 5: 493-506.
- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. 1991; 40: 405-512.
- Block G, Dresser CM, Hartman AM. Nutrient sources in the American diet: Quantitative data from the NHANES II survey. II. Macronutrients and fats. *Am J Epidemiol*. 1985; 122: 27-40.
- Brand-Miller JC, Holt SHA, Pawlak DB, McMillan J. Glycemic index and obesity. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76: 281S-285S.
- Buemann B. How does the body deal with energy from alcohol? *Nutrition*. 2001; 17: 638-641.
- Camargo CA, Vranizan KM, Dreon DM, Frey-hewitt B, Wood PD. Alcohol, calorie intake, and adiposity in overweight men. *J Am Coll Nutr*. 1987, 6: 271-278.
- Carpenter TM. The metabolism of alcohol: A review. *Q J Stud Alcohol*. 1940; 1: 201-226.
- Chicco A, Bernal C, Giangrosso BS, Lombardo Y. Dietary effects of partial or total substitution of sucrose for starch on glucose and lipid metabolism in dyslipidemic rats. *Nutr. Research*. 1999; 19: 281-293.
- Cornier MA, Gayles EC, Bessesen DH. The effects of chronic ethanol consumption on energy balance in rats. *Metabolism*. 2002, 51 (6): 787-791.
- Crowell JA, Korytko PJ, Morrissey RL, Booth TD, Levine BS. Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicol. Sci*. 2004; 82: 614-619.
- Curi PR. *Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas 1997*; Botucatu: Tipomic Editora, p. 263.
- Deeg R, Kraemer W, Ziegenhorn J. Kinetic determination of serum glucose by use of the hexokinase/glucose-6-phosphate dehydrogenase method. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1980; 18: 49-52.
- Dillard C G, German J B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J. of the Sci. of Food and Agr*. 2000; 80: 1744-1756.

-
- Diniz YS, Faine LA, Almeida JA, Silva MDP, Ribas BO, Novelli ELB. Toxicity of dietary restriction of fat enriched diets on cardiac tissue. *Food and Chem. Toxicol.* 2002; 40: 1893-1899.
- Diniz YS, Rocha KKH, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Novelli Filho JLVB, Cicogna AC, Novelli ELB. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 543: 151-157.
- Diniz YS, Santos PP, Assalin HB, Souza GA, Rocha KKHR, Ebaid GM, Seiva FRF, Amauchi JF, Novelli Filho JLVB, Novelli ELB. Conjugated linoleic acid and cardiac health: oxidative stress and energetic metabolism in standard and sucrose-rich diet. *Eu J Pharmacol.* 2008; 579: 318-325.
- Dong Z. Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. *Mutation Research.* 2003; 523-524: 145-150.
- Droge W. Free radicals on the physiological control of cell function. *Phys Rev.* 2002; 82: 47-95.
- Ebaid GMX, Faine LA, Diniz YS, Rodrigues HG, et al. Effects of digitonin on hyperglycaemia and dyslipidemia induced by high-sucrose intake. *Food Chem Toxicol.* 2006; 44:293-299.
- Elliot SS, Kein NL, Stern SS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 911-922.
- Faine LA, Diniz YS, Almeida J.A, Novelli, ELB, Ribas BO. Toxicity of ad libitum overfeeding: effects on cardiac tissue. *Food Chem. Toxicol.* 2002; 40: 663-668.
- Faine LA, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ebaid GMX, Diniz YS, Fernandes AAH, Novelli ELB. Butyl hydroxytoluene (BHT)-induced oxidative stress: effects on serum lipids and cardiac energy metabolism in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2006; 57: 221-226.
- Ferreira MP, Willoughby D. Alcohol consumption: the good, the bad and the indifferent. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008; 33: 12-20.
- Floreani M, Napoli E, Quintieri L, Palatini P. Oral administration of trans resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. *Life Sci.* 2003; 72: 2741-50.
- Foroozesh M, Primrose G, Guo Z, Bell LC, Alworth WL, Guengerich FP. *Chem. Res. Toxicol.* 1997; 10: 91-102.

-
- Foster-Powell K, Brand-Miller J. International tables of glycemic index. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62: 871S–893S.
- Frayn KN, Kingman SM. Dietary sugar and lipid metabolism in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995; 62: 250-263.
- Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci.* 1999; 66: 663-673.
- Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Tr. in Biol. Sci.* 1990; 15: 129-135.
- Habold C, Chevallier C, Dunel-Erb S, Jourdainne C, Maho YL, Lignot JH. Effects of fasting and refeeding on jejunal morphology and cellular activity in rats in relation to depletion of body stores. *Scand J. Gastroenterol.* 2004; 39: 531-539.
- Hart RW, Dixit R, Seng J, Turturro JE, Leakey JEA, Feurs R. Adaptative role of caloric intake on degenerative disease processes. *Toxicol Sci.* 1999; 52: 3-12.
- Hillers VN, Massey IK. Interrelationships of moderate and high alcohol consumption with diet and health status. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41: 356-362.
- Holt SH, Brand-Miller JC, Petocz P. An insulin index of common foods: the insulin demand generated by 1000-kJ portions of common foods. *Am J Clin Nutr.* 1997; 66: 1264–1276.
- Hou X, Xu S, Maitland-Toolan M, Sato K, Jiang B, Ido Y, Lan F, Walsh K, Wierzbicki M, Verbeuren TJ, Cohen RA, Zang M. SIRT 1 regulates hepatocyte lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase. *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, inc.* 2008, 1-20.
- Hung L, Chen J, Huang S, Lee R, Su M. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovascular Research.* 2000; 549-555.
- Iossa S, Mollica MP, Lionetti L, Crescenso R, Botta M, Barletta A, Liverini G. Acetyl carnitine supplementaion differently influences nutrient partitioning, serum lipid concentration and skeletal muscle mitochondrial respiration in young and old rats. *J Nutr* 2002; 132: 638-642.
- Iossa S, Mollica MP, Lionetti L, Crescenso R, Botta M, Barletta A, Liverini G. Effect of high-fat feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adult rats. *Brit J of Nutr.* 2003; 90: 953-960.
- Jannin B, Menzel M, Berlot J, Delmas D, Lançon A, Latruffe N. Transport of resveratrol, a cancer chemopreventive agent, to cellular targets: plasmatic protein binding and cell uptake. *Biochem Pharmacology.* 2004; 68: 1113-1118.

-
- Jones DW, Kim JS, Andrew ME, Kim SJ, Hong XP. Body mass index and blood pressure in Korean men and women: the Korean National blood pressure survey. *J Hypertens.* 1994; 12: 1433-1437.
- Juan ME, Buenafuente J, Casals I, Planas JM. Plasmatic levels of trans-resveratrol in rats. *Food Res. Int.* 2002; 35: 195-199.
- Kim JH, Hahm DH, Yang DC, Kim JH, Lee HJ, Shim I. Effect of crude saponin of Korean red ginseng on high – fat diet-induced obesity in the rat. *J. Pharmacol. Sci.* 2005; 97: 124-131.
- Kitson KE, Weiner H. Ethanol and acetaldehyde metabolism: past, present and future. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1996; 20:82A-92A.
- Koteish A, Diehl AM. Animal models of steatosis. *Semin. in Liver Dis.* 2001; 21(1): 89-104.
- Kuhnle G, Spencer JPE, Chowrimootoo G, Schroeter H, Debnam ES, Srai KS., Rice-Evans C, Hahn U.. Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 272: 212-217.
- Lançon A, Delmas D, Osman H, Thénot JP, Jannin B, Latruffe N. Human hepatic cell uptake of resveratrol: involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 316: 1132-1137.
- Lawton CL, Blundell JE. The effect of d-fenfluramine on intake of carbohydrate supplements is influenced by the hydration of the test diets. *Behavioural Pharmacology.* 1992; 3: 517-523.
- Leonard S S, Xia C, Jiang B, Stinefelt B, Klandorf H, Harris G K, Shi X. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem. and Bioph. Res. Communication.* 2003; 309: 1017-1026.
- Lieber CS. Interactions of alcohol and nutrition. *Alcohol Clin Exp Res.* 1983; 7 (2): 2-4.
- Lieber CS. Perspectives: do alcohol calories count? *Am J Clin Nutr.* 1991, 54: 976-982.
- Lieber CS. Medical and nutritional complication of alcoholism: Mechanisms and management. *Plenum Press.* 1992; 22-25.
- Lieber CS. Ethanol, metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta.* 1997; 257: 59-84.
- Lieber CS, Abitan CS. Pharmacology and metabolism of alcohol, including its metabolic effects and interactions with other drugs. *Clin in Dermatology.* 1999; 17 (4): 365-379.
- Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. *Alcohol Research & Health* 2003; 27: 220-231.

-
- Lopes IM, Marti A, Moreno Aliaga, MJ, Martinez A. Aspectos genéticos da obesidade. *Rev Nutr* 2004; 17: 327-338.
- Makinde AO, Gamble J, Lopaschuk GD. Upregulation of 5'-AMP-activated protein kinase is responsible for the increase in myocardial fatty acid oxidation rates following birth in the newborn rabbit. *Circ Res.* 1997; 80: 482-489.
- Manach C, Morand C, Demigné C, Texier O, Regéat F, Rémésy C. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *Fed. of Eur. Biochem. Soc.* 1997; 409: 12-16.
- Marrier J, Vachon P, Gritsas A, Zhang J, Moureau J, Ducharme M.. Metabolism and disposition of resveratrol in rats: Extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model. *The J. of Pharmacol.* 2002; 302: 369-373.
- Martinez J, Moreno J. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochemical Pharmacology.* 2000; 59: 865-870.
- McCarty MF. The alcohol paradox. *Am J Clin Nutr.* 1999, 69: 940-941.
- McGarry JD. Glucose – fatty acid interactions in health and disease. *The Am J of Clin Nutr.* 1998; 67: 500-504.
- Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci.* 2003; 73: 1393-1400.
- Naderali EK, Fatani S, Willians G. Chronic withdrawals of a high-palatable obesity-induced diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with-dietary obesity in rat. *Atherosclerosis.* 2003; 10: 1-7.
- Negrete JC. El alcohol y las drogas como problemas de salud en America Latina. *Bol of Sanit Panam.* 1976; 81: 158-75.
- Novelli ELB, Fernandes AAH, Diniz YS, Almeida JA, Faine LA, Ribas BO. The adverse effect of a high-energy dense diet on cardiac tissue. *J Nutr Environ. Med.* 2002; 12:287-294.
- Novelli ELB. *Nutrição e vida saudável. Estresse Oxidativo e metabolismo energético.* Tecmedd Editora, São Paulo, 2005.
- Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani, F, Fernandes AAH, Cicogna AC, Novelli Filho JLVB. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals.* 2007; 41: 111-119.
- Ou H, Chou F, Sheen H, Lin T, Yang C, Sheu WH. Resveratrol, a polyphenolic compound in red wine, protects against oxidized LDL-induced cytotoxicity in endothelial cells. *Clin. Chem. Acta.* 2006; 364: 196-204.

-
- Park CE, Kim M, Lee JH, Min B, Bae H, Choe W, Kim S, Ha J. Resveratrol stimulates glucose transport in C2C12 myotubes by activating AMP-activated protein kinase. *Exp Mol Med.* 2007; 39: 222-229.
- Poulsom R. Morphological changes of organs after sucrose or fructose feeding. *Prog Biochem Pharmacol.* 1986; 21: 104-134.
- Prentice AM. Alcohol and obesity. *Int J Obesity.* 1995; 19: 44-50.
- Raben A, Agerholm-Larsen L, Flint A, Holst JJ, Astrup A. Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77: 91-100.
- Randle PJ, Priestman DA, Mistry S, Halsall A. Mechanisms modifying glucose oxidation in diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1994; 37(2): 155-161.
- Salmeron J, Ascherio A, Rimm EB, et al. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care.* 1997; 20: 545-550.
- Sato M, Maulik G, Bagchi D and Das DK (2000): Myocardial protection by protykin, a novel extract of transresveratrol and emodin, *Free Radic. Res.* **32**, 135-144.
- Seiva FRF, Amauchi JF, Rocha KKHR, Souza GA, Ebaid GMX, Burneiko RM, Novelli ELB. Effects of N-acetylcysteine on alcohol abstinence and alcohol-induced adverse effects in rats. *Alcohol.* 2009; 43 (2): 127-135.
- Smith BK, Kelly LA, Pina R, York DA, Bray G. Preferential fat intake increases adiposity but not body weight in sprague-dawley rats. *Appetite.* 1998; 31: 127-139.
- Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clin. Biochem.* 1997; 30: 91-112.
- Sonko BJ, Prentice AM, Murgatroyd PR, Goldberg GR, Van De Ven M, Coward WA. The influence of alcohol on postmeal fat storage. *Am J Clin Nutr.* 1994, 59: 619-625.
- Souza GA, Ebaid GX, Seiva FRF, Rocha KHR, Galhardi CM, Mani F, Novelli ELB. N-acetylcysteine na Allium plant compound improves high-sucrose diet-induced obesity and related effects. *eCAM Advance Acess* 2008; 11: 1-7.
- Stojanović S, Sprinz H, Brede O. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Archives of Biochem. and Biophysic.* 2001; 391: 79-89.

-
- Stubbs J, Raben A, Westerterp-Plantenga MS. Substrate metabolism and appetite in humans. In: Westerterp-Plantenga MS, Steffens AB, Tremblay A eds. Regulation of food intake and energy expenditure. Milan: Edra. 1999, 59-83.
- Sun AY, Simonyi A and Sun GY (2002): The “French Paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radic. Biol. Med.* **32**, 314-318.
- Suter PM, Schutz Y, Jequier E. The effect of ethanol on fat storage in healthy subjects. *N Engl J Med.* 1992, 326: 983-987.
- Suter PM, Jequier E, Schtz Y. Effect of ethanol on energy expenditure. *Am J Physiol.* 1994; 266: 1204-1212.
- Suter, P.M.; Tremblay. Is alcohol consumption a risk factor for weight gain and obesity? *Critical reviews in clin.* 2005; 42: 197-227.
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal*, 2004, Porto Alegre, editora: Artmed, terceira edição, p.719.
- Tomera JF. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption. *Food Science & technology.* 1999; 10: 129-138.
- Yeomans MR, Caton S, Hetherington MM. Alcohol and food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003, 6 (6): 639-644.
- Yeomans MR. Effects of alcohol on food and energy in human subjects: evidence for passive and active over consumption of energy. *Br J Nutr.* 2004, 92 (1): 31-34.
- Warhlich V, Dos Anjos A. Aspectos históricos e metodológicos da medição e estimativa da taxa metabólica basal: uma revisão de literatura. *Cad Saúde Pública.* 2001; 17 (4): 801-817.
- Westerterp-Plantenga MS, Verwegen CRT. The appetizing effect of an aperitif in overweight and normal-weight humans. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69: 205-212.
- Zima TS, Kalousova M. Oxidative stress and signal transduction pathways in alcoholic liver disease. *Clin and Exp Research.* 2005; 29: 110-115.
- Zong H, Ren JM, Young LH, Pypaert M, Mu J, Birnbaum MJ, Shulman GI. AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 15983-15987.

Capítulo 2. Efeitos do resveratrol sobre metabolismo basal, lipidemia e estresse oxidativo sérico e hepático de animais suplementados com etanol e etanol com sacarose.

I. ABSTRACT

This study was undertaken to analyze the effects of resveratrol on lipid profile, oxidative stress in serum and hepatic tissue, calorimetric and metabolic parameters in rats received ethanol and ethanol with sucrose. 30 male Wistar rats were divided into 5 groups (n=6): Control group (C, n=6) received drinking water; the ethanol group (E, n=6) received ethanol aqueous solution during 3 days and drinking water for 4 days; ER group (n=6) received ethanol and resveratrol (6mg/L) aqueous solution during 3 days and drinking water for 4 days; ES group (n=6) received ethanol and sucrose (30%) solution in drinking water 3 days/week; and ESR group, received ethanol and sucrose solution as ES group and resveratrol (6mg/L) 3 days/week during 30 days. All animals received standard chow diet and solutions *ad libitum*. Statistics: ANOVA with $p < 0.05$. Ethanol increased calorimetric parameters, except respiratory quotient and volume of carbon dioxide. Ethanol consumption enhanced the lipidemic, alanine aminotransferase and reduced glucose concentration in serum and proteins in hepatic tissue. The ethanol with sucrose association changed basal metabolism through reducing lipid oxidation in relation to E group and lipidemic by reduction in triacylglycerol (TG) and VLDL concentration. ES also increased HDL/TG rate and hepatic metabolism through of citrate synthase elevation activity. Resveratrol treatment in rats that received ethanol reduced lipid oxidation, changing basal metabolism. Resveratrol in ER group improved lipidemic through increasing HDL, HDL/TG rate besides reducing TG and VLDL. Resveratrol acted as antioxidant catalase activity when increased in ER and ESR groups. ESR, resveratrol enhanced beta-hydroxyacyl Coenzyme A and citrate synthase in hepatic tissue. The resveratrol in ESR, reduced lipid hydroperoxide and increased basal metabolic rate. ESR also presented reduction on TG, VLDL, HDL and HDL/LDL rate. In conclusion, resveratrol normalized basal metabolism and acted beneficially in lipidemic besides being hepatoprotective in absence of sucrose. With sucrose, the resveratrol increased basal and hepatic metabolism and also acted as antioxidant.

II. RESUMO

Neste capítulo foram estudados os efeitos da administração de resveratrol sobre lipidemia, estresse oxidativo sérico e hepático, além do metabolismo basal de ratos suplementados com etanol e a associação de etanol com sacarose. Utilizou-se 30 ratos Wistar adultos divididos em 5 grupos. O grupo C, considerado controle recebendo água destilada; grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais; grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30% com etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose e etanol como no grupo ES e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais. Período experimental: 75 dias. Estatística: ANOVA, $p < 0,05$. Observou-se que o etanol promoveu elevação nos parâmetros calorimétricos, exceto quociente respiratório e volume de dióxido de carbono. O consumo de etanol aumentou a lipidemia e atividade da alanina aminotransferase, além de reduzir a concentração de glicose sérica e proteínas hepáticas. A associação de etanol e sacarose alterou o metabolismo basal ao reduzir a oxidação lipídica em relação ao grupo E, bem como lipidemia ao reduzir a concentração de triacilglicerol (TG), VLDL-colesterol e elevar a relação HDL-colesterol/TG. O grupo ES também elevou a atividade da citrato sintase elevando o metabolismo hepático. O tratamento com resveratrol nos ratos suplementados com etanol reduziu a oxidação lipídica alterando o metabolismo basal. Resveratrol, no grupo ER, melhorou a lipidemia ao elevar a concentração de HDL e a relação HDL/TG, além de reduzir a concentração de TG e VLDL-colesterol. Resveratrol também atuou como antioxidante ao elevar a atividade da catalase nos grupos aos quais foi administrado. A administração de resveratrol no grupo que recebeu sacarose e etanol elevou o metabolismo hepático através do aumento na atividade das enzimas beta-hidroxiacil Coenzima A e citrato sintase. O resveratrol no grupo ESR elevou a atividade da catalase e reduziu a concentração de hidróxido de lipídio no tecido hepático, além de alterar o metabolismo basal através do aumento na taxa metabólica basal. A administração de resveratrol ao grupo ESR alterou a lipidemia através da redução do TG, VLDL, HDL e relação HDL/LDL. Conclui-se que o resveratrol normalizou o metabolismo basal e atuou de forma benéfica sobre o perfil lipídico sérico e como hepatoprotetor em ausência de sacarose. Em presença de sacarose, o resveratrol elevou o metabolismo basal e hepático, além de agir também como antioxidante.

III. INTRODUÇÃO

3.1. Consumo de etanol e conseqüências a saúde

O efeito do consumo do etanol tem sido demonstrado em diversos fatores de síndrome metabólica como triacilglicerol sérico, lipoproteínas e pressão sanguínea (DJOUSSE et al., 2004), bem como sobre os fatores de risco para doenças cardiovasculares como estresse oxidativo (ZIMA et al., 2001), sensibilidade a insulina e diabetes mellitus (KOPPES et al., 2005) e câncer (McPHERSON, 2007).

O moderado consumo de álcool pode prevenir aterosclerose (ZIMA ET AL., 2001) ao elevar a concentração de HDL-colesterol e reduzir triacilglicerol (BELL et al., 2000). Entretanto, o consumo crônico e excessivo de álcool pode anular os efeitos benéficos cardiovasculares, aumentando os riscos de isquemias e infartos do miocárdio (NAVDER et al., 1999; PUDDEY & CROFT, 1999).

Segundo BARUONA & LIEBER (1979) a oxidação de etanol produz um notável desequilíbrio metabólico no tecido hepático. Sendo responsável pela produção de grandes somas de equivalentes redutores que promovem desordens metabólicas como hipoglicemia, hiperlactacidemia e interferência no metabolismo de aminas (LIEBER, 1992). O álcool também altera o metabolismo lipídico, causando profunda inibição da lipólise e reduzindo os níveis de ácidos graxos livres (JONES et al., 1965). A inibição da lipólise está associada com o aumento dos níveis de corpos cetônicos, provavelmente devido à conversão de acetato, derivado da oxidação do álcool a acetoácido e a β -hidroxibutirato (HIRSCH et al., 1998).

O consumo crônico de etanol resulta na depressão do metabolismo energético mitocondrial hepático. A alteração na atividade de diversos componentes no sistema de fosforilação oxidativa contribui com a redução na capacidade de síntese de ATP (CUNNINGHAM et al., 1996). Em adição a redução na função mitocondrial hepática pela exposição ao consumo crônico ou intenso de etanol aumenta a concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e reduz o sistema de defesa antioxidante das células (NAVASUMRIT et al., 2000; OZARAS et al., 2003).

EROs e peroxidação lipídica causam danos diretos aos hepatócitos por provocar rompimento de membranas, proteínas e DNA (De KNEGT, 2001; DAY, 2002). A inflamação crônica provocada pelas ERO pode promover fibrose hepática (SLIGTE et al., 2003) através de acúmulo progressivo de tecido conjuntivo no fígado (POLI, 2000).

Considerando-se que a concentração de etanol que não apresenta efeitos adversos a saúde ainda não foi estabelecida e o fato de seu papel sobre perfil lipídico e metabolismo ser controverso, este estudo analisou os efeitos do consumo de etanol em ratos suplementados com sacarose.

3.2. Suplementação com sacarose

Sacarose pode ser considerada um alimento relativamente novo no sentido de que só tem contribuído substancialmente para a dieta humana a partir do final do século XIX, quando o açúcar tornou-se gradualmente mais acessível à população (GLINSMAN et al., 1986).

Dietas ricas em carboidratos aumentam a síntese de ácidos graxos no tecido hepático (EBAID et al., 2005) especialmente em ratos (CHEN et al., 1995). Em estudo envolvendo a suplementação com dieta rica em sacarose, foi observada elevação na síntese hepática de triacilglicerol, resultando na hipertrigliceridemia e elevação na lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) no sangue, importantes fatores de risco para a aterosclerose (SORIA et al., 2001; NOVELLI, 2005).

No estudo com ratos alimentados com dietas suplementadas com sacarose durante duas a três semanas, foi observado o desenvolvimento de esteatose hepática e obesidade (KOTEISHI & DIEHL, 2001).

A obesidade ocorre quando o consumo calórico é desproporcional a energia gasta (RAVUSSIN & BOGARDUS, 1989) e constitui um importante componente da síndrome metabólica (FURUKAWA et al., 2004) também conhecido por “*síndrome metabólica hipertensiva*”, “*síndrome plurimetabólica*”, “*quarteto mortal*” ou “*síndrome de resistência à insulina*” (LOPES et al., 2003).

Estudos em ratos machos têm mostrado que o consumo de dieta rica em sacarose tem efeitos negativos no equilíbrio entre produção de radicais livres e defesas antioxidantes, levando ao aumento da susceptibilidade a peroxidação (BUSSEROLLES et al., 2002a; BUSSEROLLES et al., 2002b). Segundo NOVELLI (2005) o aumento na ingestão calórica é um importante fator de redução na fluidez mitocondrial e aumento de ERO, a qual induz o desenvolvimento de estresse oxidativo (NISHIYAMA et al., 1998).

Atualmente as tendências da transição nutricional convergem para uma dieta de elevada concentração de carboidratos, particularmente ricas em sacarose. Do mesmo modo, o estilo de vida nas sociedades modernas tem estimulado o elevado consumo de

etanol em pelo menos três dias semanais, principalmente aos finais de semana. Entretanto, associação de dieta rica em sacarose e consumo de etanol sobre repercussões sistêmicas ainda não foram estabelecidas.

3.3. Adição de polifenol a dieta

O organismo possui mecanismos de defesa endógenos contra a ação tóxica das ERO, divididos basicamente em dois grupos: as enzimas de atividade antioxidante e os antioxidantes não-enzimáticos. Os primeiros correspondem principalmente às enzimas catalase, superóxido dismutase e glutatona peroxidase. Os agentes antioxidantes não-enzimáticos compreendem as vitaminas C e E (α -tocoferol) e peptídeos ativos representados por glutatona reduzida (GSH) (FERRARI et al., 1998).

Entretanto, as defesas endógenas podem não ser suficientes para impedir a ação deletéria de uma liberação elevada de ERO. Nessas condições, compostos da dieta, que podem atuar como antioxidantes exercem efeitos benéficos, aumentando as defesas celulares contra o dano oxidativo (BENZIE et al., 2003). Portanto, há atualmente um grande interesse na descoberta de substâncias naturais capazes de prevenir ou até reverter danos causados pelo estresse oxidativo.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado consistentemente a associação positiva entre o consumo de frutas e vegetais, com alto conteúdo de polifenóis, com redução nas taxas de mortalidade por doenças cardiovasculares, câncer e outras patologias degenerativas (DILLARD & GERMAM, 2000).

Resveratrol é um polifenol com forte atividade antioxidante (MIURA et al., 2003), descoberto na casca da uva (TOMERA, 1999), sendo relativamente abundante em vinho tinto. Tem sido citado por sua capacidade em eliminar ERO e outros radicais livres, além de inibir a peroxidação lipídica de membranas celulares, bem como inibir danos ao DNA (ácido desoxirribonucléico) causados por radicais hidroxil (\cdot OH) (LEONARD et al., 2003). Associado a baixa mortalidade por doenças cardiovasculares, observada em indivíduos com elevada ingestão de lipídios tem sido hipotetizado como um provável responsável pelo “Paradoxo Francês” (TOMERA, 1999; GAMBELLI & SANTARONI, 2004).

Ao resveratrol têm sido atribuídos inúmeros efeitos biológicos como inibição da síntese de eicosanóides nos leucócitos de ratos, inibição da ativação e/ou agregação plaquetária, interferindo também com o metabolismo do ácido araquidônico (HUNG, 2000), por possuir ação anticâncer e antiinflamatória (MARTINEZ & MORENO, 2000).

O resveratrol também tem sido descrito por atuar na redução de síntese de lipídios no fígado de ratos, prevenindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (FRÉMONT, 1999; MENG et al., 2005) e por sua ação hipolipidêmica (LADEN & PORTER, 2001). Embora o papel do resveratrol no perfil lipídico sérico venha sendo alvo de discussão, uma vez que há pesquisadores que defendam que sua administração não é capaz de alterar o perfil lipídico sérico de animais (ZERN et al., 2003; WANG et al., 2005). Além disso, o papel do resveratrol sobre metabolismo basal e hepático ainda não foi definido.

O presente experimento objetivou, portanto, o estudo do resveratrol sobre perfil lipídico sérico, estresse oxidativo sérico e hepático, bem como metabolismo basal e hepático de ratos suplementados com etanol e com a mistura de etanol com sacarose.

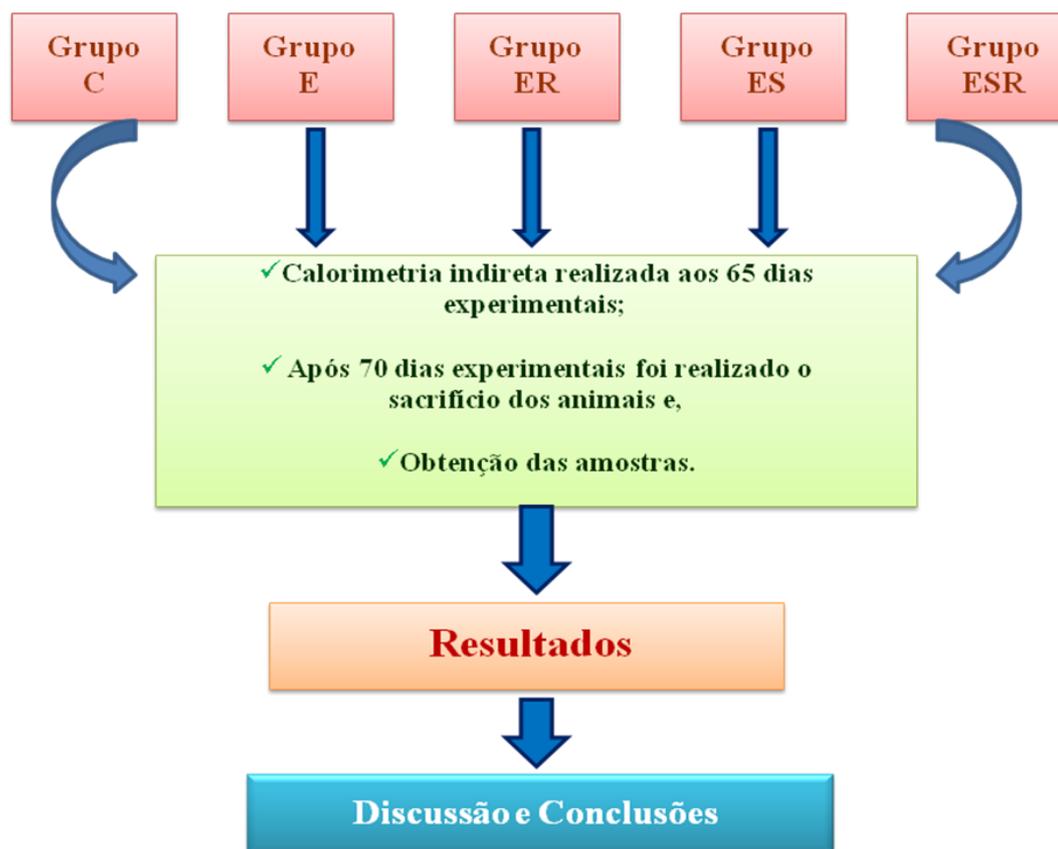
IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 30 ratos machos adultos *Wistar* de peso médio $334,9 \pm 6,5$ g. Os animais foram provenientes do Biotério Central da UNESP, "campus de Botucatu", e transferidos para o "Laboratório de Bioquímica na Experimentação Animal" do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu, onde permaneceram durante todo o período experimental, à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ com períodos claro/escuro de 12 horas. O protocolo experimental n^o 76/07 está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da UNESP/Botucatu.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais recebendo ração padrão, sendo divididos em 5 grupos ($n=6/\text{grupo}$), diferindo no componente líquido da dieta: grupo C, considerado controle recebendo água destilada; grupo E - (água destilada 4 dias + etanol 3 dias), que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais; grupo ER - (água destilada 4 dias + etanol com resveratrol 3 dias), que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES - (sacarose 4 dias + etanol 3 dias), que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR - (sacarose 4 dias + etanol com sacarose e resveratrol 3 dias), que

recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais (Esquema 1).



Esquema 1. Fluxograma do experimento

Durante a primeira semana experimental os animais dos grupos E, ER, ES e ESR receberam etanol a 15% para adaptação, passando a receber etanol a 30% nas demais semanas, até o final do experimento.

A dose de resveratrol foi estimada para corresponder a sua ingestão diária contida em 1 litro e meio de suco de uva por dia (DONG, 2003) para humanos de 70 Kg, corrigida de acordo com a ingestão diária por Kg de peso para os animais (HABOLD et al., 2004).

4.2. Determinação do metabolismo basal e utilização de substrato energético

Ao final de 65 dias de experimento, foram determinados o metabolismo basal, o consumo de O₂ (VO₂) e a produção de CO₂ (VCO₂). A utilização de lipídios e carboidratos como fonte de energia foi obtida através do quociente respiratório (VCO₂/VO₂) (STROHL et al., 1997).

As determinações foram realizadas com uso de câmara metabólica para sistema respiratório animal (CWE, Inc, St. Paul USA) com medidas obtidas em computador através de programa específico (software MMX, CWE, Inc., USA). Após a adaptação dos animais à câmara metabólica, foi determinado o metabolismo basal após jejum (12-14h) para que no momento da determinação o glicogênio muscular tenha sido depletado (COMMERFORD et al., 2000). Após a calibração do equipamento (temperatura e pressão) cada animal foi colocado na câmara metabólica permanecendo durante 10 minutos em repouso com fluxo de ar constante.

Foram registrados o consumo de O₂ (VO₂), a produção de CO₂ (VCO₂) dos animais sendo calculada a média de 3 medidas consecutivas, permitindo evidenciar as alterações no quociente respiratório nos diferentes grupos experimentais e a taxa metabólica basal (STROHL et al., 1997).



Figura 1. Equipamento onde foi realizado exame de calorimetria

Tendo como base os dados da calorimetria indireta (VO₂, VCO₂), energia total ingerida e peso corporal final, foram calculados:

➤ *Balanço energético diário (Kcal/dia)* = Energia ingerida (Kcal/dia) - TMB (Kcal/dia) (LABAYEN et al., 1999)

➤ *Consumo de oxigênio pela superfície corporal (mL/h/g^{0.7})* = $\frac{VO_2 \text{ (mL/h)}}{\text{superfície corporal (g}^{0.7}\text{)}}$

(BRAY, 1969);

$$\text{➤ Oxidação de carboidrato (mg/min)} = \frac{VO_2 \times (QR - 0,707)}{0,293} \times 0,746$$

(LABAYEN et al., 1999);

$$\text{➤ Oxidação de lipídio (mg/min)} = \frac{VO_2 \times (1 - QR)}{0,293} \times 0,746 \quad (\text{LABAYEN et al., 1999}).$$

Onde VO_2 é medido em L/min; 1,00 é o QR para a oxidação total de carboidrato; 0,707 é o QR para a oxidação total de lipídios; 0,293 é a diferença entre 1,000 e 0,707; e 0,746 é o número de litros de oxigênio consumido por grama de glicose oxidada.



Figura 2. Câmaras metabólicas

4.3. Obtenção de amostras

Ao término do período experimental (70 dias), após jejum de 12 horas os animais foram anestesiados (pentobarbital sódico 3%, 0,1mL, i.p.), e sacrificados por fratura cervical e decapitação. O sangue foi coletado em tubos de ensaio, com auxílio de funil e o fígado retirado e lavado em solução salina gelada (NaCl 0.9%). O soro foi separado por centrifugação a 4.000 rpm e utilizado para a determinação das concentrações de proteínas totais (LOWRY et al., 1951), perfil lipídico (Laborlab produtos para laboratórios, Guarulhos, SP, Brasil), glicose (Laborlab produtos para laboratórios, Guarulhos, SP, Brasil), hidroperóxido de lipídio (JIANG et al., 1991) e substâncias antioxidantes totais, além das atividades da enzima alanina amino transferase (ALT) (MOURA, 1982). O fígado foi

retirado e lavado em solução salina gelada (NaCl 0.9%). As amostras de tecido hepático em porções de 200mg foram pesadas e homogeneizadas em *Potter Elvehjem*, com pistilo de teflon, com 5 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0. Os homogeneizados foram centrifugados a 10000rpm durante 15 minutos, sendo os sobrenadantes utilizados para as determinações de proteínas totais, hidroperóxido de lipídio (HP) (JIANG et al., 1991), substâncias antioxidantes totais (SAT) (MEHMETÇIK et al., 1997), glutationala peroxidase (GSH-Px) (NAKAMURA et al., 1974), catalase (AEBI, 1974), superóxido dismutase (SOD) (EWING & JANERO, 1995). O metabolismo energético foi analisado através das atividades das enzimas β -hidroxiacil Coenzima A desidrogenase (OHADH) e citrato sintase (CS) (BASS et al., 1969). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro com controle de temperatura (UV/visível Ultrospec 5,000 com Swift II software, Cambridge, England, UK) e em leitor de microplaca (μ Quant-MQX 200 Bio-Tech Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) com controle através do software Kcjunior (Bio-Tech Instruments, Inc., Winooski, VT, USA). Todos os reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma.

4.5. Análise Estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão. Para comparação entre as médias foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para esquema fatorial 2x2 no modelo ao acaso, complementada com o teste de Bonferroni. Comparação entre atividade da enzima OHADH e concentração de triacilglicerol sérico foi analisada através da correlação linear de Pearson, com nível de significância foi estimado $p < 0,05$ (CURI, 1997; SMITH et al., 1998).

V. RESULTADOS

Observou-se na Tabela 1 que animais suplementados com etanol apresentaram elevação na taxa metabólica basal (TMB), volume de oxigênio (VO_2), VO_2 /superfície corporal (SC) e oxidação lipídica (Ox-L), além de redução do quociente respiratório (QR) em relação ao controle. A administração de resveratrol ao grupo suplementado com etanol reduziu a oxidação de lipídios e normalizou a TMB em relação ao grupo E, sem alteração do QR (Tabela 1).

Os animais dos grupos E, ER e ES apresentaram redução no volume de dióxido de carbono (VCO_2) em relação ao C (Tabela 1).

Animais suplementados com etanol e sacarose apresentaram redução na Ox-L quando comparados ao grupo E, sem alteração na TMB. A administração de resveratrol ao grupo ESR reduziu o VCO₂ e elevou a Ox-L em relação aos grupos C, ER e ES. O resveratrol também elevou a TMB comparado ao controle (Tabela 1).

Os parâmetros VO₂/peso corporal (PC) e oxidação de carboidratos (Ox-C) não apresentaram diferença significativa entre os grupos em estudo (Tabela 1).

A suplementação com etanol, no grupo E, promoveu aumento do triacilglicerol (TG) e VLDL-colesterol em relação ao C. Observou-se redução da glicemia nos animais submetidos ao consumo de etanol. As concentrações de proteínas séricas e LDL-colesterol não apresentaram diferença significativa entre os grupos em estudo. O tratamento com resveratrol em animais submetidos ao consumo de etanol reduziu as concentrações de TG e VLDL, elevando a concentração de colesterol total em relação ao grupo que recebeu apenas o etanol. O grupo ER também elevou a concentração de HDL-colesterol, bem como a relação HDL/TG em comparação aos grupos C e E (Tabela 2).

ES diminuiu a concentração de VLDL com relação aos grupos C e E, assim como a concentração de TG em comparação ao grupo E. ES elevou a concentração de HDL-colesterol e a relação HDL/TG, além de reduzir a concentração de VLDL, quando comparado aos grupos C e E. A administração de resveratrol ao grupo ESR reduziu TG, VLDL e a relação HDL/LDL quando comparados aos demais grupos experimentais. ESR apresentou ainda, redução na concentração de colesterol em relação a ES e redução na concentração de HDL em relação à ER e ES. Além disso, ESR aumentou a relação HDL/TG quando comparado a C e E (Tabela 2).

Observou-se que os animais submetidos à solução aquosa contendo etanol apresentaram elevação da ALT em comparação ao controle (Tabela 3).

Os parâmetros hidroperóxido de lipídio (HP), substâncias antioxidantes totais (SAT), bem como a relação SAT/HP não apresentaram diferença significativa entre os grupos em estudo (Tabela 3).

A Tabela 4 apresenta o estresse oxidativo hepático. Ratos suplementados com etanol reduziram a concentração de proteínas totais e elevaram a atividade da SOD. O tratamento com resveratrol em ratos suplementados com etanol normalizou a concentração de proteínas totais hepáticas em relação ao C, além de elevar a atividade da catalase quando comparado a C e E (Tabela 4).

A associação do etanol com sacarose reduziu a concentração de proteínas totais hepáticas e elevou a atividade da SOD em relação ao C. O tratamento com resveratrol, no

grupo ESR, reduziu a concentração de proteínas totais hepáticas em relação ao controle, bem como a concentração de HP quando comparado a C, E e ER. ESR elevou a atividade da catalase em relação aos demais grupos em estudo e reduziu a atividade da SOD em relação a ES, sem atuar sobre as concentrações de proteínas totais que permaneceram iguais ao grupo E (Tabela 4).

Na Tabela 5 pode ser observado o metabolismo energético dos grupos experimentais. O grupo suplementado com etanol apresentou redução na relação beta --hidroxiacil Coenzima A desidrogenase (OHADH)/ citrato sintase (CS) em relação ao controle. A administração de resveratrol no grupo ER não alterou a relação OHADH/CS que permaneceu igual ao grupo E.

Os grupos C, E e ER não apresentaram diferença significativa na atividade da OHADH e CS quando comparados ao controle (Tabela 5).

Observou-se que o grupo ES elevou a atividade da CS e reduziu a relação OHADH/CS comparado aos grupos C e E. O tratamento com resveratrol no grupo ESR elevou a atividade da OHADH e CS quando comparado aos grupos C, E e ER, bem como a relação OHADH/CS em comparação ao ES (Tabela 5).

A Figura 3 apresenta a correlação negativa entre a atividade da enzima OHADH no tecido hepático e a concentração de triacilglicerol sérica.

Tabela 1. Parâmetros calorimétricos taxa metabólica basal (TMB), volume de oxigênio (VO₂) (mL/h), volume de dióxido de carbono (VCO₂), VO₂/peso corporal (VO₂/PC), quociente respiratório (QR), VO₂/ superfície corporal (VO₂/SC), oxidação de carboidratos (OX-C) e oxidação de lipídios (OX-L) analisados nos animais do grupo controle (C), grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
TMB	1,02±0,18	1,39±0,25 ^a	1,22±0,15	1,19±0,13	1,45±0,26 ^a
VO ₂ (mL/h)	141,06±28,70	196,20±31,40 ^a	182,24±32,66	165,81±25,36	192,11±30,93
VCO ₂ (mL/h)	143,43±1,76	140,18±0,82 ^a	141,29±0,32 ^a	141,55±0,16 ^a	138,95±0,96 ^{acd}
VO ₂ /PC (mL/h/g)	0,31±0,07	0,45±0,09	0,41±0,05	0,39±0,05	0,44±0,09
QR	0,99±0,14	0,73±0,12 ^a	0,80±0,14	0,87±0,14	0,74±0,11
VO ₂ /SC (mL/h/g ^{0,7})	1,99±0,41	2,77±0,44 ^a	2,57±0,45	2,38±0,36	2,72±0,46
Ox-C (mg/min)	1,48±0,34	0,84±0,55	0,85±0,42	0,90±0,57	0,71±0,45
Ox-L (mg/min)	0,86±0,36	3,33±0,97 ^a	1,29±0,59 ^b	1,33±0,75 ^b	3,04±0,99 ^{acd}

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com p<0,05 ; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com p<0,05; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com p<0,05; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com p<0,05.

Tabela 2. Concentrações de proteína total, glicose, triacilglicerol (TG), colesterol total, lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de elevada densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e relações LDL/TG, HDL/TG e HDL/LDL no soro dos animais do grupo controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
Proteínas (g/dL)	7,25±0,65	7,24±0,78	7,58±0,60	6,29±0,47	6,75±0,54
Glicose (mg/dL)	180,82±19,34	132,42±13,07 ^a	121,11±10,43 ^a	132,45±13,85 ^a	130,29±14,28 ^a
Triacilglicerol (mg/dL)	109,37±7,05	123,84±4,44 ^a	111,89±6,65 ^b	101,45±8,50 ^b	78,86±4,98 ^{abcd}
Colesterol (mg/dL)	87,61±8,85	76,27±7,11	98,44±8,01 ^b	91,04±9,19	82,90±9,30 ^c
VLDL-c (mg/dL)	21,51±0,93	24,77±0,89 ^a	21,93±0,33 ^b	19,76±0,70 ^{ab}	15,25±0,85 ^{abcd}
LDL-c (mg/dL)	17,45±9,79	14,22±5,85	17,64±8,96	18,39±7,58	28,03±6,57
HDL-c (mg/dL)	42,12±5,04	40,93±4,94	57,17±5,34 ^{ab}	51,57±4,01 ^{ab}	42,71±3,43 ^{cd}
LDL/TG	0,18±0,07	0,11±0,05	0,18±0,07	0,20±0,07	0,33±0,05 ^{abcd}
HDL/TG	0,39±0,04	0,33±0,04	0,51±0,02 ^{ab}	0,51±0,06 ^{ab}	0,54±0,05 ^{ab}
HDL/LDL	2,96±0,63	3,42±0,46	2,84±0,63	3,08±0,35	1,58±0,30 ^{abcd}

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com p<0,05 ; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com p<0,05; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com p<0,05; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com p<0,05.

Tabela 3. Hidroperóxido de lipídio (HP), substâncias antioxidantes totais (SAT), relação SAT/HP e alanina amino-transferase (ALT) dos animais do grupo controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
HP (nmol/L)	9,58±0,83	8,93±0,69	9,35±0,84	9,37±0,66	10,00±0,57
SAT (%)	18,75±5,44	13,79±3,79	17,11±5,05	15,08±3,72	20,93±4,52
SAT/HP	1,97±0,43	1,54±0,41	1,80±0,38	1,60±0,34	2,08±0,34
ALT (U/L)	50,11±5,08	82,51±6,33 ^a	78,27±8,83 ^a	74,18±7,59 ^a	90,97±7,0 ^{acd}

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com $p < 0,05$; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com $p < 0,05$; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com $p < 0,05$; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com $p < 0,05$.

Tabela 4. Concentração de proteínas totais, hidroperóxido de lipídio (HP), enzimas envolvidas no estresse oxidativo como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GSH-Px), substâncias antioxidantes totais (SAT) presentes no tecido hepático dos animais do grupo controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
Proteínas totais (g/100 de tecido)	27,12±2,05	23,87±1,23 ^a	24,33±1,75	22,15±2,16 ^a	23,71±1,39 ^a
HP (nmol/g de tecido)	386,92±5,73	396,93±11,68	437,93±10,77	399,10±6,93	344,03±13,10 ^{abc}
CAT (nmol/g de proteína)	0,21±0,09	0,15±0,06	0,45±0,11 ^{ab}	0,30±0,08	0,69±0,09 ^{abcd}
SOD (nmol/g de proteína)	7,38±0,81	8,85±0,71 ^a	8,94±0,61 ^a	9,56±0,89 ^a	8,19±0,46 ^d
GSH-Px (nmol/g de proteína)	253,90±37,80	263,27±27,73	268,01±26,35	300,35±29,10	272,40±25,11
SAT (%)	12,16±1,23	11,64±1,10	11,67±1,22	11,66±0,85	13,87±1,86

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com p<0,05 ; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com p<0,05; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com p<0,05; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com p<0,05.

Tabela 5. Atividade das enzimas envolvidas no metabolismo energético hepático, β -hidroxiacil-Coenzima A desidrogenase (OHADH), citrato sintase (CS) e a relação entre OHADH/CS dos animais do grupo controle, grupo E que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais

	Grupos				
	C	E	ER	ES	ESR
OHADH (nmol/mg proteína)	119,57±12,50	118,88±9,12	118,52±11,80	130,39±10,86	149,86±11,53 ^{abc}
CS(nmol/mg proteína)	24,52±2,83	27,68±2,30	27,97±3,45	37,87±2,22 ^{ab}	33,31±3,38 ^{abc}
OHADH/CS	4,95±0,20	4,30±0,26	4,22±0,32	3,45±0,29	4,52±0,36 ^d

^a: Diferença significativa em relação ao grupo C, com $p < 0,05$; ^b: Diferença significativa em relação ao grupo E, com $p < 0,05$; ^c: Diferença significativa em relação ao grupo ER, com $p < 0,05$; ^d: Diferença significativa em relação ao grupo ES, com $p < 0,05$.

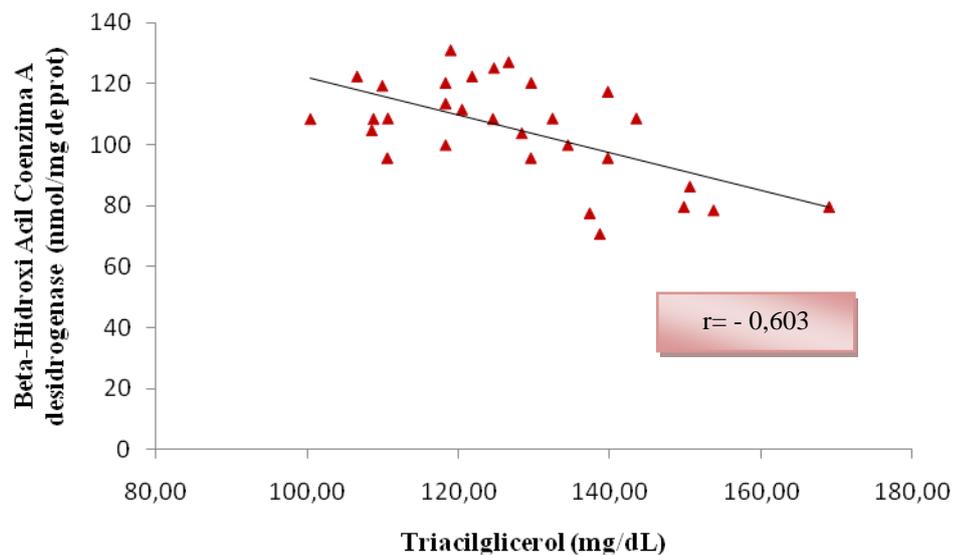


Figura 3. Correlação negativa entre a atividade da enzima betahidroxiacil Coenzima A desidrogenase (nmol/mg de proteína) e a concentração sérica de triacilglicerol (mg/dL) dos animais pertencentes ao grupo E, que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% durante 3 dias semanais, grupo ER que recebeu água destilada durante 4 dias semanais e etanol 30% contendo resveratrol (6mg/L) 3 dias semanais; grupo ES que recebeu solução aquosa de sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% durante 3 dias semanais e grupo ESR que recebeu sacarose 30% durante 4 dias semanais e a mistura sacarose 30%, etanol 30% e resveratrol (6mg/L) durante 3 dias semanais.

Valor de “r” foi obtido através da correlação de Pearson, diferenças consideradas significantes com $p < 0,05$.

VI. DISCUSSÃO

A oxidação do álcool ocorre praticamente toda no tecido hepático. A primeira fase da biotransformação do etanol compreende sua oxidação a acetaldeído. No hepatócito, esta transformação é realizada através de três caminhos distintos: via álcool desidrogenase (ADH, E.C.1.1.1.1.) no citosol ou na parte solúvel da célula, via sistema microsomal de oxidação do etanol (MEOS) localizada no retículo endoplasmático, ou via catalase (CAT, E.C.1.11.1.6.) localizada nos peroxissomas.

Durante a oxidação do etanol pela enzima álcool desidrogenase (ADH) ocorre modificação do sistema redox que é responsável por alterações metabólicas, decorrentes do consumo do etanol. Estas alterações envolvem o aumento da α -glicerofosfato hepático e o estímulo à síntese de ácidos graxos com concomitante diminuição da oxidação normal dos ácidos graxos, seguido pela inibição da gliconeogênese (LIEBER, 1999). Desta maneira, existe uma produção maior de triglicerídeos (LIEBER, 1973) e VLDL-colesterol, como apresentado pelos animais do grupo E, bem como redução da glicose sérica (Tabela 2).

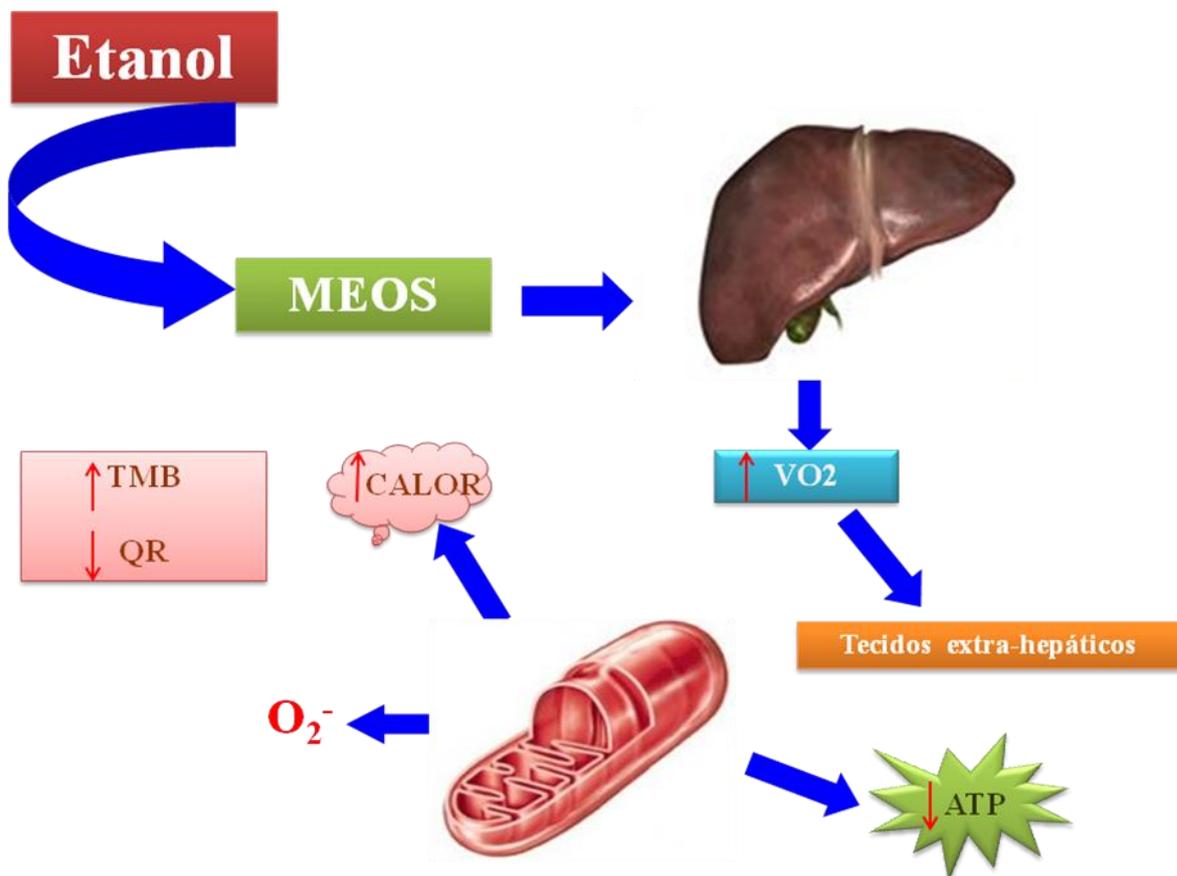
A maior produção de TG no tecido hepático dos animais do grupo E foi seguida também pela diminuição na oxidação de ácidos graxos nos ratos suplementados com etanol. A redução na oxidação de ácidos graxos no tecido hepático foi observada através da redução na relação beta-hidroxiacil coenzima A desidrogenase (OHADH)/ citrato sintase (CS) (Tabela 5), bem como na correlação negativa entre a atividade da enzima OHADH e concentração de triacilglicerol hepático (Figura 1). A OHADH é enzima marcadora da beta oxidação de ácidos graxos (BASS et al., 1969).

Pequenas doses de etanol são metabolizadas pela ADH, enquanto o aumento no consumo de etanol leva a metabolização deste pela MEOS (LIEBER, 1988).

A ingestão de álcool tem um efeito importante na forma e função da energia gerada no sistema mitocondrial. A indução do citocromo 2E1 (CYP 2E1) ou MEOS pelo etanol é bem conhecida, e tem sido considerada a responsável pela perda de energia associada ao consumo de etanol (LANDS, 1995).

Estudos mostram aumento da perda de energia em animais submetidos à ingestão de etanol (LEVINE et al., 2000; MATTES, 2006). Esta condição pode em parte, ser relacionada com o metabolismo do etanol pela MEOS, ocorrendo aumento do consumo de oxigênio hepático assim como nos demais tecidos, representado através do aumento do VO_2 , VO_2 /superfície corporal pelo grupo E (Tabela 1). Este evento tem sido associado ao fato do

etanol ser eliminado sem produção de ATP, não sendo sua energia, portanto, estocada no organismo (PIROLA & LIBER, 1975). GASBARRINI et al. (1998) apresentaram estudos com redução nos valores de ATP no fígado de ratos submetidos ao consumo de etanol, relacionando esta redução aos efeitos tóxicos de sua ingestão. Esta perda de energia ou termogênese induzida pela ingestão de álcool (15%) é elevada em relação a outros nutrientes como carboidrato (8%), proteína (25%) e lipídio (3%) (SUTTER, 1994; BUEMANN, 2001). A termogênese é refletida pelo aumento da taxa metabólica basal (TMB) e explica a manutenção do ganho de peso nos animais submetidos ao consumo de etanol (Tabela 1, capítulo 1) embora o etanol seja o segundo maior macronutriente em energia (ATWATER & BENEDICT, 1902; CARPENTER, 1940; PRENTICE, 1995) (Esquema 2).



Esquema 2. Oxidação do etanol pela via microsossomal de oxidação do etanol (MEOS), e as conseqüências metabólicas

O consumo de etanol promoveu a redução do QR seguido pelo aumento da oxidação lipídica em animais do grupo E (Tabela 1) no estado de jejum. Desde que nestas condições os lipídios do tecido adiposo são fonte energética para o organismo (ASTRUP et al., 1996). Segundo ADDOLORATO e colaboradores (1998), o álcool tem reduzido significativamente

os valores de QR indicando um aumento na oxidação lipídica em pacientes sob condições basais. O aumento da concentração de triacilglicerol e conseqüentemente de VLDL-colesterol representou substrato para a elevação na oxidação lipídica no grupo E durante o estado de jejum (Tabela 1).

Animais do grupo E apresentaram ainda redução no VCO_2 em relação ao controle (Tabela 1). A redução no VCO_2 está associada à inibição do ciclo do citrato promovida pelo consumo de etanol (LIEBER et al., 1967), embora a suplementação com etanol não tenha apresentado alteração significativa na atividade da CS, reduziu a relação OHADH/CS (Tabela 5). A CS constitui a principal enzima envolvida no controle de fluxo de metabólitos do ciclo do ácido tricarboxílico (BASS et al., 1969).

Cada um dos três processos de oxidação de etanol resulta na produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), os quais são capazes de promover danos as células hepáticas ao desencadear estresse oxidativo e peroxidação lipídica no tecido (FROMENTY & PESSAYRE, 1995; KUROSE et al., 1996, SEIS, 1993; FRIDOVICH, 1989, LIEBER, 2003). Durante o estresse oxidativo, as EROs tais como radical superóxido (O_2^*), radical hidroxila (HO_2^-), hidroxil (OH^*), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlet (1O_2) podem produzir danos teciduais (SOHAL & WEINDURCH, 1996).

A suplementação com etanol aumenta a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (HUSAIN et al., 2001), como observado na Tabela 4. A SOD catalisa a reação do ânion superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular e tem a função de proteger as membranas celulares dos efeitos deletérios da peroxidação lipídica (FRIDOVICH, 1975). O aumento na atividade da SOD durante a ingestão crônica de etanol poderia refletir uma resposta protetora a produção de ânions superóxido (VALENZUELA et al., 1980) pela oxidação do etanol via ADH e MEOS (LIBER, 2003). A elevação da SOD também pode estar relacionada com o processo adaptativo do tecido hepático a condições adversas que resulta em aumento das defesas antioxidantes (ROUACH et al., 1996), o que explicaria a manutenção na atividade das enzimas CAT e GSH-Px no grupo suplementado com etanol (Tabela 4). Outra hipótese relaciona o aumento de sua atividade à condição denominada “hormesis”, que caracteriza a modulação de antioxidantes através de repetidos episódios de condições potencialmente adversas (JI et al., 2002).

Estudos demonstram que a administração de etanol pode aumentar a peroxidação lipídica hepática em certas condições experimentais (ALBANO, 1982; REINKE, 1987). Entretanto, os animais submetidos à suplementação com etanol não apresentaram diferença significativa na concentração de HP e SAT sérica ou hepática (Tabelas 3 e 5), bem como na

relação HP/SAT entre os grupos em estudo (Tabela 3). Este fato foi associado com tempo de administração do etanol (3 dias semanais), que pode não ter sido suficiente para promover peroxidação lipídica ou ainda, a concentração de SAT que foi capaz de impedir a peroxidação lipídica nestes animais.

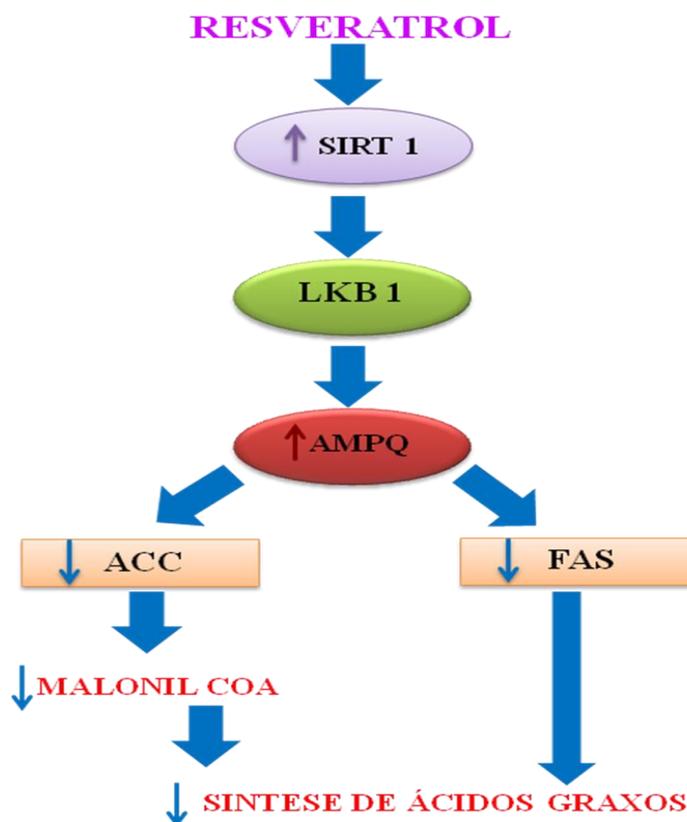
Fato importante a ser considerado foi a manutenção da GSH-Px (Tabela 4) indicando que a concentração de etanol administrada não foi capaz de promover intoxicação crônica nestes animais, uma vez que intoxicação crônica pelo etanol favorece o consumo de GSH e sua oxidação para GSSG pela GSH-Px (ALTAMORE, 1988). Houve, entretanto, aumento da ALT sérica refletindo a toxicidade do etanol (Tabela 3). Alterações nas concentrações de ALT séricas são específicas do fígado e têm sido usadas como importante forma de diagnóstico de alterações hepáticas, incluindo o alcoolismo (NOVELLI et al., 1996; NOVELLI et al., 1997; SEIVA et al., 2009).

O consumo de álcool tem profundos efeitos sobre o metabolismo de proteínas (PREEDY et al., 1999). Experimentos realizados em humanos e em animais têm mostrado que a ingestão de álcool proporciona um equilíbrio negativo de nitrogênio a despeito de uma adequada ingestão protéica (RODRIGO et al., 1971). Este fato pode ser associado à inibição da absorção de proteínas pelo intestino (PETERMANN et al., 1993) e conseqüente aumento da excreção de nitrogênio na urina em animais submetidos ao consumo de etanol (MEZEY, 1975), reduzindo assim a produção de proteínas totais no tecido hepático (Tabela 4), embora a concentração no soro não tenha sofrido alteração (Tabela 2).

O resveratrol foi o responsável pela redução na concentração de triacilglicerol e de VLDL-colesterol em animais suplementados com etanol (Tabela 2). O resveratrol foi capaz de reduzir a concentração de lipoproteínas de baixa e de muito baixa densidade (FRANKEL et al., 1993) através da modulação do metabolismo de lipoproteínas (MENG et al., 2005), condições que ajudam na prevenção de doenças cardiovasculares. Esta redução na concentração de VLDL pode ser associada ao fato do polifenol resveratrol ativar o gene SIRT 1 que induz benefícios à saúde (BAUR et al., 2006; LAGOUGE et al., 2006).

SIRT 1 dependente de monofosfato de adenosina quinase (AMPQ). A AMPQ é conhecida moduladora do estado energético celular, ativada pelo aumento da relação entre AMP/ATP, ou pela elevação na atividade de quinases como LKB1 (quinase supressora tumoral) e Ca^{2+} /proteína quinase – β -quinase dependente de calmodulina (CaMKK β). Estimulo da AMPQ inibe a expressão de ácido graxo sintetase e a síntese de lipídios induzida pela elevada ingestão de carboidratos (HOU et al., 2008). Nestas condições ocorre

diminuição na atividade da acetil coenzima-A carboxilase, reduzindo a formação de malonil coenzima A, precursor da síntese de ácidos graxos e modulador da carnitina acil transferase. Deste modo, ocorre diminuição na síntese de ácidos graxos e elevação na sua oxidação (Esquema 3), neste caso, redução da síntese, uma vez que não houve alteração na atividade da enzima OHADH (Tabela 5).



Esquema 3. Ativação da oxidação lipídica por compostos fenólicos. LKB1 quinase supressora tumoral; AMPQ, proteína quinase dependente de AMP; ACC, acetil coenzima A carboxilase; FAS, síntese de ácidos graxos (HOU et al., 2008).

A redução na concentração de triacilglicerol plasmático associado ao fato do resveratrol reduzir a atividade da MEOS ao inibir a CYP 2E1 promoveu a redução na oxidação lipídica e normalizou os parâmetros TMB, VO₂, VO₂/superfície corporal e QR quando comparado aos resultados apresentados pelo controle (Tabela 1).

A enzima CYP 2E1 envolvida no metabolismo do etanol, constitui uma das diferentes enzimas do citocromo P450 (LIEBER, 2003). O citocromo P450 é uma superfamília de hemoproteínas que catalisa a biotransformação de drogas, bem como a

bioativação de muitos pró-cancerígenos e toxinas (GUENGERICH et al., 1998). O citocromo P450 constitui o principal componente da MEOS (LIBER, 2003).

O resveratrol em ratos submetidos ao consumo de etanol promoveu elevação na concentração de HDL-colesterol e, portanto, aumento também na concentração de colesterol total (Tabela 2). A elevação da concentração de HDL tem sido considerada um fator de proteção contra aterosclerose (BARTER et al., 1996). LIN et al. (2002) reportaram que a apolipoproteína da HDL pode reduzir o influxo de colesterol para macrófagos, impedindo assim a formação de células espumosas.

A administração de resveratrol aos ratos do grupo ER não foi capaz de alterar o parâmetro VCO₂ (Tabela 1), ou a relação OHADH/CS (Tabela 5) que permaneceram iguais aos resultados apresentados pelo grupo E.

Resveratrol possui ação antiinflamatória (MARTINEZ & MORENO, 2000; DONNELLY et al., 2004) atuando através da inibição das enzimas ciclooxigenases 1 (COX-1) e 2 (COX-2) (KOROLKIEWICZ et al., 2003) e desta forma, protegendo o intestino da interferência do etanol e melhorando a absorção de proteínas normalizando a sua concentração no tecido hepático como ocorreu no grupo ER (Tabela 4).

Embora o resveratrol seja descrito por suas propriedades antioxidantes (FRANKEL & KINSELLA, 1993; FRÉMONT, BELGUENDEZ & DELPAL, 1999), não foi capaz de reverter o dano hepático representado pelo aumento na ALT sérica (Tabela 3). Segundo JUAN et al. (2002) e BAUR et al. (2006), a concentração de ALT, indicativo da integridade hepática, não apresentou diferença significativa entre ratos tratados com resveratrol e o controle.

Durante períodos de aumento na ingestão de sacarose, o fígado pode converter glicose em ácidos graxos, dos quais triacilgliceróis são produzidos e transportados nos vasos sanguíneos (NOVELLI et al., 2008). A ingestão de sacarose tem sido reportada como a causa da elevação nas concentrações de triacilglicerol e insulina (NESTEL et al., 1970; NAISMITH et al., 1974) em humanos e animais experimentais (REISER et al., 1975; LAUBE et al., 1973), assim como o metabolismo de grandes quantidades de frutose leva ao aumento na síntese de triacilglicerol e sua liberação no sangue na forma de VLDL-colesterol (VRÁNA et al., 1983). Além disso, o aumento na concentração de carboidratos na dieta, in vivo, inicia a transcrição e também eleva as concentrações de ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) de enzimas lipogênicas (IRITANI et al., 1992).

A ingestão de sacarose assim como o etanol, promove aumento na produção hepática de triacilglicerol e VLDL rica em triacilglicerol (TOL et al., 1998). Entretanto, foi observado que animais suplementados com sacarose e etanol apresentaram redução na concentração de triacilglicerol, bem como de VLDL séricos em relação ao C e E (Tabela 2). A associação de etanol com sacarose pode ter promovido um desequilíbrio entre a síntese de TG e a liberação de VLDL, uma vez que o etanol prejudica a ativação e utilização de nutrientes (LIEBER et al., 2000). Estes animais podem ter apresentado prejuízo na produção de VLDL devido à dificuldade em produzir apolipoproteínas no tecido hepático, reduzindo assim a concentração de VLDL e conseqüentemente do triacilglicerol no soro destes animais (Tabela 2), acumulando lipídios no fígado.

O desequilíbrio entre a síntese e a secreção de triacilglicerol pode levar ao acúmulo no fígado (IVANOV et al., 1992). O acúmulo de triacilglicerol pode induzir esteatose hepática, que é definida como acúmulo de lipídios no tecido hepático (DELZENE et al., 1997).

Ao reduzir a concentração de VLDL e conseqüentemente a oferta de triacilglicerol sérica, o grupo ES reduziu também a oxidação lipídica durante o jejum, elevando a concentração de HDL-colesterol no soro destes ratos (Tabela 2).

O consumo de sacarose pelo grupo ES elevou o aporte de energia como observado na Capítulo 1, Tabela 4, entretanto estes animais não apresentaram redução da TMB e VO_2 (Tabela 1) como esperado para ratos submetidos ao consumo de sacarose (NOVELLI et al., 2008). Indivíduos obesos apresentaram redução de 3 a 5% na TMB (ASTRUP et al., 1999), e um importante fator determinante da TMB é a gordura corporal que pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de obesidade (JOHNSTONE et al., 2005).

A associação do etanol com sacarose impediu a elevação na oxidação de carboidratos e QR quando comparado ao controle e ao grupo E (Tabela 1). Como discutido anteriormente, este fato está relacionado com o etanol ter a preferência na oxidação em detrimento aos demais compostos da dieta. Esta associação foi responsável também por promover redução da oxidação lipídica nos ratos do grupo ES em relação a E, além de normalizar os parâmetros calorimétricos, exceto VCO_2 que permaneceu alterado como em todos os outros grupos submetidos ao consumo de etanol.

Diversos estudos têm demonstrado que o aumento no consumo de calorias exerce efeitos deletérios na saúde ao induzir danos oxidativos (NOVELLI et al., 2002; DINIZ et al., 2004). Embora a ingestão de sacarose em ratos seja acompanhada por significativo aumento na excreção urinária TBARS (substâncias que reagem com ácido tiobarbitúrico)

sugerindo aumento na peroxidação lipídica *in vivo* (BUSSEROLLES et al., 2001), os animais do grupo ES não apresentaram diferença significativa na concentração de HP, SAT séricos ou hepático (Tabelas 3 e 4). Assim como no grupo suplementado com etanol, a concentração de SAT pode ter sido efetiva em impedir os danos oxidativos provocados pela associação de etanol com sacarose.

A suplementação com etanol e sacarose promoveu elevação na atividade da CS, fato que foi refletido na redução da relação OHADH/CS (Tabela 5). A elevação na atividade da CS indica que mesmo com aumento na energia ingerida não houve alteração na integridade da membrana mitocondrial hepática suficiente para modificar o metabolismo aeróbico durante o período experimental (BASS et al., 1969).

Devido ao aumento do consumo líquido e aporte de energia ofertada ao grupo ESR (Tabela 4, capítulo 1), o resveratrol pode estar promovendo a biogênese mitocondrial no tecido hepático mediada pela ativação do gene SIRT 1 (BAUR et al., 2006). O provável aumento no número de mitocôndrias pode ser associado ao aumento da TMB e redução do QR em relação ao controle e elevação da oxidação lipídica em relação aos grupos C, ER e ES (Tabela 1).

A elevação na oxidação lipídica promovida pelo resveratrol no grupo suplementado com sacarose foi seguida pelo aumento na atividade da OHADH e conseqüentemente a redução nas concentrações de triacilglicerol e VLDL (Tabelas 2, 5).

A redução do triacilglicerol no grupo ESR foi observada também através da elevação na relação LDL/TG (Tabela 2). O resveratrol pode atuar reduzindo a síntese hepática de triacilglicerol (ARICHI et al., 1982). O tamanho da LDL é inversamente associado à concentração de triacilglicerol. Indivíduos com baixas concentrações de triacilgliceróis apresentam LDL grandes, enquanto aqueles que apresentam elevadas concentrações de triacilgliceróis séricos têm LDL pequenas e compactas (BLOOMGARDEN, 2002), reduzindo o risco de doenças cardiovasculares.

A redução na concentração de HDL no grupo ESR refletiu-se na redução das relações HDL/TG e HDL/LDL em comparação aos demais grupos, bem como na redução do colesterol total em relação ao grupo ES (Tabela 2). Segundo LADEN & PORTER (2001) o resveratrol interage especificamente com a esqualeno monooxigenase reduzindo a biossíntese de colesterol endógeno.

O resveratrol assim como no grupo ER não foi capaz de normalizar VCO₂ (Tabela 2), embora tenha elevado a atividade da CS em relação aos grupos que não receberam sacarose (Tabela 5).

A ativação do gene SIRT 1 pelo resveratrol mimetiza parcialmente uma restrição calórica e desta forma contribui com a saúde (BAUR et al., 2006; LAGOUGE et al., 2006) ao impedir o ganho de peso e obesidade destes animais como demonstrado na Tabela 1 do capítulo 1. A restrição calórica é considerada a via mais eficiente em estender a saúde e longevidade (BARGER et al., 2003).

Segundo ROCHA e colaboradores (2009), o resveratrol aumentou o estresse oxidativo hepático em ratos que consumiram dieta padrão. Observou-se que embora tenha ocorrido aumento na ALT (Tabela 3), o tratamento com resveratrol no grupo ESR reduziu a concentração de HP hepática (Tabela 4), atuando como agente antioxidante (LEONARD et al., 2003; SÁNCHEZ-MORENO et al., 1999; CAI et al., 2003). A redução no HP hepático pode ser associado com a capacidade do resveratrol em atuar como protetor de radicais superóxido e hidroxila sendo capaz de proteger a membrana celular da peroxidação lipídica (LEONARD et al., 2003). Este fato explica a menor necessidade de indução a aumento da atividade da SOD que esteve reduzida em relação ao grupo suplementado com etanol e sacarose (Tabela 4). Além disso, o resveratrol elevou a CAT sem alteração na atividade das demais enzimas antioxidantes (FLOREANI et al., 2003) e independente da suplementação com sacarose (Tabela 4).

Segundo LI e colaboradores (2006) o resveratrol eleva a concentração de RNA mensageiro para catalase em células musculares lisas da aorta e o mesmo mecanismo pode estar sendo utilizado no tecido hepático. O aumento da CAT pode constituir um mecanismo pelo qual o resveratrol eleva as reservas antioxidantes no fígado, mesmo sem promover alteração na concentração de SAT (Tabelas 3 e 4).

Concluiu-se que a administração de resveratrol em ratos suplementados com etanol normalizou o metabolismo basal ao reduzir TMB e a oxidação lipídica. Atuou de forma benéfica sobre o perfil lipídico sérico ao reduzir concentrações de TG e elevar HDL-colesterol, além de normalizar as concentrações de proteínas totais hepáticas. O tratamento com resveratrol em animais suplementados com etanol e sacarose elevou o metabolismo basal através do aumento na TMB e oxidação lipídica que foi seguida pela redução do TG e VLDL-colesterol devido ao aumento no metabolismo energético hepático destes animais.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted journal. *N Engl J Med.* 1997;336:309-315.

Addolorato G, Capristo E, Greco AV, Stefanini GF, Gasbarrini G. Influence of chronic alcohol abuse on body weight and energy metabolism: is excess ethanol consumption a risk factor for obesity or malnutrition? *Joual of Int Med.* 1998; 244: 387-395.

Aebi H. *Methods of enzymatic analysis.* 2^a ed. (New York): Bergmeyer H. V. Editor Verloy Chemia Weinheim 1974; v. 1, 2, 3 e 4.

Albano E, Lott KA, K Slater TF, Stier AS, Symons MCR, Tomasi A. Spin trapping studies on the free-radical products formed by metabolic activation of carbon tetrachloride in rat liver microsomal fractions isolated hepatocytes and in vivo in the rat. *Biochem J* 1982; 204: 593-603..

Altamare E, Vendemiale G, Alano O. Hepatic glutathione content in patients with alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Life Sci* 1988; 43: 991-998.

Arichi H, Kimura Y, Okuda H, Baba K, Kozawa M, Arichi S. Effects of stilbene of the roots of *Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc. on lipid metabolism. *Chem. Pharm.* 1982; 30: 1766-1770.

Atwater WO, Benedict FG. Na experimental inquiry regarding the nutritive value of alcohol. *Mem Natl Acad.* 1902; 8: 235-295.

Astrup A, Buemann B, Toubro , Raben A. Defects in substrate oxidation involved in the predisposition to obesity. *Proceedings of the Nutrition Society* 1996; 55: 817-828.

Astrup A, Gotzche PC, Van de Werken K. Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1117-1122.

Barger JL, Walford RL, Weihahuch R. The retardation of aging by caloric restrictions: its significance in the transgenic era. *Exp. Gerontol.* 2003; 38: 1343-1351.

Barter PJ, Rye KA. High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis.* 1996; 121(1): 1-12.

Baraona E, Lieber CS. Effects of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J Clin Invest.* 1970; 49: 769-778.

Bass A, Brdiczka D, Eyer P, Hofer S, Pette, D. Metabolic differentiation of distinct muscle at the level of enzymatic organization. *Eur. J. Biochem.* 1969; 10: 198-206.

-
- Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistel PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, Cabo R, Sinclair DA. Resveratrol improves health and survival of mice on high – calorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-342.
- Belguendouz L, Frémont L, Gozzelino M. Interaction of transresveratrol with plasma lipoproteins. *Biochem. Pharmacol.*1998; 55: 811-816.
- Bell RA, Mayer-David MA, D`Agostino R, Haffner SM. Associations between alcohol consumption and insulin sensitivity and cardiovascular disease risk factors: the insulin resistance and atherosclerosis study. *Diabetes Care.* 2000; 23: 1630-1636.
- Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp. Biochem. Physiol.* 2003; 136: 113-26.
- Bray GA. Oxygen consumption of genetically obese rats. *Experientia.* 1969;23:1100-1101.
- Bloomgarden ZT. Obesity, hypertension, and insulin resistance. *Diabetes Care* 2002; 25: 2088-2097.
- Buemann B, Astrup A. How does the body deal with energy from alcohol? *Nutrition* 2001; 17: 638-641.
- Busseroles J, Zimowska W, Rock E, Rayssiguier Y, Mazur A. Rats fed sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression. *Life Sciences* 2002; 71: 1303-1312.
- Busseroles J, Rock Edmond, Gueux E, Mazur A, Grolier P, Rayssiguier Y. Short-term consumption of a high sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats. *British J of Nutr.* 2002; 87: 337-342.
- Cai Y, Fang J, Ma L, Yang L, Liu Z. Inhibition of free radical-induced peroxidation of rat liver microsomes by resveratrol and its analogues. *Biochimica et Biophysica Acta* 2003; 1637: 31-38.
- Carpenter TM. The metabolism of alcohol: A review. *Q J Stud Alcohol.* 1940; 1: 201-226.
- Chen YD, Coulston AM, Zhou MY, Hollenbeck CB, Reaven GM. Why do low –fat high-carbohydrate diets accentuate postprandrial lipemia in patients with NIDDM? *Diabetes Care.* 1995; 18: 10-16.
- Commerford SR, Pagliassotti MJ, Melby CL, Wei Y, Gayles EC, Hill JO. Fat oxidation, lipolysis, and free fatty acid cycling in obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279: 875-885.

-
- Cunningham CC, Coleman Wb, Spach PI. The effects of chronic ethanol consumption on hepatic mitochondrial energy metabolism. *Alcohol and Alcoholism*. 1996; 25 (3): 127-136.
- Curi PR. *Metodologia e análises da pesquisa em ciências biológicas* 1997; Botucatu: Tipomic Editora, p. 263.
- Day CP. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best practice and research. Clin Gastroenterol*. 2002; 16 (5): 663-678.
- Delzenne NM, Hernaux NA, Taper HS. A new model of acute liver steatosis in rats by fasting followed by refeeding a high carbohydrate-fat free diet. *Biochemical and morphological analysis. J. of hepatology*. 1997; 26: 880-885.
- Diniz YS, Cicogna AC, Santana LS, Faine LA, Novelli ELB. Diets rich in saturated and polyunsaturated fatty acids: Metabolic shifting and cardiac health. *Nutrition*. 2004; 20: 230.
- De Knecht RJ. Non-alcoholic steatohepatitis: clinical significance and pathogenesis. *Scand J Gastroenterol*. 2001; 234: 88-92.
- Dillard C G, German J B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J. of the Sci. of Food and Agr*. 2000; 80: 1744-1756.
- Djousse L, Arnett DK, Eckfeldt JH, Province MA, Singer MR, Ellison RC. Alcohol consumption and metabolic syndrome; does the type of beverage matter? *Obes Res*. 2004; 12: 1375-1385.
- Donnelly LE, Newton R, Kennedy GE, Fenwick PS, Leung RH, Ito K, Russell RE, Barnes PJ. Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms. *American J of Physiol Lung Cellular and Molec Physiol* 2004; 287: 774-783.
- Dong Z. Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. *Mutation Research*. 2003; 523-524: 145-150.
- Ebaid GMX, Faine LA, Diniz YS, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ribas BO, Fernandes AAH, Novelli ELB. Effects of digitonin on hyperglycaemia and dyslipidemia induced by high-sucrose intake. *Food and Chem. Toxicol*. 2005; 30: 1-7.
- Ewing JF, Janero DR. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generation. *Analytical Chemistry*. 1995; 232: 243-248.
- Falck-Ytter Y, McCullough AJ. Nutrition effects of alcoholism. *Current Gastroenterology Reports* 2000; 2: 331-336.

-
- Ferrari C, Ceconi C, Curello S. Intracellular effects of myocardial ischaemic and reperfusion: role of calcium and oxygen. *Eur Heart J* 1998; 7: 3-12.
- Ferreira MP, Willoughby D. Alcohol consumption: the good, the bad and the indifferent. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008; 33: 12-20.
- Floreani M, Napoli E, Quintieri L, Palatini P. Oral administration of trans resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. *Life Sci*. 2003; 72: 2741-50.
- Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet*. 1993; 341: 1103-1104.
- Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci*. 1999; 66: 663-673.
- Fridovich L. Superoxide dismutases. *An Rev Biochem* 1975; 44: 147-159.
- Fridovich I. Superoxide dismutases an adaptation to paramagnetic gas. *J Biol Chem* 1989; 264: 7761-7764.
- Fromenty B, Passayre D. Inhibition of mitochondrial beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacology and Therapeutics* 1995; 67 (1): 101-154.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura L. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The J of Clin Invest*. 2004; 114 (12): 1752-1761.
- Gambelli L, Santaroni GP. Polyphenols content in some Italian red wines of different geographical origins. *J of Food Composition and Analysis*. 2004; 17 (5): 613-618.
- Gasbarrini A, Addolorato G, Simoncini M, Gasbarrini G, Fantozzi P, Mancini F, Montanari L, Nardini M, Ghiselli A, Scaccini C. Beer affects oxidative stress due ethanol in rats. *Digestive Diseases and Sci* 1998; 43(6): 1332-1338.
- Glinsman WH, Irausquin H, Park YK. Evaluation of health aspects of sugars contained in carbohydrate sweeteners. *J Nutr*. 1986; 116: S1-S216.
- Guengerich FP, Shimada T. Activation of procarcinogens by human cytochromes P450 enzymes. *Mutat Res* 1998; 400: 201-213.
- Habold C, Chevallier C, Dunel-Erb S, Jourdainne C, Maho YL, Lignot JH. Effects of fasting and refeeding on jejunal morphology and cellular activity in rats in relation to depletion of body stores. *Scand J. Gastroenterol*. 2004; 39: 531-539.
- Hirsch S, De La Maza P, Petermann M, Bunout D. Lipid turnover in alcoholics before and after an ethanol load. *Nutrition*. 1998; 14: 437.

-
- Hou X, Xu S, Maitland-Toolan M, Sato K, Jiang B, Ido Y, Lan F, Walsh K, Wierzbicki M, Verbeuren TJ, Cohen RA, Zang M. SIRT 1 regulates hepatocyte lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase. *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, inc.* 2008, 1-20.
- Hung L, Chen J, Huang S, Lee R, Su M. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardio. Research.* 2000; 47: 549-555.
- Husain K, Scott BR, Somani SM. Chronic ethanol and nicotine interaction on rats tissue antioxidant defense system. *Alcohol* 2001; 25(2): 89-97.
- Iritani NN, Katsurada N, Fukuda A. Regulation of hepatic lipogenic enzyme gene expression by diet quantity in rats fed a fat-free, high carbohydrate diet. *J Nutr* 1992; 122: 28-36.
- Ivanov MA, Heuillet E, Vitezou P, Meleion C, Cordier A. Primary culture of hepatocytes in the investigation of drug-induced SteatoSiS. *In vitro methods in toxicology.* London: Academic Press 1992: 165-187.
- Ji LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann. NY Acad. Sci.* 2002; 959: 82-92.
- Jiang ZY, Woollard AC, Wolf S. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe^{+2} in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and on iodometric method. *Lipids.* 1991; 26: 853-856.
- Johnstone AM, Murison SD, Duncan JS, Rance KA, Speakman JR. Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 941-948.
- Jones DP, Perman ES, Lieber CS. Free fatty acid turnover and triglyceride metabolism after ethanol ingestion in man. *J Lab Clin Med.* 1965; 66: p.804.
- Juan ME, Buenafuente J, Casals I, Planas JM. Plasmatic levels of trans-resveratrol in rats. *Food Res. Int.* 2002; 35: 195-199.
- Kato S, Kawase T, Alderman J, Inatomi N, Lieber CS. Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipoperoxidation in rats. *Gastroenterology.* 1990; 98: 203-210.
- Koppes LL, Dekeker JM, Hendriks HF, Bouter LM, Heine RJ. Moderate alcohol consumption lowers the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective observational studies. *Diabetes Care.* 2005; 28: 719-725.

-
- Korolkiewicz RP, Ujda M, Dabkowski J, Ruczynsk J, Rekowski P, Petruszewicz J. Differential salutary effects of nonselective and selective COX-2inhibitors in postoperative ileus in rats. *J Surg Res* 2003; 109: 161-169.
- Koteish A, Diehl AM. Animal models of steatosis. *Semin. in Liver Dis.* 2001; 21(1): 89-104.
- Kurose I, Higuchi H, Kato S, Miura S, Ishii H. Ethanol- induced oxidative stress in liver. *Alcoholism Clin and Experimental Research* 1996; 20 (1): 77-85.
- Labayen I, Forga L, Martínez JA. Nutrient oxidation and metabolic rate as affected by meals containing different proportions of carbohydrate and fat, in healthy young women. *Eur J Nutr* 1999; 38: 158-66.
- Laden BP, Porter TD. Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase. *Nutrition Research* 2001; 21: 747-753.
- Lands WEM. Alcohol and energy intake. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1101-1106.
- Laube H, Klor HU, Fussganger R, Pfeiffer EF. The effect of starch, sucrose, glucose, and fructose on lipid metabolism in rats. *Nutr Metabol* 1973; 15: 273.
- Lazárová M, Stejskal D, Lacnák B, Václavík J, Ochmanová R, Hanák V, Skácelová M. The antioxidant acetylcysteine reduces oxidative by decreasing level of AOPPS. *Biomed. Papers.* 2004; 148: 131-133.
- Leonard S S, Xia C, Jiang B, Stinefelt B, Klandorf H, Harris G K, Shi X. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem. and Bioph. Res. Communication.* 2003; 309: 1017-1026.
- Levine J A, Harris MM, Morgan MV. Energy expenditure in chronic alcohol abuse. *Eu J Clin Invest* 2000; 30: 779-786.
- Li Y, Cao Z, Zhu H. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Pharmacol. Res* 2006; 53: 6-15.
- Lieber CS, Lefevre A, Spritz N, Feinman L, De Carli LM. Difference in hepatic metabolism of long and medium chain fatty acids: the role of fatty acids chain length in the production of the alcoholic fatty liver. *J Clin Invest* 1967; 46 (9): 1451-1460.
- Lieber C S. Effects of ethanol upon lipid metabolism. *Lipids* 1973; 9 (3): 103-116.

-
- Lieber C S. Biochemical and molecular basis of alcohol induced injury to liver and other tissues. *N Engl J Med* 1988; 319: 1639-1650.
- Lieber CS. Medical and nutritional complication of alcoholism: Mechanisms and management. Plenum Press. 1992; 22-25.
- Lieber CS, Abittan CS. Pharmacology and metabolism of alcohol, including its metabolic effects and interactions with other drugs. *Clin in Dermatology* 1999; 17: 365-379.
- Lieber CS. Alcohol and the liver: metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases. *The Mount Sinai J Med* 2000; 67:84- 94.
- Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. *Alcohol Research & Health* 2003; 27: 220-231.
- Lin K, Chen Y, Shih C, Pan J, Chan W, Chiang A. Contribution of HDL-apolipoproteins to the inhibition of low density lipoprotein oxidation and lipid accumulation in macrophages. *J. Of Cell. Biochem.* 2002; 86 (2): 258-267.
- Logouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, Messadeq N, Milne J, Lambert P, Elliott P. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT 1 and PGC-1 α . *Cell* 2006; 127: 1109-1122.
- Lowry OH, Rosebrough NL, Farr AL. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193: 265-275.
- Martinez J, Moreno J. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochemical Pharmacology.* 2000; 59: 865-870.
- Mattes R. Fluid calories and energy balance: The good, the bad, and the uncertain. *Physiol Behavior* 2006; 89: 66-70.
- McPherson K. Moderate alcohol consumption and cancer. *Ann Epidemiol.* 2007; 17- S46-S48.
- Mehmetcik G, Toker G, Uysal M. Endogenous and copper-induced lipid hydroperoxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. *Horm Metab Res.* 1997; 29:63-65.
- Meng Y, Ma Q, Kou X, Xu J. Effect of resveratrol on activation of nuclear factor kappa-B and inflammatory factors in rat model of acute pancreatitis. *World J. Gastroeterol.* 2005; 11 (4): 525-528.
- Mezey E. Intestinal function in chronic alcoholism. *Ann NY Acad Sci* 1975; 252: 215-227.

-
- Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci.* 2003; 73: 1393-1400.
- Moura RA. *Técnicas de laboratório* 1982, São Paulo: Atheneu Editora, 822p.
- Naismith DJ, Stock AL, Yudkin J. Effect of changes in the proportions of the dietary carbohydrates and in energy intake on the plasma lipid concentrations in healthy young men. *Nutr Metabol* 1974; 16: 295.
- Nakamura W, Hojoda S, Hayashi K. Purification and properties of rat liver glutathione peroxidase. *Biochem. Biophys. Acta.* 1974; 358: 251-261.
- Navasumrit P, Ward TH, Dodd NJF, O'Conner PJ. Ethanol-induced free radicals and hepatic DNA strand breaks are prevented in vivo by antioxidants: effects of acute and chronic ethanol exposure. *Carcinogenesis.* 2000; 21: 93-99.
- Navder KP, Baruona E, Leo MA, Lieber CS. Oxidation of LDL in baboons is increased by alcohol and attenuated by polyenylphosphatidilcholine. *J Lipid Res.* 1999; 40: 983-987.
- Negrete JC. El alcohol y las drogas como problemas de salud en America Latina. *Bol of Sanit Panam.* 1976; 81: 158-75.
- Nestel PJ, Carrol KF, Havenstein N. Plasma triglyceride response to carbohydrates, fats, and calorie intake. *Metabolism* 1970; 19: 1.
- Nishiyama Y, Ikeda H, Haramaki N, Yoshida N, Imaizumi T. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *Am. Heart J.* 1998; 135: 115-120.
- Novelli ELB, Rodrigues NL, Ribas B, Novelli Filho JLVB. Toxicity of chronic ethanol ingestion and superoxide radical formation on seminal vesicles of rats. *Food Chem Toxicol* 1996; 34: 1003-1007.
- Novelli ELB, Rodrigues NL, Santos CX, Martinez FE, Novelli Filho JLVB. Toxic effects of alcohol intake on prostate of rats. **Prostate**, v.31,p.37-41, 1997.
- Novelli E L B, Fernandes A A H, Campos K E, Diniz Y S, Almeida J A, Faine L A, Ribas B O. The adverse effect of a high energy dense diet on cardiac tissue. *J. of Nutr. & Envir. Med.* 2002; 12 (4): 287-294.
- Novelli ELB. *Nutrição e vida saudável. Estresse Oxidativo e metabolismo energético.* Tecmedd Editora, São Paulo, 2005.
- Novelli ELB, Santos PP, Assalin HB, Souza G, Rocha K, Ebaid EX, Seiva FRF, Mani F, Fernandes AH. N-acetylcysteine in high sucrose diet-induced obesity: energy

-
- expenditure and metabolic shifting for cardiac health. *Pharmacology Research* 2008; 1-18.
- Ozaras R, Tahan V, Aydin S, Uzum H, Kaya S, Senturk H. N-acetylcysteine attenuates alcohol- induced oxidative stress in the rat. *World J Gastroenterol.* 2003; 9 (1): 125-128.
- Petermann M, Gonzalez C, Hirsh S, Maza MP, Bonout D. Leucine and glucose turnover in chronic alcoholics during early abstinence and after an ethanol load. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 1925.
- Pirola, Lieber CS. Energy wastage in alcoholism and drug abuse: Possible role of hepatic microsomal enzymes. *Am J Clin Nutr.* 1976;
- Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol. Aspects of Med.* 2000; 21: 49-98.
- Preedy VR, Reilly ME, Patel VB, Richardson PJ, Peters TJ. Protein metabolism in alcoholism: effects on specific tissues and the whole body. *Nutrition* 1999; 15: 604-608.
- Prentice AM. Alcohol and obesity. *Int J Obesity.* 1995; 19: 44-50.
- Puddey IB, Croft KD. Alcohol, stroke and coronary heart disease. *Neuroepidemiology.* 1999; 18: 292-302.
- Ravussin E, Bogardus C. Relationship of genetic age, and physical fitness to daily energy expenditure. *Am J Clin Nutr.* 1989; 49 (%): 968-975.
- Reinke LA, Lai EK, DuBose CM, McCay PB. Reactive free radical generation in vitro in heart and liver ethanol-fed rats: correlation with radical formation in vitro. *Proceed Nation Acad Sci* 1987; 84: 9223-9227.
- Reiser , Michaelis O, Putney J, Hallfrish J. Effect of sucrose feeding on the intestinal transport of sugar in two strains of rats. *J Nutr* 1975; 105: 894.
- Rocha KKHR, Souza GA, Ebaid GMX, Seiva FRF, cataneo AC, Novelli ELB. Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol.* 2009; 47:1362-1367.
- Rodrigo C, Antezana C, Baruona E. Fat and nitrogen balances with alcohol induced fatty liver. *J Nutr* 1971; 101: 1307.
- Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, Nordmann R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997; 25 (2): 351-355.

-
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grapes juices and related polyphenolic constituents. *Food Research Inter* 1999; 32: 407-412.
- Seis H. Strategies of antioxidant defenses. *Eur J Biochem* 1993; 215: 213-219.
- Seiva FRF, Amauchi JF, Rocha KKHR, Souza GA, Ebaid GMX, Burneiko RM, Novelli ELB. Effects of N-acetylcysteine on alcohol abstinence and alcohol-induced adverse effects in rats. *Alcohol*. 2009; 43 (2): 127-135.
- Sligte K, Bourass I, Driessen A, Stockbrugger RW, Koek GH. Non-alcoholic steatohepatitis: review of a growing medical problem. *European J. of Internal Medicine*. 2004; 15: 10-21.
- Smith BK, Kelly LA, Pina R, York DA, Bray G. Preferential fat intake increases adiposity but not body weight in sprague-dawley rats. *Appetite*. 1998; 31: 127-139.
- Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Sci*. 1996; 273: 59-63.
- Song G, Cederbaum AI. Ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP4502E1): biochemistry, molecular biology and clinical relevance. *Alcohol Clin Exp Res*. 1996; 20: 138A-146A.
- Soria A, D' Alessandro ME, Lombardo YB. Duration of feeding on a sucrose-rich diet determines metabolic and morphological changes in rat adipocytes. *J. Appl. Physiol*. 2001; 91: 2109-2116.
- Strohl KP, Thomas AJ, Jean P. Ventilation and metabolism among rats strains. *J Appl Physiol* 1997; 62: 317-323.
- Suter PM, Jéquier E, Schutz Y. Effect of ethanol on energy expenditure. *Am J Physiol* 1994; 266:1204-1212.
- Tol A, Gaag MS, Scheek LM, Gent T, Hendriks HFJ. Changes in postprandial lipoproteins of low and high density caused by moderate alcohol consumption with dinner. *Atherosclerosis* 1998; 141: 101-103.
- Tomera JF. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption. *Food Science & technology*. 1999; 10: 129-138.
- Valenzuela A, Fernandez N, Fernandez B, Ugarte G, Videla LA. Effect of acute ethanol ingestion on lipid peroxidation and the activity of the enzymes related to peroxide metabolism in rat liver. *FEBS Letters* 1980; 111: 11.

-
- Vrána A, Fábry P. Metabolic effects of high sucrose or fructose intake. *World Rev Nutr Diet* 1983; 42: 56-101.
- Wang Z, Zou J, Cao K, Hsieh T, Huang Y, Wu J. Dealcoholized red wine containing known amounts of resveratrol suppresses atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits without affecting plasma lipid levels. *Int. J. of Molecular Med.* 2005;16: 533-540.
- Zern TL, West KL, Fernandes ML. Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs. *J. Nutr.* 2003; 133: 2268-2272.
- Zima T, Fialová L, Mestek O, Janebová M, Crkovská J, Malbohan I, Stípek S, Mikulíková L, Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. *J Biomed Sci.* 2001; 8: 59-70.

Considerações finais

Etanol

- Induziu elevação na energia total ingerida, bem como redução no consumo líquido e palatabilidade, sem alterar o peso final e o ganho de peso dos animais experimentais;
- Elevou a taxa metabólica basal volume de oxigênio, volume de oxigênio/ superfície corporal, oxidação lipídica e reduziu volume de dióxido de carbono, bem como quociente respiratório;
- Elevou a concentração de triacilglicerol e VLDL-colesterol, bem como a atividade da enzima superóxido dismutase
- Reduziu a concentração de proteínas hepáticas, sem alterar o metabolismo energético hepáticos dos animais suplementados com esta substância.

Etanol com resveratrol

- O resveratrol normalizou o volume de dióxido de carbono, oxidação lipídica, concentração de triacilglicerol e VLDL-colesterol, além da concentração de proteínas hepáticas;
- Elevou a concentração de HDL-colesterol e atividade da catalase;
- A administração de resveratrol não atuou sobre o metabolismo energético hepático neste grupo.

Etanol associado a sacarose

- Reduziu o consumo de ração e elevou a ingestão líquida, bem como peso final dos animais experimentais;
- Reduziu a oxidação lipídica, triacilglicerol e VLDL-colesterol em relação aos animais suplementados apenas com etanol;
- Elevou a atividade da citrato sintase alterando o metabolismo energético hepático.

Etanol com sacarose e resveratrol

- O resveratrol no grupo suplementado com etanol e sacarose promoveu elevação na TMB e oxidação lipídica, exceto com relação ao grupo E;
- Reduziu a concentração de triacilglicerol e VLDL-colesterol, além de reduzir também o volume de dióxido de carbono;
- Elevou a atividade das enzimas OHADH e CS, bem como redução do HP quando comparado aos grupos sem suplementação com sacarose.