

ADRIANA ZAPPAROLI ALVES CRUZ

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

***EFEITO DA INGESTÃO DE ETANOL E SACAROSE SOBRE A
MANIPULAÇÃO RENAL DE SÓDIO E A PRESSÃO
ARTERIAL EM RATOS.***

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia da Bióloga Adriana Zapparoli Alves Cruz.

Campinas, 23 de fevereiro de 2001.

Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo
- Orientador -

CAMPINAS

2001

i



ADRIANA ZAPPAROLI ALVES CRUZ

***EFEITO DA INGESTÃO DE ETANOL E SACAROSE SOBRE A
MANIPULAÇÃO RENAL DE SÓDIO E A PRESSÃO
ARTERIAL EM RATOS.***

*Dissertação de Mestrado apresentado à
Pós-Graduação da Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do
título de Mestre em Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Rocha Gontijo

CAMPINAS

2001

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

C889e Cruz, Adriana Zapparoli Alves
Efeito da ingestão de etanol e sacarose sobre a manipulação renal de
sódio e a pressão arterial em ratos / Adriana Zapparoli Alves Cruz.
Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : José Antônio Rocha Gontijo
Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Rim . 2. Pressão arterial. 3. Alcool. I. José Antonio Rocha
Gontijo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. III. Título.



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo

Membros:

Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo

Profa. Dra. Maria José Queiroz Freitas Alves

Prof. Dr. José Francisco Figueiredo

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 23/02/2001

DEDICATÓRIA

*Ao meu esposo Roberto e a
meu filho Igor,*

Aos meus pais , Elzio e Clara

Ao Prof. Dr. José Antônio Rocha Gontijo, pela orientação segura, disponibilidade, paciência e por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao Roberto pelo carinho, apoio, incentivo, tolerância e paciência durante a realização deste trabalho.

Ao Igor, agradeço pela sua compreensão e principalmente por seu amor e carinho.

À minha amiga e companheira de laboratório Dona Neidinha, por sua bondade e pela colaboração sensível e carinhosa.

Às minhas amigas Cíntia e Nilza pela amizade e paciência.

Ao meu amigo Leonardo pelo carinho.

À minha amiga Concília pelas sugestões nas dosagens bioquímicas.

Às minhas colegas de pós-graduação Ellen, Renata, Leda, Paula e Patrícia pelo encorajamento.

Às funcionárias do laboratório do CCI Sueli e Márcia, pela colaboração nas dosagens séricas de etanol.

Aos meus colegas de trabalho Fabiana e Adilton, pela cordialidade e auxílio com os animais.

Os caminhos que tomamos ao longo da vida são parte essencial de nossa educação. A cada tropeço é preciso levantar novamente e retornar à marcha.

Francisco do Espírito Santo Neto

	<i>Pág</i>
RESUMO.....	<i>xxvii</i>
1. INTRODUÇÃO.....	31
1.1. Genérica.....	33
1.1.1. Aspectos sociais.....	33
1.2. Comprometimento orgânico causado pelo uso de etanol.....	33
1.2.1. Sobre o sistema imunológico.....	33
1.2.2. Sobre o sistema ósseo.....	34
1.2.3. Sobre o aparelho gastrointestinal e a ingestão alimentar.....	34
1.2.4. Sobre o sistema nervoso.....	35
1.2.5. Sobre o sistema endócrino.....	36
1.3. Sobre o rim e o balanço hidrossalino.....	36
1.3.1. Efeitos do etanol sobre o manuseio renal de íons, água e hemodinâmica renal.....	36
1.3.2. Efeitos do etanol no balanço hidro-eletrolítico e na homeostase ácido-base.....	37
1.3.3. Alcoolismo e complicações renais.....	38
1.4. Etanol e a pressão arterial sistêmica.....	38
1.5. Ingestão de carboidrato e modificações na pressão arterial sistêmica.....	39

1.6. <i>Clearance</i> de lítio.....	40
1.6.1. Transporte de lítio no túbulo proximal.....	41
1.6.2. Transporte de lítio na alça de Henle.....	41
1.6.3. Transporte de lítio no túbulo distal.....	42
1.6.4. Transporte de lítio no ducto coletor.....	42
2. OBJETIVOS.....	43
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
3.1. Animais de experimentação.....	49
3.1.2. Intoxicação alcoólica	50
3.2. Procedimentos experimentais.....	50
3.2.1. Grupos experimentais.....	50
3.2.2. Desenho experimental.....	50
3.3. Parâmetros mensurados.....	51
3.3.1. Medidas de peso corporal e ingestão sólida.....	51
3.3.2. Pressão arterial caudal.....	51
3.3.3. Avaliação semanal da excreção urinária de íons e fluxo urinário.....	52
3.4. <i>Clearances</i> de lítio e creatinina.....	52
3.5. Análises bioquímicas.....	53
3.6. Cálculos e Análise Estatística.....	54

4. RESULTADOS.....	55
4.1. Caracterização dos grupos experimentais.....	57
4.1.1. Concentrações plasmáticas de etanol (mg/dl) após administração oral de soluções etanol a 2,5%, 5% e 10%.....	57
4.1.2. Evolução ponderal diária (g) dos animais tratados com etanol e sacarose a 10%, nos grupos <i>ad libitum</i> , pair fed e suplementado.....	57
4.1.3. Ingestão diária de ração (g) após a administração de etanol e sacarose a 10%, nos grupos <i>ad libitum</i> , pair fed e suplementado.....	60
4.1.4. Avaliação da pressão arterial sistólica nos grupos <i>ad libitum</i> , pair fed e suplementado.....	62
4.1.5. Medidas de peso renal (g/100g de peso corporal) nos grupos <i>ad libitum</i> tratados dos com soluções a 2,5%, 5% e 10%, pair fed e suplementado.....	64
4.1.6. Concentrações plasmáticas de corticosterona no grupo <i>ad libitum</i> após a administração oral de soluções de etanol e sacarose a 10%.....	65
4.2. Excreção urinária semanal - urina de 15 horas	66
4.2.1. Fluxo urinário por minuto de animais tratados com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.....	66
4.2.2. Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.....	68
4.2.3. Excreção urinária de potássio (U_KV) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.....	70

4.2.4. Fluxo urinário por minuto de animais dos grupos pair fed e suplementado, tratados com etanol e sacarose a 10%.....	72
4.2.5. Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - grupo pair fed e suplementado.....	74
4.2.6. Excreção urinária de potássio (U_KV) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - grupo pair fed e suplementado.....	75
4.3. Estudo funcional do Rim - <i>Clearances</i> de creatinina e lítio.....	78
4.3.1. Fluxo urinário durante o estudo funcional de animais dos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	78
4.3.2. <i>Clearance</i> de creatinina (CCr) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	80
4.3.3. <i>Clearance</i> de lítio (CLi) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	81
4.3.4. <i>Clearance</i> de sódio (CNa) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	84
4.3.5. Fração de excreção de sódio (FE_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	86
4.3.6. Fração de excreção proximal de sódio (FEP_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	88

4.3.7. Fração de excreção pós-proximal de sódio (FEPP _{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	90
4.3.8. Fração de excreção de potássio (FE _K) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.....	92
5. DISCUSSÃO.....	95
5.1. Evolução ponderal e da pressão arterial em animais do grupo <i>ad libitum</i> , suplementado e pair fed, ingerindo etanol 10% e sacarose 10%.....	97
5.2. Excreção renal de sódio e fluxo urinário em animais do grupo <i>ad libitum</i> , suplementado e pair fed, ingerindo etanol 10% e sacarose 10%.....	100
5.3. Manuseio tubular renal de sódio, avaliado pelos <i>Clearances</i> de creatinina e lítio, de animais do grupo suplementado e pair fed, tratados com soluções de etanol 10% e sacarose 10%.....	102
6. CONCLUSÃO.....	107
7. SUMMARY.....	111
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
9. ANEXOS.....	127

LISTA DE ABREVIATURAS

ADH	hormônio antidiurético
ACTH	hormônio adenocorticotrópico
ANOVA	análise de variância
ANP	peptídio atrial natriurético
AV	arginina-vasopressina
CCr	<i>clearance</i> de creatinina
CK	<i>clearance</i> de potássio
Cl	Cloro
CLi	<i>clearance</i> de lítio
CNa	<i>clearance</i> de sódio
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CRH	hormônio de liberação de corticotropina
DDNa	aporte distal de sódio a partir dos túbulos proximais
EtOH	Etanol
Fe _{Na}	Fração de excreção de sódio
FeP _{Na}	Fração de excreção proximal de sódio
FePP _{Na}	Fração de excreção pós-proximal de sódio

FF	free fed
g	grama
H	hidrogênio
HDL	high-density lipoprotein
K	potássio
Na	sódio
NAD	nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo (reduzido)
NO	óxido nítrico
Na ⁺ /K ⁺ -ATPase	proteína da membrana celular
PAC	Pressão arterial caudal
PF	pair fed
PNa	concentração de sódio no plasma
PGE ₂	prostaglandina
REA	radiative energy attenuation
RFG	taxa de filtração glomerular
RIA	radioimunoensaio
SAC	sacarose
SEM	erro padrão da média

SF	supplement fed
U	concentração urinária
$U_{Na}V$	excreção urinária de sódio
U_KV	excreção urinária de potássio
V	fluxo urinário por minuto
vs	versos

LISTA DE TABELAS

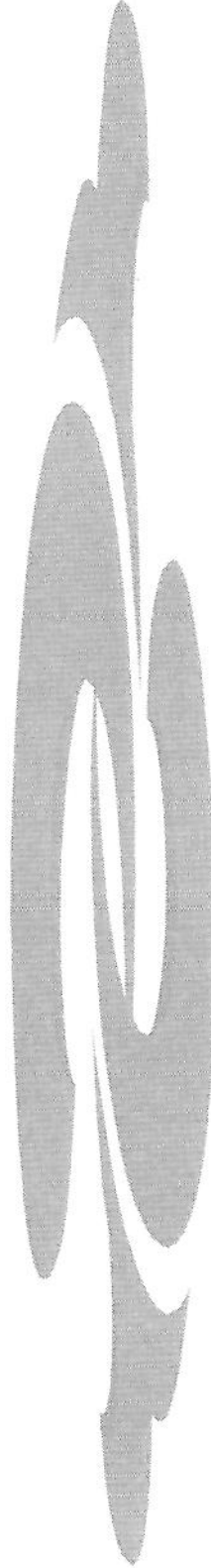
	<i>Pág</i>
Tabela 1: Concentrações plasmáticas de etanol.....	129
Tabela 2: Evolução do peso corporal (g) diário.....	130
Tabela 3: Ingestão diária de ração (g).....	131
Tabela 4: Pressão arterial (mmHg).....	132
Tabela 5: Peso renal (g/100g/p.c).....	132
Tabela 6: Concentrações plasmáticas de corticosterona (mg/dl).....	133
Tabela 7: Fluxo urinário por minuto- Curva dose- resposta.....	133
Tabela 8: Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$)- Curva dose-resposta.....	134
Tabela 9: Excreção urinária de potássio (U_KV)- Curva dose – resposta.....	134
Tabela 10: Fluxo urinário (ml/min/100g de rato) 15 horas.....	135
Tabela 11: Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$).....	135
Tabela 12: Excreção urinária de potássio (U_KV).....	136
Tabela 13: Fluxo urinário durante o estudo funcional.....	136
Tabela 14: <i>Clearance</i> de creatinina (CCr)	137
Tabela 15: <i>Clearance</i> de lítio (CLi).....	137
Tabela 16: <i>Clearance</i> de sódio (CNa).....	138

Tabela 17:	Fração de excreção de sódio (Fe_{Na}).....	138
Tabela 18:	Fração de excreção proximal de sódio (FeP_{Na}).....	139
Tabela 19:	Fração de excreção pós-proximal de sódio (FePP_{Na}).....	139
Tabela 20:	Fração de excreção de potássio (Fe_{K}).....	140

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1: Concentrações plasmáticas de etanol.....	57
Figura 2: Evolução do peso corporal (g) diário.....	59
Figura 3: Ingestão diária de ração (g).....	61
Figura 4: Pressão arterial (mmHg).....	63
Figura 5: Peso renal (g/100g/p.c).....	65
Figura 6: Concentrações plasmáticas de corticosterona (mg/dl).....	66
Figura 7: Fluxo urinário por minuto- Curva dose- resposta.....	67
Figura 8: Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$)- Curva dose-resposta.....	69
Figura 9: Excreção urinária de potássio (U_KV)- Curva dose – resposta.....	71
Figura 10: Fluxo urinário (ml/min/100g de rato) 15 horas.....	73
Figura 11: Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$).....	75
Figura 12: Excreção urinária de potássio (U_KV).....	77
Figura 13: Fluxo urinário durante o estudo funcional.....	79
Figura 14: <i>Clearance</i> de creatinina (CCr)	81
Figura 15: <i>Clearance</i> de lítio (CLi).....	83
Figura 16: <i>Clearance</i> de sódio (CNa).....	85

Figura 17:	Fração de excreção de sódio (Fe_{Na}).....	87
Figura 18:	Fração de excreção proximal de sódio (FeP_{Na}).....	89
Figura 19:	Fração de excreção pós-proximal de sódio ($FePP_{Na}$).....	91
Figura 20:	Fração de excreção de potássio (Fe_K).....	93



RESUMO

Estudos criteriosos sobre a evolução diária da ingestão de etanol, pressão arterial e a manipulação renal de sódio, não tem sido adequadamente realizados.

No presente estudo, após a determinação da dose diária de etanol necessária para produzir intoxicação alcoólica em ratos, avaliamos os efeitos desta administração de álcool etílico e seu controle isocalórico (solução de sacarose), sobre modificações do apetite, o peso corporal diário e a pressão arterial caudal. Após, estimarmos a filtração glomerular e manipulação tubular renal de sódio respectivamente, pelas técnicas do *clearance* de creatinina e pelo *clearance* de lítio. Ainda, determinamos estes mesmos parâmetros após a restrição (pair fed) ou suplementação dietética nos animais tratados com etanol.

Os animais foram subdivididos em quatro grupos experimentais assim definidos: (1) animais, sob livre acesso de ração, foram tratados com doses isocalóricas de etanol e sacarose; (2) animais tratados com etanol, com acesso *ad libitum* à ração e animais tratados com sacarose com restrição calórica; (3) animais tratados com etanol recebendo suplementação calórica-eletrolítica dietética e animais recebendo solução de sacarose.

Estimamos os níveis de corticosterona circulante avaliada pela técnica de radioimunoensaio. A confirmação da intoxicação alcoólica foi realizada pela determinação dos níveis plasmáticos de etanol pela técnica atenuação de energia radiativa. Para análise dos resultados, utilizou-se a Análise de Variância uma via e *Teste t-Student* quando adequados, estabelecendo como níveis de significância aceitável de 5% ($p \leq 0,05$).

Estabeleceu-se que a concentração sérica etanol 10% seria aquela necessária para a indução de intoxicação alcoólica crônica. Os animais tratados com solução de etanol 10% e com acesso livre a ração apresentaram uma diminuição significativa das massas corporais e renais, uma redução evidente da ingestão diária de ração e uma elevação transitória nos níveis pressóricos acompanhados por elevação persistente nas concentrações plasmáticas de corticosterona. Quando administrada uma suplementação calórica aos animais tratados com etanol 10%, não ocorre alteração na perda de massa corporal e também nos níveis pressóricos.

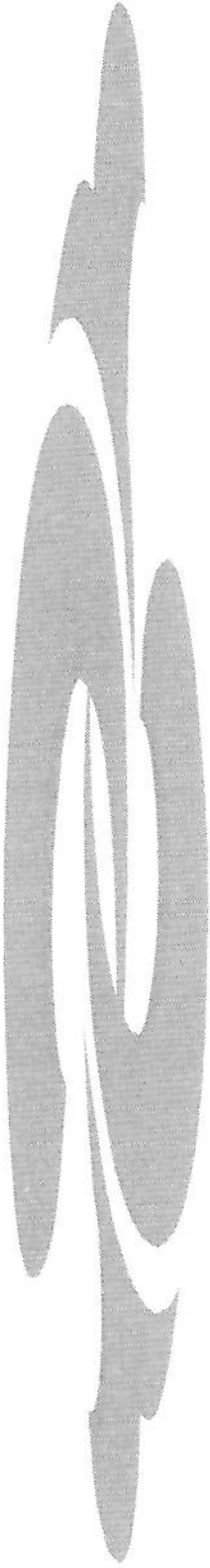
Os animais tratados com soluções de etanol a 2,5%, 5% e 10% (curva dose-resposta), não apresentam alterações significativas do fluxo urinário por minuto e também na excreção urinária de sódio e potássio, quando avaliada na urina coletada semanalmente durante 15 horas.

Os animais tratados com sacarose 2,5% e 5% não apresentam alterações significativas na manipulação renal de sódio ou potássio e do fluxo urinário.

A administração de solução de etanol 10%, promove uma queda transitória no sétimo dia da excreção renal de sódio em decorrência de uma rejeição pós-proximal deste íon seguida por uma reabsorção de potássio sem modificações significativas na filtração glomerular.

Em animais tratados com sacarose 10% submetidos à restrição calórica, ocorre um aumento na filtração glomerular e na reabsorção de sódio e diminuição de potássio nos segmentos pós-proximais do néfron.

O efeito da sacarose parece potencializar os aumentos nos níveis pressóricos associada a modificações tubulares em dietas com níveis normais principalmente de sódio em ratos.



1. INTRODUÇÃO

1.1. GENÉRICA

1.1.1. Aspectos Sociais.

O alcoolismo é um grande problema de Saúde Pública em países desenvolvidos quanto naqueles em estágio de desenvolvimento (Parker & Auerhahn, 1998). Vários estudos têm sido realizados para uma melhor compreensão da inter-relação do etanol e a violência. Nestes, são analisadas as complexas interações biológicas, farmacológicas, fisiológicas, sociais e também o aspecto contextual do etanol relacionando-o a violência (Parker & Auerhahn, 1998). Muitas dificuldades emergem ao se avaliar qualitativamente estas pesquisas bem como são imprecisas as mensurações do consumo de etanol em populações humanas (Cowie, 1997).

O consumo alcoólico individual ou populacional varia de um país para outro. Os dados publicados sobre este consumo provavelmente são subestimados, não havendo informações exatas principalmente sobre o consumo domiciliar.

Diferentes estudos usam definições não padronizadas para o consumo de etanol. Na mulher parece que este efeito do etanol difere em relação patogenicidade (Cowie, 1997). Estas parecem ser mais susceptíveis, com um aumento da morbidade e mortalidade causado pelo uso excessivo de etanol (Klatsky et al., 1992).

1.2. COMPROMETIMENTO ORGÂNICO CAUSADO PELO USO DE ETANOL.

1.2.1. Sobre o sistema imunológico

O uso do etanol causa danos imunológicos predispondo a infecções e aumentando a incidência de neoplasias (Nelson et al., 1995), através de modificações da resposta antigênica primária.

Estudos têm sugerido uma associação entre o alcoolismo, infecções bacterianas inespecíficas e também a tuberculose (Nelson et al., 1995).

A ingestão aguda e crônica do etanol pode afetar a secreção de moduladores imunológicos por certos macrófagos alveolares e a produção de óxido nítrico (NO), responsáveis pelo menos em parte, por processos de agressão e defesa pulmonares (D'Souza et al., 1996).

1.2.2. Sobre o sistema ósseo.

A ingestão etílica aguda ou crônica, pode ser responsável por doenças ósseas, através de uma supressão da atividade osteoblástica, conseqüentemente por um decréscimo na formação e mineralização óssea (Rico, 1990).

Adicionalmente, o uso combinado do etanol e do hidróxido de alumínio tem sido associado a uma progressiva reabsorção da matriz óssea (Spencer et al., 1986).

1.2.3. Sobre o aparelho gastrointestinal e a ingestão alimentar.

O etanol é metabolicamente oxidado no fígado a acetaldeído, pela álcool desidrogenase e em menor quantidade pelas oxidases microssômicas, em um processo dependente da transformação de NAD em NADH (Lieber, 1988).

Alcoólatras apresentam uma redução na produção hepática de glicoproteínas, de proteínas estruturais e de certas proteínas de superfície da mucosa gastrointestinal (Pohl, Guilinger, VanThiel, 1987).

Estudos têm sugerido que a deficiência de vitamina D observada em alcoólatras, está condicionada a deficiências dietéticas, a diminuição da absorção intestinal de substâncias lipofílicas, ou ainda a um defeito na hidroxilação hepática do colecalciferol (VanThiel & Gavalier, 1990).

Em animais a lesão hepatotóxica causada pelo etanol pode ser atenuada pela ingestão de elevadas concentrações de carboidratos. Por outro lado, dietas ricas em lipídeos parecem retardar a absorção intestinal de etanol (Rao & Larkin, 1997). Observa-se também, que a ingestão combinada de etanol e sacarose promove o hiperinsulinismo associado a hipoglicemia pós-prandial (Lieber, 1988).

Outros achados, têm mostrado que o consumo de etanol está associado a um aumento do risco de câncer de cavidade oral, faringe, laringe e esôfago (Vamvakas et al., 1998).

1.2.4. Sobre o sistema nervoso.

A ingestão de etanol causa danos neurais que induzem a desordens neuropsiquiátricas (Vamvakas et al., 1998). A exposição crônica ao etanol tem sido associada a hiperatividade neural em animais e humanos (Glue & Nutt, 1990).

Estudos avaliando a ação etílica sobre o sistema nervoso central em ratos, têm mostrado alterações do metabolismo cerebral mesocorticolímbico incluindo *núcleo acumbens*, núcleo da amígdala central e basolateral, tegumento ventral e substância negra compacta (Porrino, Whitlow, Samson, 1998).

Por outro lado, estudos propõem que o etanol induza a mudanças na atividade neural diretamente no circuito cortical, suprimindo a excitabilidade neuronal. Algumas alterações promovidas pelo etanol, também têm sido demonstradas em neurônios do hipocampo. Estes efeitos são atribuídos a mudanças na condutância de canais de potássio pós-sinápticos (Sessler et al., 1998).

A atividade adrenérgica do sistema de Purkinje, para o *locus coeruleus*, parece também sofrer algumas modificações (Wang, Freund, Palmer, 1999). O etanol tem sido exaustivamente implicado na ativação do sistema nervoso simpático induzindo a efeitos sobre a pressão arterial sistêmica (Borne et al., 1997). Sua ação estimulante promove modificações hemodinâmicas e hidroeletrólíticas (Randim et al., 1995).

1.2.5. Sobre o sistema endócrino.

Parece que a ingestão crônica do etanol afeta a síntese e o catabolismo de esteróides. Esteróides compreendem hormônios derivados do colesterol, produzidos no córtex adrenal, em glândulas de reprodução e metabólitos da vitamina D (Gordon et al., 1976).

O hipogonadismo masculino é uma entre as várias consequências causadas pelo abuso etílico (Santucci, Graham, VanThiel, 1983). Por seu lado, na mulher o consumo de etanol causa um aumento da estrogemia (Stampler et al., 1988) e uma redução na secreção gonodotrófica hipofisária (Emmanuele et al., 1990).

Uma síndrome de "pseudo-Cushing" ocorre procedendo ao coma após a ingestão crônica de etanol (Cobb et al., 1981; VanThiel & Gavalier, 1990), sendo associada à hipertrofia adrenal e a uma redução cortical de vitamina C e colesterol. (Smith, 1951).

Estudos sugerem que o tratamento crônico com etanol em ratos resulta em um aumento da síntese do hormônio de liberação de corticotropina (CRH), e na secreção do hormônio adenocorticotrófico (ACTH) (Rivier, Imaki, Vale, 1990).

1.3. SOBRE O RIM E O BALANÇO HIDROSSALINO.

1.3.1 Efeitos do etanol sobre o manuseio renal de íons, água e hemodinâmica renal.

O etanol é filtrado pelo glomérulo renal e reabsorvido pelos túbulos. O aumento progressivo da concentração de etanol no lúmen tubular e no fluido peritubular faz com que a concentração final na urina seja similar a do sangue (Vamvakas et al., 1998).

Estudos prévios de micropunção e microperfusão tubular, sugerem a não interferência do etanol sobre a função das células tubulares. Estudos *in vitro* sugerem que a atividade Na^+/K^+ -ATPase na membrana basolateral das células tubulares renais seja inibida pelo etanol, por outro lado, esta atividade parece estar aumentada *in vivo* (Rodrigo &

Thielemann, 1997). Por estar envolvida na regulação do volume celular, esta inibição pode contribuir para a hipertrofia celular renal (Rothman, 1992) e por modificações de sódio e água.

Estudos mostram que a ingestão crônica de etanol, causa uma queda na taxa de filtração glomerular e hipertrofia renal. As observações histopatológicas destes estudos revelam o aparecimento de edema intersticial, dilatação tubular e achatamento das células tubulares de revestimento (VanThiel et al., 1979).

1.3.2. Efeitos do etanol sobre o balanço hidro-eletrolítico e a homeostase ácido-base.

Estudos sobre a interferência do etanol na excreção hidro-eletrolítica ainda são controversos. Embora diversos aspectos relacionados a um desequilíbrio hidro-salino sejam descritos em etilistas, existem dúvidas quanto aos mecanismos pelos quais a ação do etanol, altera a homeostase salina e particularmente a manipulação tubular de íons (Eiser, 1987).

Algumas observações demonstram um efeito dose-dependente do etanol (Carney, Gillies, Ray, 1995) sobre o volume urinário relacionado a uma diminuição na secreção hipotálamo-hipofisário de hormônio antidiurético (ADH) e a um aumento dos níveis renais de prostaglandinas (Zawada, Johnson, Sica, 1985)

Por outro lado, tem sido observada, uma retenção tubular de Na^+ e K^+ , após a administração aguda de etanol em animais e humanos (Eisenhofer & Johnson, 1982; Zawada et al., 1985) associada a uma expansão do volume extracelular, sem modificações significativas de eletrólitos no plasma (Tang & Falk, 1986). Esta antidiurese no homem, paradoxalmente tem sido relacionada a uma elevação de ADH (Carney, Gillies, Ray, 1995).

O etanol pode também através da ativação do sistema renina-angiotensina-alдостерона modificar a pressão arterial e o balanço de sódio, contribuindo para um aumento do volume plasmático (Ibsen et al., 1981).

Autores têm descrito um aumento da fração de excreção urinária de magnésio, cálcio e fosfato em pacientes alcoólatras, causando uma depleção corporal reversível destes eletrólitos após um período de abstinência (De Marchi et al., 1993). O aumento da calciúria e magnesiúria parece estar relacionado a um aumento do fluxo tubular distal (Vamvakas, 1998).

Acidose metabólica, também foi demonstrada associada a um aumento do pH urinário, decorrente de uma diminuição na excreção urinária de bicarbonato e amônia, como efeito tóxico do etanol sobre os túbulos proximais. Estas anormalidades na homeostase ácido-básica podem ser revertidas após supressão da ingestão etílica. (De Marchi et al., 1993).

1.3.3. Alcoolismo e complicações renais.

Existem observações relacionando um aumento na incidência de glomérulonefrites pós-infecciosa e a vulnerabilidade renal a insultos isquêmicos a ingestão de etanol (Keller & Andrassy, 1994).

O etilismo crônico materno tem sido relacionado ao aparecimento de embriopatias causando anormalidades renais e do trato urinário (Assadi et al., 1991).

1.4. ETANOL E A PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA.

A prevalência de hipertensão arterial em etilistas crônicos decorre em torno de 7 a 11% nos países industrializados (MacMahon, 1987) e em aproximadamente 33% nos países em desenvolvimento (Klag et al., 1993).

A ingestão aguda do etanol tem sido implicada a um efeito vasodilatador periférico, com conseqüente queda da pressão sangüínea. Por outro lado, o uso crônico do etanol eleva a pressão sangüínea de maneira dose-dependente (Abdel-Rahman, Dar, Wooles, 1984).

Em ratos, a administração crônica de etanol, promove uma elevação da pressão arterial concomitante a um aumento de cálcio intracelular, e a uma expansão do volume extracelular. Modificações nas concentrações de cálcio ocorrem principalmente nas células da musculatura lisa vascular (Hsieh et al., 1992). Sugere-se que o consumo do etanol está diretamente ligado a vasotonicidade periférica (Potter, 1986).

Ainda, o efeito das catecolaminas, mediando o efeito agudo do etanol sobre a pressão arterial tem sido relatado, bem como a potencialização vasoconstrictora em arteríolas a catecolaminas (Ireland, 1984).

Têm sido também observadas elevações agudas da pressão arterial associada a um aumento adrenal de catecolaminas imediatamente após a ingestão de etanol (Ireland, 1984).

É provável que o consumo de etanol cause algumas alterações nas características moleculares do peptídeo atrial natriurético (ANP). O papel do peptídeo atrial natriurético (ANP) sobre a excreção renal de sódio e água e a pressão arterial tem sido muito estudado. (Guillaume et al., 1997).

1.5. INGESTÃO DE CARBOIDRATO E MODIFICAÇÕES NA PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA.

A ingestão de carboidratos tem sido comumente utilizada em modelos experimentais como controles para a ingestão isocalórica de etanol (Slawecki, Samson, Hodge, 1997; Azzara & Sclafani, 1998). Por outro lado, tem sido observado que a ingestão crônica de carboidratos podem elevar a pressão arterial em vários modelos experimentais (Shi et al., 1997).

Estudos prévios tem apontado a participação da resistência periférica à insulina e as modificações do sistema renina-angiotensina-aldosterona na patogênese da hipertensão induzida pelos açúcares (Shi et al., 1997). Tem sido demonstrada uma relação direta entre a ingestão de carboidratos e os níveis séricos de angiotensina II, elevação no tônus vascular e modificações da pressão sanguínea em ratos espontaneamente hipertensos (Shi et al., 1997).

Os mecanismos pelos quais a ingestão de carboidratos modifica a pressão arterial, possivelmente estão relacionados à retenção renal de sódio e água associados a modificações plasmáticas de catecolaminas (Johnson, Zhang, Katchen, 1993).

A insulina pode aumentar a pressão arterial através de um aumento na reabsorção renal de sódio e água, associada a uma elevação da atividade eferente neural renal ausência de hipoglicemia.(Gondal et al., 1996)

Situação de hiperinsulinemia persistente associada à resistência tecidual a insulina, pode também ser um fator importante na gênese da hipertensão arterial, quando associada à defeitos no transporte transmembrana de sódio e cálcio (Gondal et al., 1996).

Dados, sugerem que a sacarose potencializa os efeitos de uma dieta hipersódica sobre a pressão arterial em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos (Johnson et al., 1993). Entretanto, estudos criteriosos sobre a evolução diária da ingestão de etanol ou sacarose (como controle isocalórico) sobre a pressão arterial, e particularmente sobre a manipulação renal de sódio não têm sido adequadamente realizados.

1.6. CLEARANCE DE LÍTIO.

O *clearance* de lítio tem sido utilizado como um marcador adequado para estimar o fluxo de água e sódio através dos túbulos proximais renais.

A técnica é baseada na observação de que o lítio após sua filtração é absorvido prioritariamente no túbulo proximal, em proporção direta ao sódio e água permanecendo assim, uma carga imutável em direção aos segmentos distais do néfron (Thomsen, 1990).

O lítio pode modificar a função tubular renal quando os valores plasmáticos atingem aproximadamente 1mEq/l. (Thomsen, 1990). Nos estudos de *clearance* de lítio, a dose oral utilizada deve resultar em níveis séricos próximos a 0,4mEq/l, concentrações as quais não têm sido evidenciadas modificações significativas da função renal (Evert & Dorhout, 1990).

1.6.1. Transporte de lítio no túbulo proximal.

O lítio é livremente filtrado pelo glomérulo e reabsorvido ao longo do túbulo proximal, juntamente com o sódio e água. Esta reabsorção pode ocorrer através da via transcelular ou via paracelular, sendo em grande parte reabsorvido por arrastamento junto com a água (Greger, 1990).

O lítio pode ser transportado pelo antiporte Na^+/H^+ , em face de afinidade deste transportador pelo lítio, (Holstein-Rathlou, 1990). Devido a sua baixa afinidade pela Na^+/K^+ -ATPase, o transporte de lítio através desta via é pouco provável (Thomsen & Shirley, 1997).

O uso de diuréticos com sítios de ação conhecidos também têm contribuído para o melhor conhecimento do manuseio tubular do lítio. Diuréticos com ação no túbulo proximal aumentam o *clearance* deste íon, mostrando uma rejeição proximal concomitante de sódio pela ação diurética (Kirchner, 1989).

1.6.2. Transporte de lítio na alça de Henle.

A manipulação de lítio pelos segmentos reto do túbulo proximal e descendente da alça de Henle é estimada em função do difícil acesso destes segmentos descendentes às técnicas de micropunção (Thomsen & Shirley, 1997).

No ramo ascendente da alça de Henle, o lítio pode competir com o sódio, pelo cotransporte $2\text{Cl}^-/\text{Na}^+/\text{K}^+$ e Na^+/K^+ -ATPase, embora a afinidade este seja muitas vezes maior para o sódio (Greger, 1990). Uma menor reabsorção do lítio nos segmentos proximais do néfron, parece ser compensada por um aumento da reabsorção na alça de Henle (Kirchner, 1989).

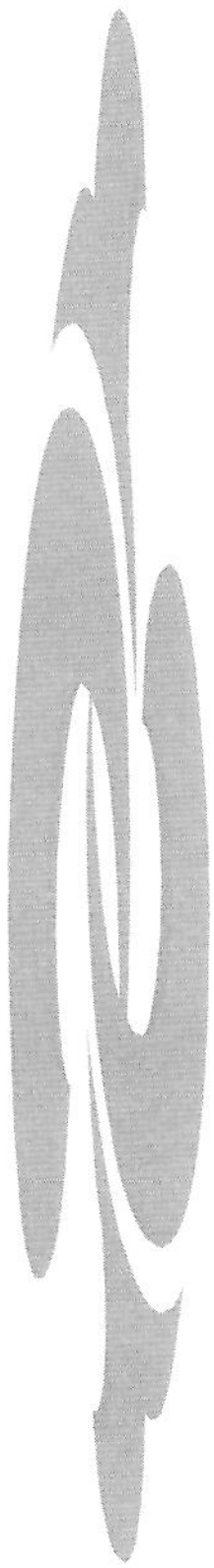
1.6.3. Transporte de lítio no túbulo distal

Não há evidências de que haja uma reabsorção significativa de lítio no túbulo distal, em condições normais. Estudos sobre a reabsorção neste segmento foram avaliados, usando técnicas de micropunção, após severa depleção de potássio ou sódio apresentando nestas condições uma reabsorção acima de 20% no filtrado neste segmento do néfron (Thomsen & Shirley, 1997).

1.6.4. Transporte de lítio no ducto coletor.

O transporte de lítio tem sido descrito em células do ducto coletor, possivelmente realizado por canais de sódio, presentes na membrana luminal destas células. Dietas pobres em sódio podem elevar a reabsorção do lítio nesta porção do néfron (Thomsen, 1984).

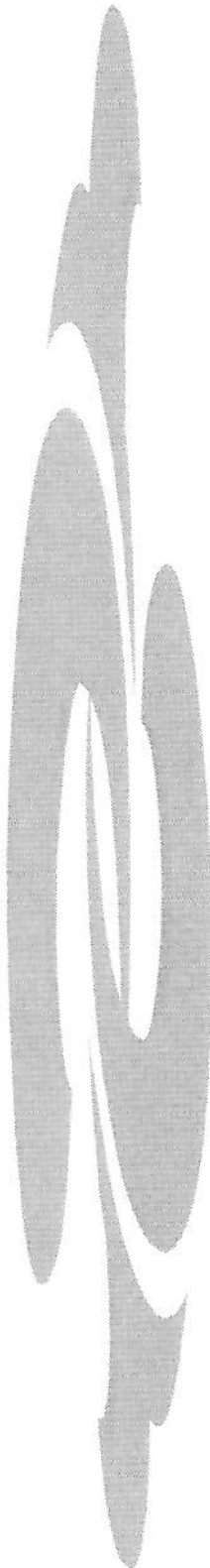
A utilização de um método indireto, como o *clearance* de lítio, é de grande importância para complementar e convalidar resultados de estudos empregando métodos diretos, como a micropunção e microperfusão. O *clearance* de lítio embora sendo uma medida indireta evita vieses tais como a necessidade do uso de anestésicos, procedimentos cirúrgicos prévios ou a perfusão renal com soluções perfusoras diversas.



2. OBJETIVOS

Face às argumentações acima fundamentadas, o presente trabalho foi implementado para:

1. Determinar a dose diária de etanol administrada por via oral, necessária para produzir intoxicação alcoólica (curva dose/resposta) em ratos vigis.
2. Definir as possíveis modificações do apetite para ração sólida, bem como as alterações do peso corporal diário, após intoxicação alcoólica por um período de duas semanas.
3. Avaliar os efeitos da ingestão crônica de etanol e sacarose (controle isocalórico) sobre o manuseio renal de sódio pela técnica do *Clearance* de Lítio.
4. Investigar os efeitos causados em duas semanas do etanol e da sacarose sobre a pressão arterial sistêmica e a excreção renal de sódio.
5. Determinar a contribuição da restrição ou suplementação calórica na ingestão de ração, em animais tratados com etanol sobre a função renal e a pressão arterial.
6. Relacionar tais modificações na pressão arterial sistêmica, as alterações séricas de etanol e corticosterona e ao balanço tubular renal de sódio.



3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Os procedimentos envolvendo animais, estão de acordo com os princípios éticos na experimentação recomendados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais definidos como:

Grupo experimental :

1. Animais tratados com etanol (EtOH).
2. Animais controles tratados com sacarose (SAC) (Abdel-Rahman, Dar, Wooles, 1984).
3. Animais tratados com doses isocalóricas de etanol e de sacarose permitindo livre acesso à ração sólida (grupo Livre -FF).
4. Animais tratados com etanol permitindo livre acesso à ração e animais tratados com sacarose com restrição calórica (grupo pair fed- PF).
5. Animais tratados com etanol recebendo suplementação calórica com solução de sacarose e eletrólitos (grupo Suplementado - SF) e animais recebendo solução de sacarose.

Os animais provenientes do Centro de Bioterismo da UNICAMP, controles e experimentais, dentro de um mesmo ensaio advinham de uma mesma ninhada da linhagem Wistar Hannover, pesando entre 180-250 gramas.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, para o seguimento ponderal e determinação da ingestão diária de ração todo estudo.

Exceto durante as coletas em gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável (Movart, Ribeirão Preto, S.P. ref. 306), os animais permaneceram com livre acesso à água e receberam ração para ratos (NUVILAB, Nuvital Nutrientes Ltda, Colombo, Paraná) com concentrações de $\text{Na}^+ = 2,99\text{g/kg}$ e $\text{K}^+ = 10,6\text{g/Kg}$ valores tidos como adequados para crescimento e reprodução normais dos animais (Ganguli e col 1969).

3.1.2. Intoxicação alcoólica.

A intoxicação alcoólica com etanol, foi induzida através da administração de uma solução 100 v/v % (1g/ml) de etanol (Chemco Ind. e Com. Ltda., Campinas, São Paulo) administrada por gavagem, pela manhã e à tarde, na dose diária total de 4ml/100 gramas de peso corporal do rato.

Os animais controles receberam por gavagem uma solução isocalórica de sacarose 50% (S 8501 SIGMA CHEMICAL CO) numa dose diária de 4 ml/100 g do peso corporal do rato, dividido também em duas administrações diárias.

3.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.

3.2.1 Grupos experimentais:

A determinação da quantidade diária de etanol, necessária para produzir intoxicação alcoólica foi realizada através de uma curva dose-resposta, onde os animais receberam uma solução de etanol em 2.5, 5.0 e 10g/kg/dia (curva dose-resposta). Os respectivos controles receberam soluções de sacarose na mesma dose.

A determinação da dose diária de etanol a ser administrada, foi estabelecida após a dosagem sérica por radioimunoensaio através dos níveis séricos de etanol (TDx/ TDx FLx REA).

3.2.2. Desenho experimental:

GRUPO COM LIVRE INGESTÃO DE RAÇÃO (FF): animais com ingestão de ração sólida e água *ad libitum*, foram submetidos à administração por gavagem de dose equicalóricas de sacarose ou etanol.

GRUPO COM INGESTÃO DE RAÇÃO PAIR-FED (PF): animais controles (SAC) receberam diariamente, uma quantidade de ração sólida similar àquela ingerida pelo o grupo tratado com etanol (EtOH) no dia anterior.

GRUPO COM INGESTÃO SUPLEMENTADA DE RAÇÃO (SF): a redução espontânea da ingestão de ração nos animais tratados cronicamente com etanol, foi suplementado, através da administração por gavagem, de uma quantidade complementar de sacarose e eletrólitos, similar a média ingerida pelo grupo controle (SAC) no dia anterior.

A solução de reposição suplementar foi constituída por sacarose (Sigma), cloreto de potássio e cloreto de sódio (Merck). A dose administrada obedeceu à proporção de 1 ml de solução isocalórica para cada 5 gramas de ração não ingeridos pelos animais intoxicados com etanol.

3.3. PARÂMETROS MENSURADOS.

Os parâmetros definidos abaixo foram determinados após um período controle de 7 dias antes do início da administração de etanol ou sacarose (período basal), seguido por 2 períodos subseqüentes de 7 e 14 dias (períodos experimentais), estabelecido após o início da administração etílica ou de sacarose.

3.3.1. Medidas de peso corporal e ingestão sólida.

As determinações do peso corporais e da ingestão de ração sólida dos animais foram realizadas diariamente no período da manhã, em uma balança mecânica (J.B. Ind. e Com. Balanças Ltda.).

3.3.2 Pressão arterial caudal.

A pressão arterial média foi determinada pela manhã 2 dias antes e 2,3,4,5,10 e 15 dias após a indução da intoxicação etílica . As medidas foram feitas pelo método indireto, através de pletismografia de cauda utilizando-se eletroesfigmomanômetro e transdutor de som tipo Korotkoff (Narco Biosystems Inc. Austin Tx). Para avaliar a pressão sangüínea foram utilizadas três medições consecutivas

3.3.3. Avaliação semanal da excreção urinária de íons e fluxo urinário.

Para esta avaliação os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável, em jejum para ração sólida, ingerindo água *ad libitum*. Os ratos permaneceram nas gaiolas das 17:00 às 8:00 horas da manhã seguinte, procedendo-se à coleta de urina em provetas graduadas a cada 0,1 ml. Alíquotas do volume total de urina obtida, foram armazenadas à temperatura de 20° C negativos até o momento da dosagem.

Os estudos de manipulação renal de íons foram realizados 7 dias antes e 7 e 14 dias após o início do tratamento, com etanol ou sacarose, nos diferentes grupos experimentais.

3.4. CLEARANCES DE LÍTIO E CREATININA.

O *clearance* de lítio renal tem sido usado como método não invasivo para estimar a função reabsortiva tubular renal de sódio e água.

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas de aço inoxidável sem restrição de movimentos. Após receberem por gavagem cloreto de lítio LiCl 60 $\mu\text{mol}/100$ g de peso corporal (Merck), (Garcia, Gontijo, Figueiredo, 1991), 14 horas antes do início dos experimentos, os animais foram colocados em jejum para a ração sólida com livre acesso à água.

Doze a quatorze horas depois para a obtenção de um fluxo regular e estável durante a coleta de urina os animais, foram submetidos à administração por gavagem de água (correspondente a 5% do seu peso corporal) nela incluída, a metade da dose diária de etanol ou sacarose. Decorridos 60 minutos, os animais receberam uma segunda gavagem de igual volume. Vinte minutos depois, foi iniciada a coleta de urina, em tubos graduados, por um período de 120 minutos.

Após os estudos funcionais realizados nos períodos 7 dias antes e 7 dias depois do início da administração de etanol ou sacarose, os animais foram anestesiados com éter etílico (CHEMCO) e as amostras de sangue foram coletadas através de vasos da cauda dos

animais. Após 14 dias de tratamento os animais foram sacrificados e amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca e os rins foram removidos, após descapsulação e pesados em balança analítica.

3.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.

Após as coletas das alíquotas de sangue, estas foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos, aliqüotadas juntamente com as amostras e estocadas a 20° C negativos juntamente com as amostras de urina, até o momento das dosagens.

- i. *Lítio, Sódio e Potássio*: a determinação plasmática e urinária de lítio, sódio e potássio foram realizados por fotometria de chama, através de um fotômetro Micronal, São Paulo, mod. 262.
- ii. *Creatinina endógena*: a concentrações urinárias e plasmáticas de creatinina foram determinadas através de espectrofotometria pelo método colorimétrico Brod-Sirota, utilizando-se equipamento (Micronal, São Paulo,S.P).Foi utilizado para as dosagens bioquímicas reagentes SIGMA. bem como controle e padrões (QUALITROL-Merck).
- iii. *Corticosterona*; a corticosterona circulante ($\mu\text{g/dl}$) foi determinada por radioimunoensaio (RIA), utilizando-se kit comercial para hormônio de rato e camundongo (RSL-125 I Corticosterone Kit Radiossay Sistem Laboratories, INC – Carson, CA, U.S.A).
- iv. *Etanol*: as dosagens para a confirmação da intoxicação alcoólica (mg/dl) foram realizadas pela técnica (REA) com atenuação energia radiativa através do kit comercial TDX/ TDX FLX REA (ABBOT Laboratories 1993).

3.6. CÁLCULOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Os *clearances renais* foram calculados por fórmulas convencionais $C=VU/P$ ($\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$), sendo U a concentração urinária, V o fluxo urinário por minuto e P a concentração plasmática de creatinina ou lítio.

O *clearance* de creatinina (CCr) foi usado para estimar a taxa de filtração glomerular (RFG) e o *clearance* de lítio (CLi) para medir a manipulação tubular renal de sódio e água ($\text{U}/\text{min}\%$).

A fração de excreção de sódio (FE_{Na^+}) e de potássio (FE_{K^+}) foram calculadas como $\text{CNa}^+/\text{Ccr} \times 100 (\%)$ e $\text{CK}^+/\text{Ccr} \times 100$, onde CNa^+ é o *clearance* de sódio, CK o *clearance* de potássio e Ccr é o *clearance* de creatinina.

As frações de excreção proximal (FEP_{Na^+}) e pós-proximal ($\text{FEPP}_{\text{Na}^+}$) de sódio, foram calculados como $\text{CLi}/\text{Ccr} \times 100$ e $\text{CNa}^+/\text{CLi} \times 100$ respectivamente e expressos em porcentagem (%).

O aporte distal de sódio a partir dos túbulos proximais (DDNa), foi calculado como $\text{CLi} \times \text{PNa}^+$ onde, PNa^+ é a concentração de sódio no plasma expressa como $\mu\text{mol}/\text{min} / 100\text{g}$ do peso corpóreo.

Os experimentos foram realizados possibilitando o estudo de todos os grupos de animais em paralelo. Para análise dos resultados, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas e *Teste t-Student* pareado para análise da diferença entre duas amostras, adotando como nível de significância $\chi 5\%$ ($p \leq 0,05$). Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média $\pm$ EPM.



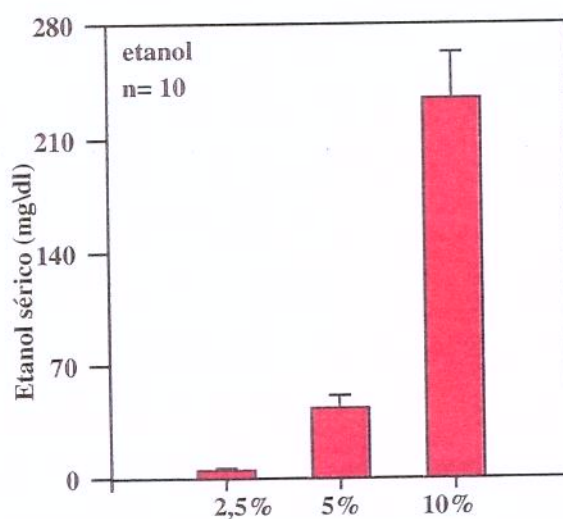
4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.

4.1.1 Concentrações plasmáticas de etanol (mg/dl) após administração oral de soluções etanol a 2,5%, 5% e 10%.

Após a administração oral de soluções a 2,5%, 5% e 10% foi observado um aumento progressivo dos níveis séricos de etanol (Figura 1). Estabelecida a concentração sérica foi utilizada nos diferentes experimentos a administração de etanol 10%, indutora de intoxicação alcoólica (Shaffar & Stroupe, 1983; Winek & Paul, 1983).

Tabela 1 e Figura 1: apresentam as concentrações plasmáticas de etanol após a administração oral de soluções a 2,5%, 5% e 10% no grupo com ingestão de ração *ad libitum*. Os resultados são apresentados em mg/dl como média $\pm$ SEM.



4.1.2. Evolução ponderal diária (g) dos animais tratados com etanol ou sacarose a 10% nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado.

A figura 2.A apresenta a evolução ponderal diária significativamente diferente dos animais com ingestão *ad libitum* de ração, comparando o grupo etanol 10%, aos animais tratados com sacarose 10% (ANOVA). A administração etílica promoveu uma queda ponderal significativa entre o 3º e o 10º dia, retornando em seguida progressivamente

a valores próximos ao basal. O grupo tratado com sacarose 10% apresentou um aumento persistente e significativo do peso corporal em relação aos valores basais no 2º, 7º, 8º e 11º ao 15º dia.

Os resultados obtidos para o grupo pair fed (figura 2.B), não mostraram diferenças significativas quando comparado ao grupo etanol 10%.

A figura 2.C apresenta os resultados para os ratos suplementados, onde persistiu um decréscimo significativo do 3º dia de tratamento.

Tabela 2 e Figura 2: os valores diários para pesos corporais dos animais tratados com etanol 10% ou sacarose 10% nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado no período basal durante 15 dias de tratamento. Os resultados são apresentados em gramas (g) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. Níveis de significância para os grupos sacarose e etanol $p \leq 0.05$ (ANOVA ou *teste-t Student*) entre os grupos estão indicados pelo (*); **a-** sacarose vs etanol. **b-** período basal vs etanol 10%. **c-** período basal vs sacarose 10%.

Peso corporal diário (g)

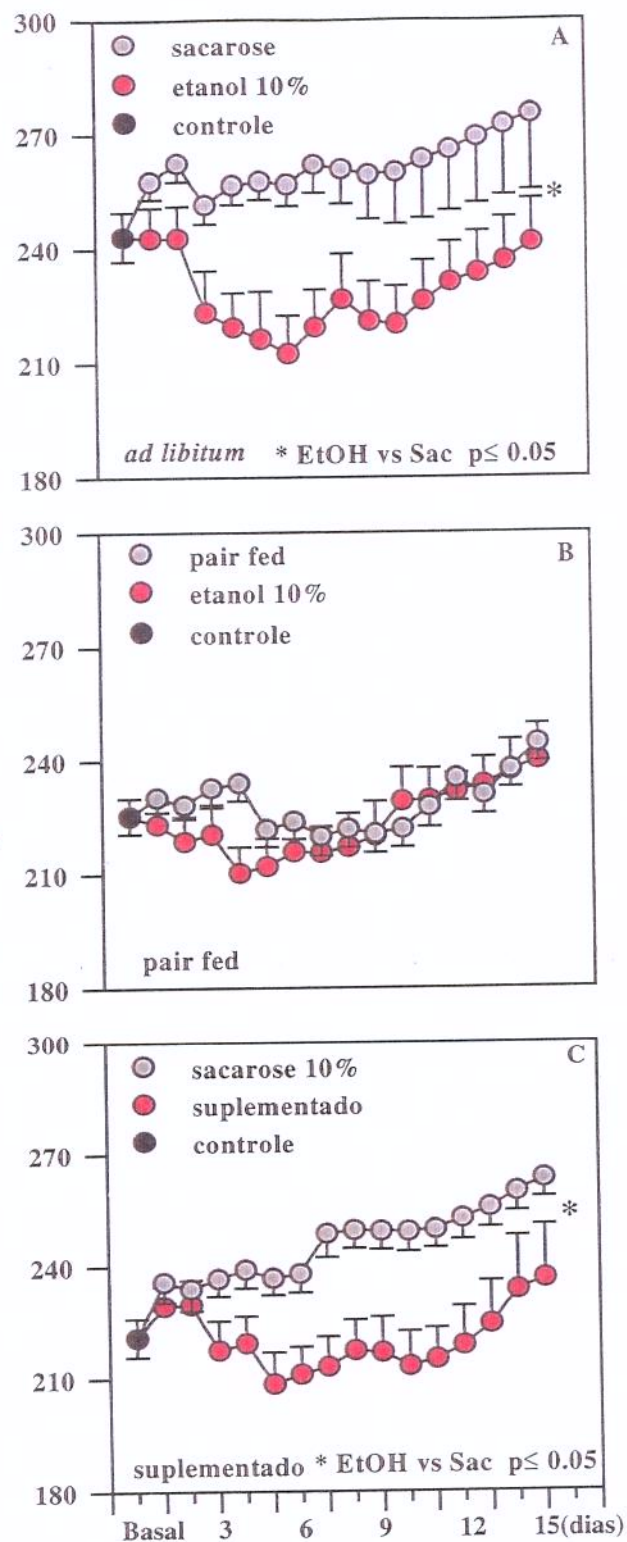


Figura 2: Evolução do peso corporal (g) diário

4.1.3. Ingestão diária de ração (g) após administração de etanol e sacarose a 10%, nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado.

A ingestão diária de ração sólida nos diferentes grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado é mostrada nas figuras 3.A, 3.B e 3.C.

Na figura 3.A observa-se uma diminuição significativa na ingestão de ração sólida para os animais tratados com etanol 10%, como também, para os animais tratados com sacarose 10%, durante o estudo. No grupo pair fed (figura 3.B), observa-se um comportamento similar para ambos os grupos tratados com etanol 10% e sacarose 10%.

A suplementação (figura 3.C) dietética para o grupo etanol, não modifica o perfil da curva de ingestão quando comparado ao grupo *ad libitum*. Após a administração etílica mais suplementação, ocorre uma queda progressiva entre o 1º e o 10º dia experimental, significativamente mais pronunciada neste grupo em relação aos animais tratados com sacarose 10%. A partir do 11º dia ambos os grupos comportam-se de forma similar.

Tabela 3 e Figura 3: os resultados apresentados abaixo mostram a ingestão de ração diária nos animais tratados com etanol e sacarose 10%, nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado, durante 15 dias de tratamento. Os resultados são apresentados em gramas (g) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ (ANOVA ou teste-t Student) entre os grupos estão indicados pelo (*); **a** -etanol vs sacarose; **b**- valores basais vs etanol 10%; **c**- valores basais vs sacarose 10%.

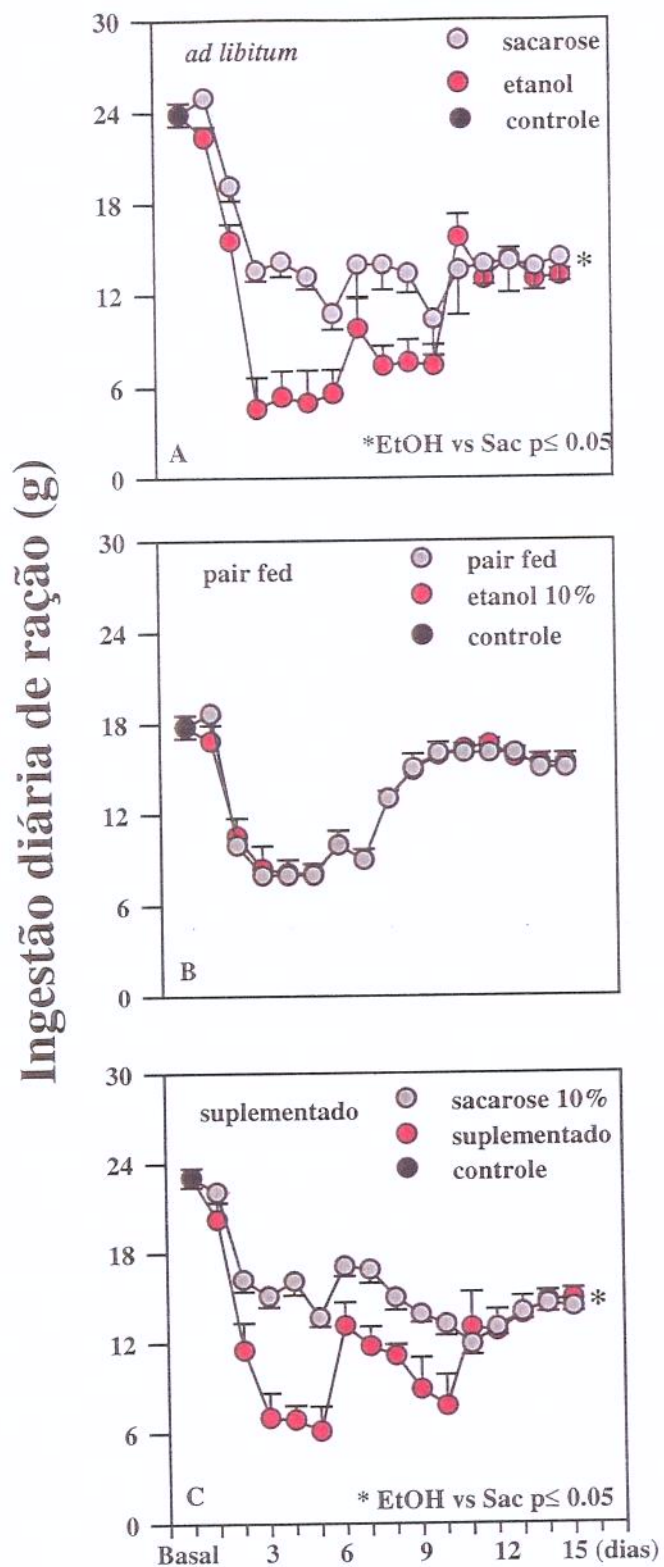


Figura 3: Ingestão diária de ração (g)

4.1.4. Avaliação da pressão arterial sistólica nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado.

Os valores da pressão arterial caudal, estão apresentados nas figuras 4.A, 4.B e 4.C. Na figura 4.A o grupo *ad libitum* tratado com etanol 10%, observa-se um discreto e transitório aumento da pressão arterial entre o 3º dia e o 4º dia de tratamento. A partir de então, ocorre uma redução progressiva até o 15º dia retornando a níveis próximos aos basais.

Por outro lado, os animais que receberam sacarose 10%, apresentaram uma pronunciada elevação pressórica entre o 2º e o 5º dias quando comparados aos valores basais e ao grupo etanol 10% retornando a valores próximos aos basais no 15º dia. Quando comparados entre si os grupos apresentaram diferenças significativas $p \leq 0.05$ (*teste-t Student*) no 2º ao 10º dia de tratamento.

O grupo pair fed e aquele tratado com etanol 10%, apresentaram um comportamento pressórico similar como apresentado na figura 4.B.

A figura 4.C apresenta os resultados dos animais após suplementação dietética, mostrando uma acentuada diferença entre os grupos etanol e sacarose 10%, dada à atenuação pressórica dos animais etanol 10% mais suplementação.

Os animais tratados com etanol 10% mais suplementação não apresentaram modificações significativas da pressão arterial sistólica durante o período de estudo. Já o grupo sacarose 10% mostrou um aumento acentuado da pressão arterial do 2º ao 10º dia de tratamento, retornando em seguida a valores próximos ao basal no 15º dia. Quando comparados entre si os grupos apresentaram diferenças significativas $p \leq 0.05$ (ANOVA).

Tabela 4 e Figura 4: os resultados abaixo apresentam os valores para a pressão arterial sistólica dos animais tratados com etanol 10% e sacarose 10%, mantidos sob regime de ingestão *ad libitum*, pair fed e suplementado. Os resultados são apresentados como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ (ANOVA ou *Teste-t Student*) entre os grupos são indicados pelo (*) **a-** etanol vs sacarose; **b-** período basal vs etanol 10%; **c-** período basal vs sacarose.

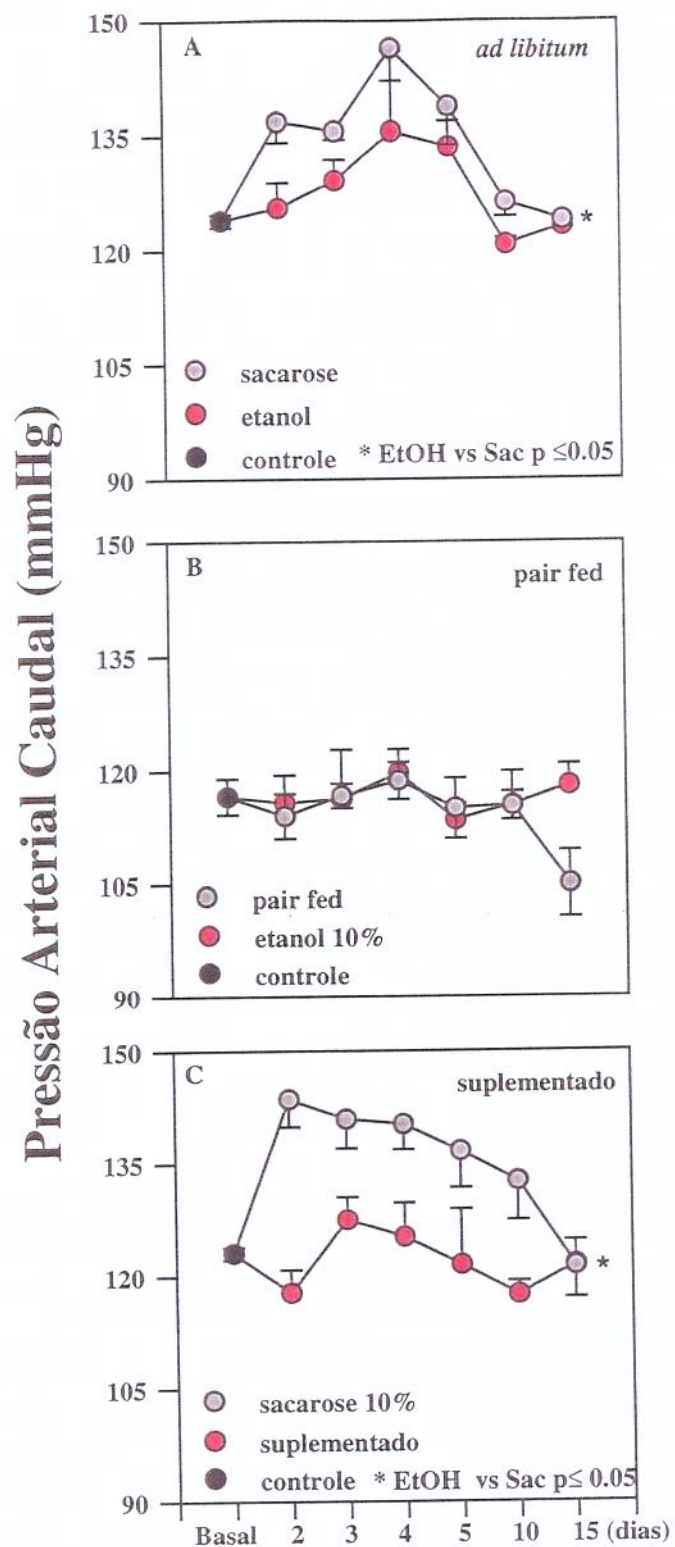


Figura 4: Pressão Arterial Caudal (PAC)

4.1.5. Medidas de peso renal (g/100g de peso corporal) nos grupos *ad libitum* tratados com soluções a 2,5%, 5% e 10%, pair fed e suplementado.

A Tabela 5 e a Figura 5 apresentam a evolução dos pesos renais nos diferentes grupos experimentais após a administração de soluções de etanol e sacarose 2,5%, 5%, 10%, e nos grupos pair fed e suplementado. Não houve diferenças significativas para os pesos renais entre etanol e sacarose para as concentrações 2,5% e 5%. Entretanto, após a administração de etanol 10%, observa-se uma queda pronunciada e significativa comparado ao seu controle sacarose 10%.

A restrição calórica pareada (pair fed) não modificou significativamente o peso renal em relação ao grupo sacarose 10% *ad libitum*. Por outro lado à suplementação dietética aboliu a diminuição do peso renal observada após o tratamento com etanol 10%.

Tabela 5 e Figura 5: os resultados abaixo apresentam o resultado dos pesos renais dos animais tratados com soluções de etanol e sacarose 2,5%, 5% e 10%, para os grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado, após 14 dias de tratamento. Os resultados são apresentados (g/100g de peso corporal), como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos é indicada pelo (*).

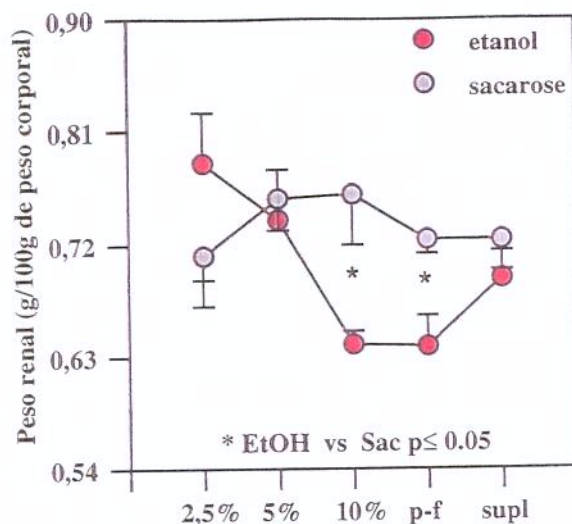


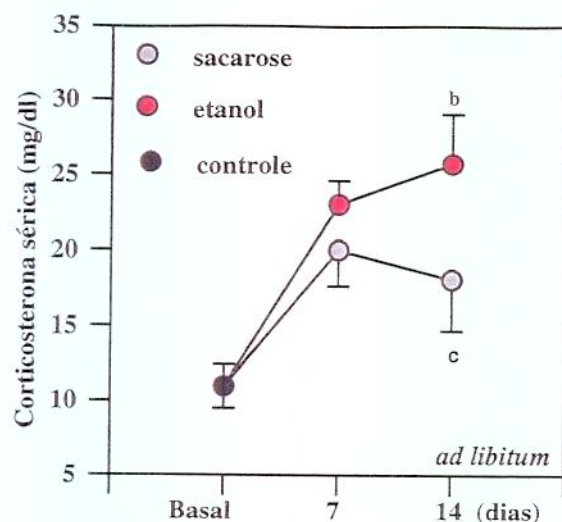
Figura 5: Peso renal (g/100g/p.c)

4.1.6. Concentrações plasmáticas de corticosterona no grupo *ad libitum* após a administração oral de soluções de etanol e sacarose a 10%.

A figura 6 apresenta a variação temporal para dos níveis plasmáticos de corticosterona sérica, durante 14 dias em animais com ingestão *ad libitum* de ração, tratados com etanol ou sacarose 10%.

Observa-se um aumento progressivo e significativo de corticosterona plasmática aos 7 e 14 dias de tratamento em ambos os grupos comparados aos níveis basais, pronunciadamente maiores no grupo etanol 10%.

Tabela 6 e Figura 6 : os resultados abaixo apresentam os níveis de corticosterona sérica após 7 e 14 dias de tratamento com etanol e sacarose 10%. Os resultados estão apresentados em (mg/dl) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre em parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos está indicado pelo (*): **b**- período basal vs etanol 10% etanol; **c**- período basal vs sacarose 10%.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

c= período basal vs sacarose 10%.

Figura 6: Concentrações plasmáticas de corticosterona (mg/dl).

4.2. EXCREÇÃO URINÁRIA SEMANAL - URINA DE 15 HORAS

4.2.1. Fluxo urinário/minuto de animais tratados com etanol e sacarose 10% - Curva dose-resposta.

O fluxo urinário minuto após a administração por 14 dias de etanol ou sacarose 2,5%, 5% e 10% expresso em ml/min/100g de rato, estão representados nas figuras 7.A, 7.B e 7.C.

A figura 7.A, apresenta os valores do fluxo urinário obtidos após a administração de etanol ou sacarose a 2,5%, sem qualquer diferença significativa em relação aos níveis basais. A administração de etanol ou sacarose 5% ou 10% (figura 7.B e 7.C) promoveu um declínio do fluxo urinário após 7 dias de tratamento permanecendo assim até o término dos experimentos. Não foram observadas entretanto, diferenças significativas para ambos os grupos etanol e sacarose 10%.

Tabela 7 e Figura 7: os resultados abaixo apresentam o fluxo urinário após administração de etanol e sacarose a 2,5%, 5% e 10%, durante 14 dias de tratamento. Os resultados são apresentados em (ml/min/100g de peso de rato) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses.

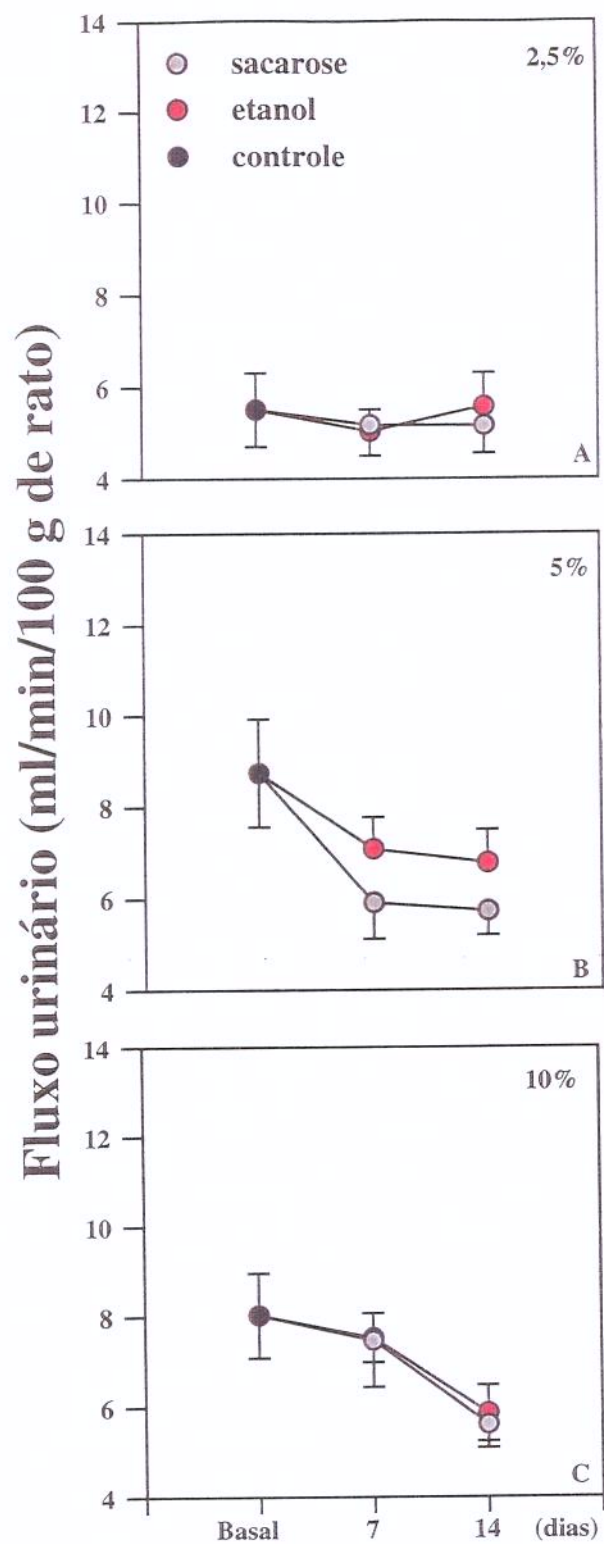


Figura 7: Fluxo Urinário (ml/min/100g de rato) - 15 horas

4.2.2. Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.

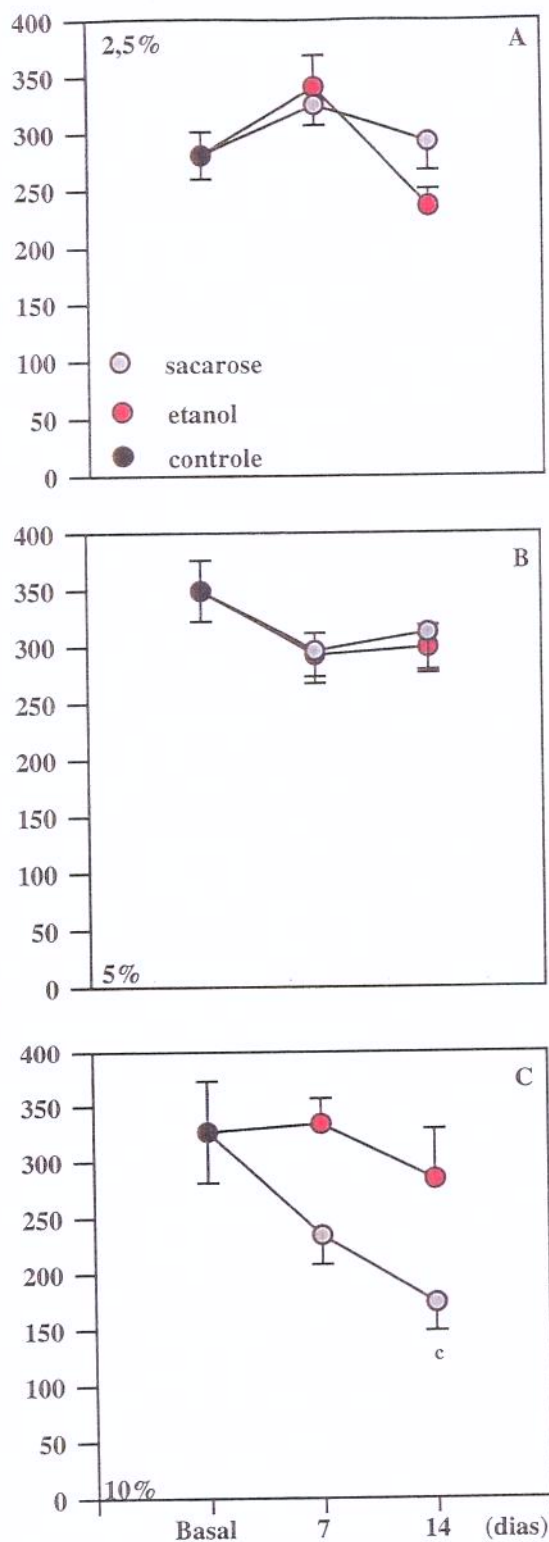
A excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) é apresentada nas figuras 8.A, 8.B, e 8.C.

A figura 8.A e 8.B apresenta os resultados de animais tratados com etanol e sacarose a 2,5% e 5% respectivamente, não havendo diferenças significativas entre os grupos.

Na figura 8.C, são apresentados os resultados após a administração de soluções de etanol e sacarose a 10%. A administração de sacarose a 10%, causa um declínio progressivo e significativo da $U_{Na}V$ até o 14º em comparação aos ratos tratados com etanol 10%.

Tabela 8 e Figura 8.: os resultados abaixo apresentam a excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) após a administração de etanol e sacarose 2,5%, 5% e 10% durante 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em ($\mu\text{Eq}/\text{min}/100\text{g}$ de rato) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre em parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos estão indicadas por: c- período basal vs sacarose 10%.

$U_{Na} V$ ($\mu Eq/min/100$ g de rato)



Legenda.:

c= período basal vs sacarose 10%

Figura 8: Excreção Urinária de Sódio ($U_{Na} V$) -15 horas

4.2.3. Excreção urinária de potássio (U_{KV}) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.

A administração de etanol ou sacarose 2,5% (figura 9.A) apresentou um transitório e significativo aumento da U_{KV} após 7 dias de tratamento, com declínio abaixo dos valores basais aos 14 dias. Os grupos comparados entre si não apresentaram diferenças significativas.

Na figura 9.B estão apresentados os valores relativos a administração de soluções a 5%, os quais também não apresentaram diferenças significativas.

A administração de etanol ou sacarose a 10% (9.C), promoveu um acentuado e persistente declínio na excreção urinária de potássio até o 14º dia quando comparados aos valores basais.

Tabela 9 e Figura 9: os resultados abaixo apresentam os valores para a excreção urinária de potássio (U_{KV}) após a administração de etanol ou sacarose a 2,5%, 5% e 10% em um período de 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em $\mu\text{Eq}/\text{min}/100\text{g}$ de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos estão indicados pelo (*) **a-** etanol vs sacarose; **b-** período basal vs etanol; **c-** período basal vs sacarose.

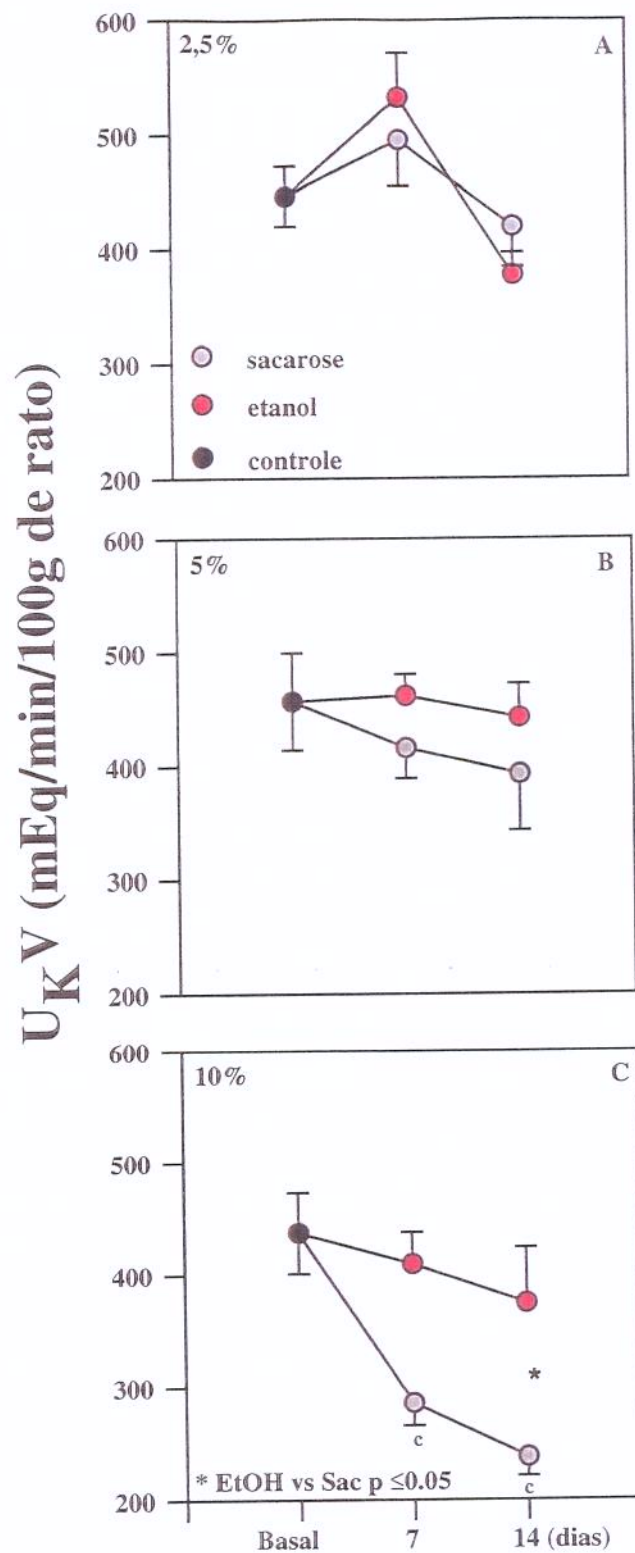


Figura 9: Excreção urinária de potássio ($U_K V$) - 15 horas

4.2.4. Fluxo urinário por minuto de animais dos grupos pair fed e suplementado, tratados com etanol e sacarose a 10%.

O fluxo urinário após a administração crônica de etanol e sacarose nos grupos pair fed (restrição calórica) e suplementado em ml/min/100g de rato, estão apresentados nas figuras 10.A e 10.B. Em ambos as situações não houve diferença significativa entre os grupos entre si e em relação aos valores basais durante todo o período experimental, embora haja uma pronunciada tendência antidiurética após a administração de sacarose.

Tabela 10 e Figura 10: os resultados abaixo apresentam o fluxo urinário após administração de etanol e sacarose a 2,5%, 5% e 10%. Os resultados são apresentados em ml/min/100g de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre em parênteses.

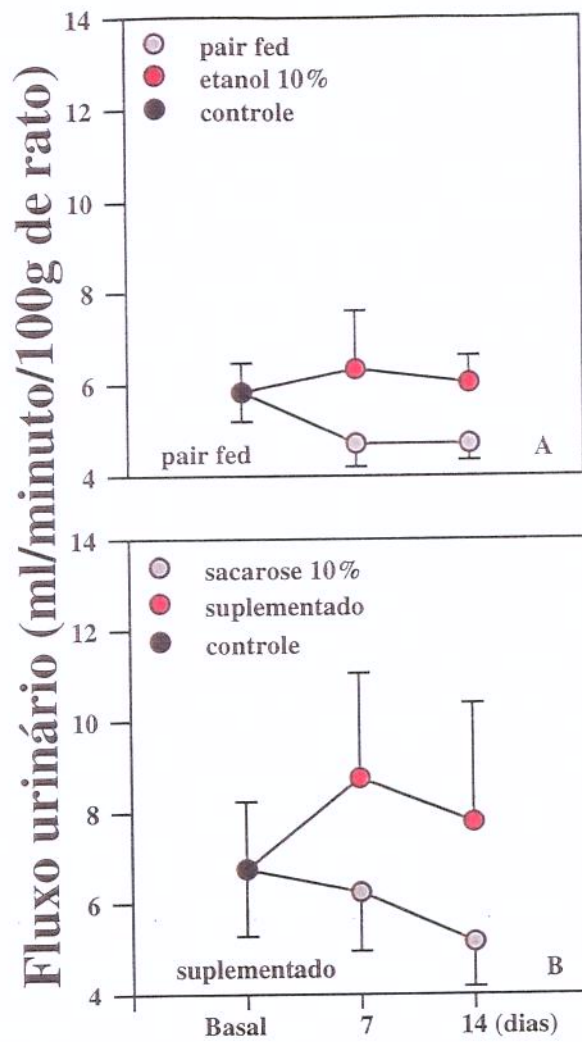


Figura 10: Fluxo Urinário (ml/min/100g de rato) - 15 horas

4.2.5. Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10%.- grupo pair fed e suplementado.

As figuras 11.A e 11.B apresentam a carga excretada de sódio ($U_{Na}V$), após a restrição (pair fed) ou suplementação calórica (suplementado).

A figura 11.A apresenta que após o tratamento com etanol e sacarose 10%, os grupos etanol 10% ou pair fed não apresentaram diferenças significativas durante todo o período experimental.

A figura 11.B, mostra o comportamento dos animais tratados com etanol mais suplementação calórica comparados àqueles tratados com sacarose 10%. A administração de sacarose 10% promoveu um declínio persistente e significativo $p \leq 0.05$ da excreção urinária de sódio em relação a excreção basal.

Tabela 11 e Figura 11: os resultados abaixo apresentam excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) nos grupos pair fed e suplementado após a administração etanol e sacarose a 10%. Os resultados estão apresentados em $\mu E/min/100g$ de peso de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre em parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos está indicada pelo (*); a- etanol vs sacarose; c- período basal vs sacarose.

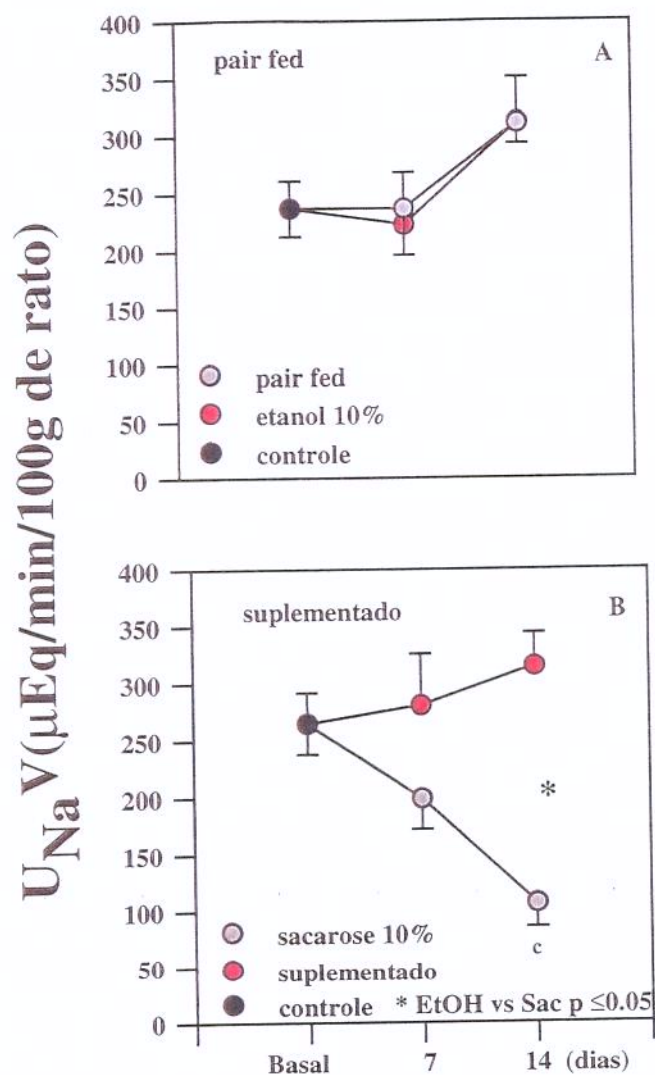


Figura 11: Excreção urinária de sódio ($U_{Na}V$) - 15 horas

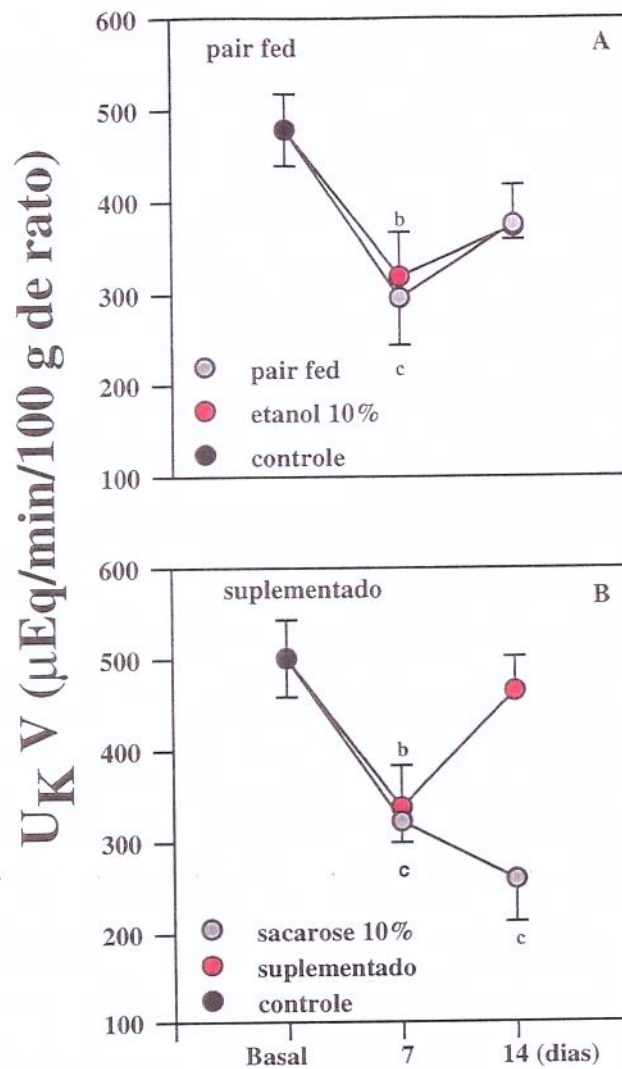
4.2.6. Excreção urinária de potássio (U_KV) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - grupo pair fed e suplementado.

A carga excretada de potássio (U_KV), para os grupos submetidos à restrição do aporte calórico (pair fed) e suplementado são apresentados nas figuras 12.A e 12.B.

A ingestão crônica de etanol 10% promoveu uma queda significativa na excreção urinária de potássio (figura 12.A), 7 dias após o início do tratamento quando comparados aos valores basais. Tal comportamento foi similar àquele evidenciado para o grupo pair fed.

A suplementação dietética dos animais tratados com etanol a 10% (figura 12.B), apresentou inicialmente uma pronunciada queda na U_KV aos 7 dias retornando a níveis de excreção próximos ao basal no 14º dia de tratamento. Por outro lado a anticaliurese foi persistente e significativa durante todo o período de tratamento no grupo sacarose a 10%.

Tabela 12 e Figura 12: os resultados abaixo apresentam a excreção urinária de potássio (U_KV) após a administração de etanol e sacarose a 10% nos grupos pair fed e suplementado durante 14 dias. Os resultados são apresentados $\mu\text{Eq}/\text{min}/100\text{g}$ de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância estatística $p \leq 0.05$ entre os grupos é indicada por: **b**- período basal vs etanol 10%; **c**- período basal vs sacarose 10%.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

c= período basal vs sacarose 10%

Figura 12: Excreção urinária de potássio ($U_K V$) - 15 horas

4.3. ESTUDO FUNCIONAL DO RIM - *CLEARANCES* DE CREATININA E LÍTIO

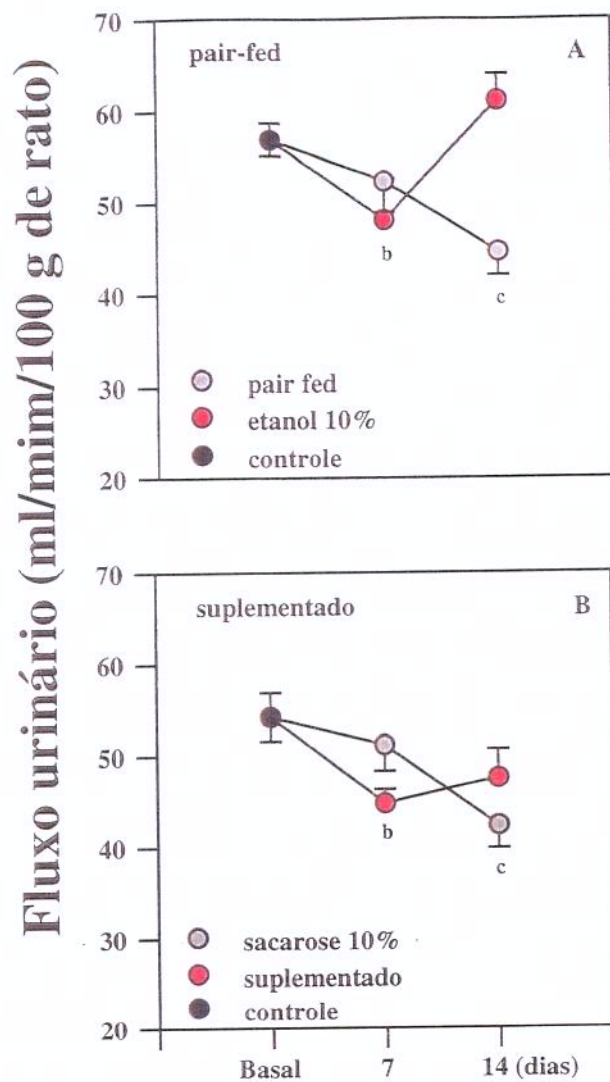
4.3.1. Fluxo urinário durante o estudo funcional de animais dos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

As figuras 13.A e 13.B, apresentam os valores para o fluxo urinário após a restrição de ração nos animais do grupo sacarose 10%, pair fed e após a suplementação dietética daqueles tratados com etanol a 10%.

O grupo pair fed apresentou declínio progressivo e significativo do fluxo urinário ($p \leq 0.05$) quando comparado aos valores basais, até o 14° dia de tratamento. Já nos animais tratados com etanol 10%, observa-se uma diminuição significativa do fluxo urinário até o 7° dia de tratamento quando comparados aos valores basais. Comparados entre si os grupos não apresentaram diferenças significativas.

A figura 13.B mostra que, os animais tratados com sacarose 10% apresentam uma diminuição sustentada do fluxo urinário, significativa no 14° dia experimental. Aqueles tratados com etanol 10% com suplementação alimentar, não mostram alterações significativas quando comparados ao grupo sacarose, embora haja um declínio progressivo e significativo do fluxo urinário após o 7° dia experimental quando relacionado aos valores basais.

Tabela 13 e Figura 13: os resultados abaixo apresentam os valores para o fluxo urinário durante o estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias após tratamento. Os resultados estão apresentados em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ está indicada por: **b-** período basal vs etanol. **c-** período basal vs sacarose.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

c= período basal vs sacarose 10%.

Figura 13: Fluxo urinário

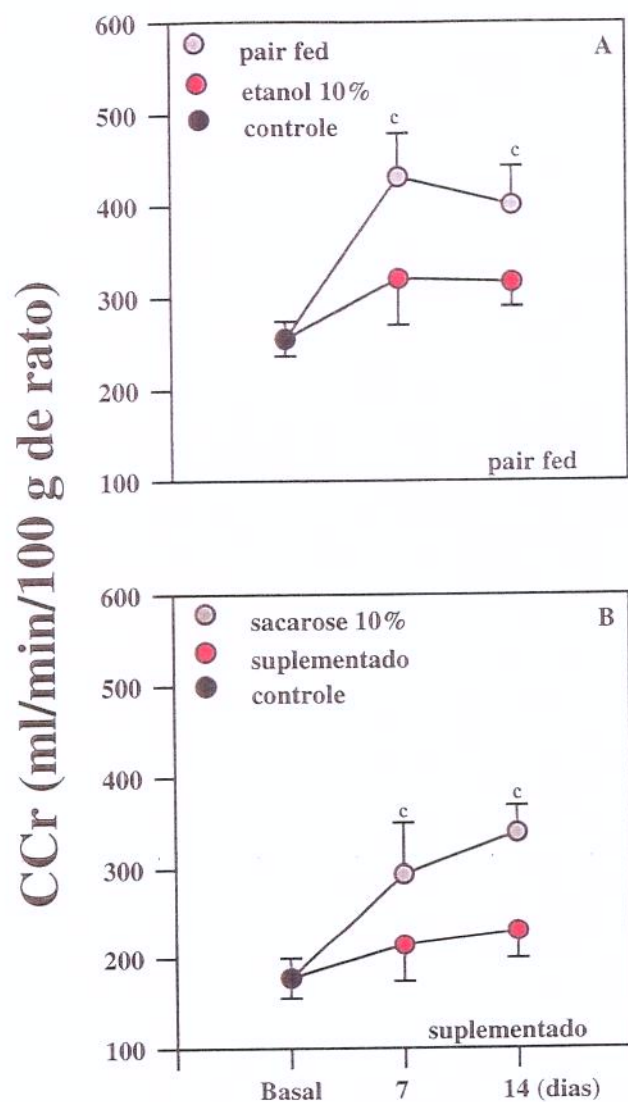
4.3.2. *Clearance* de creatinina (CCr) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

As figuras 14.A e 14.B, mostram os resultados obtidos para o *clearance* de creatinina nos diferentes grupos experimentais.

O grupo pair fed apresenta um aumento constante e significativo do *clearance* de creatinina aos 7 e aos 14 dias, quando comparados aos níveis basais. Quando comparado ao grupo etanol 10% não se observa alterações significativas. A administração de etanol 10% não promoveu modificações significativas no CCr.

A suplementação alimentar não modificou o comportamento do CCr em relação aos experimentos anteriores.

Tabela 14 e Figura 14: os resultados abaixo apresentam o *clearance* de creatinina durante o estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ está indicada por: c- período basal vs sacarose.



Legenda.:

c= período basal vs sacarose 10%.

Figura 14: Clearance de Creatinina (CCr).

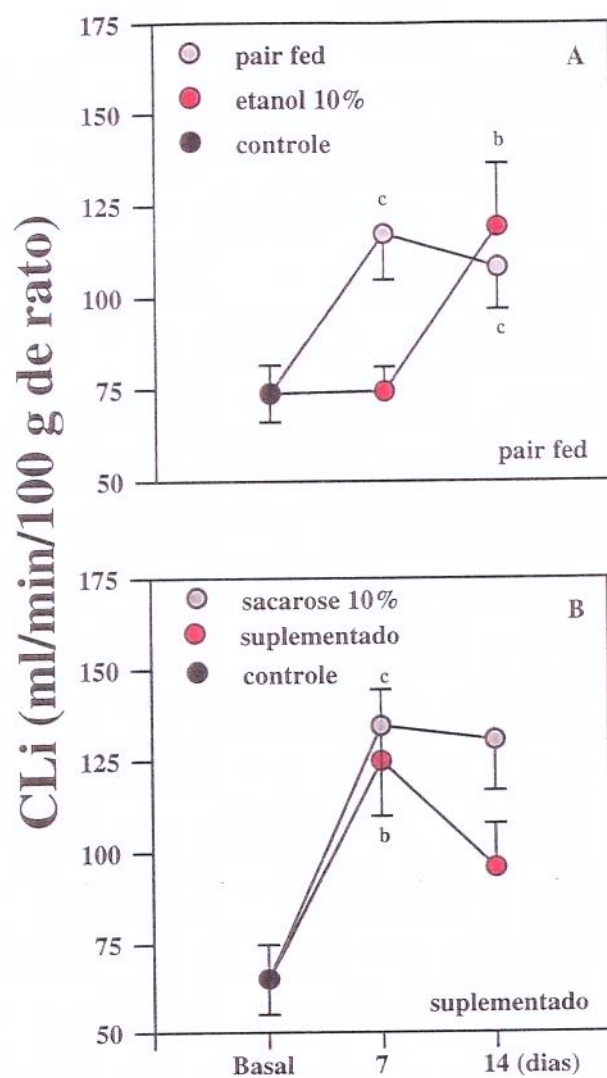
4.3.3. Clearance de lítio (CLi) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

O clearance de lítio observado nos grupos pair fed e suplementado está apresentado na figura 15. A e 15.B respectivamente.

Não foram observadas alterações significativas entre os grupos comparados entre si. Quando comparados aos valores basais os animais tratados com etanol 10%, apresentaram um aumento significativo do CLi após 14 dias de tratamento. Por outro lado, os animais pair fed apresentaram aumentos significativos do CLi aos 7 e 14 dias experimentais.

O grupo suplementado mostrou um comportamento similar ao grupo sacarose 10%. Quando comparados aos valores basais ambos os grupos apresentaram aumento significativo do CLi no 7° e 14° dia de tratamento.

Tabela 15 e Figura 15: os resultados abaixo apresentam os valores do *clearance* de lítio durante estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado 10%, nos períodos basal, 7 e 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ está indicada por **b**- período basal vs etanol; **c**- período basal vs sacarose.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

c= período basal vs sacarose 10%.

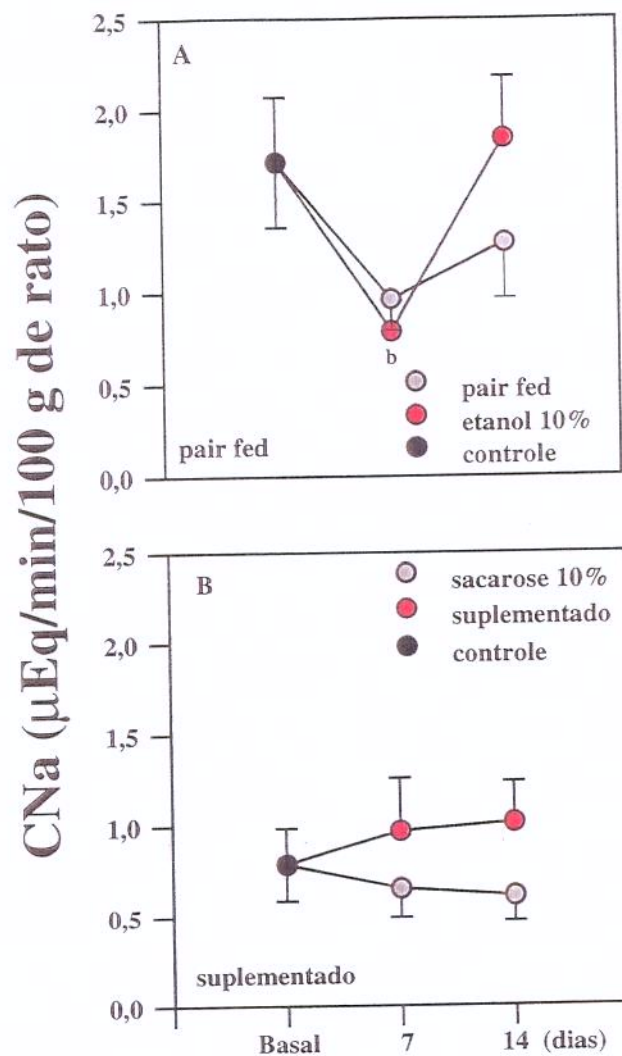
Figura 15: Clearance de Lítio (CLi).

4.3.4. *Clearance* de sódio (CNa) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

O *clearance* de sódio para os grupos estudados está apresentado na figura 16.A e 16.B. A figura 16.A, não mostra diferenças significativas nos comportamentos dos grupos etanol 10% ou pair fed. Quando comparados aos valores basais tanto o grupo etanol 10% quanto pair fed apresentaram uma diminuição significativa do CNa aos 7 dias de tratamento retornando a valores próximos aos basais no 14° dia experimental.

A figura 16.B mostra um comportamento similar entre o grupo sacarose 10% e os animais do grupo suplementado, em qualquer dos períodos experimentais.

Tabela 16 e Figura 16: os resultados abaixo apresentam os valores para o *clearance* de sódio durante o estudo funcional renal, nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em ml/min/100g de peso de rato como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ está indicada por **b**- o período basal vs etanol.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

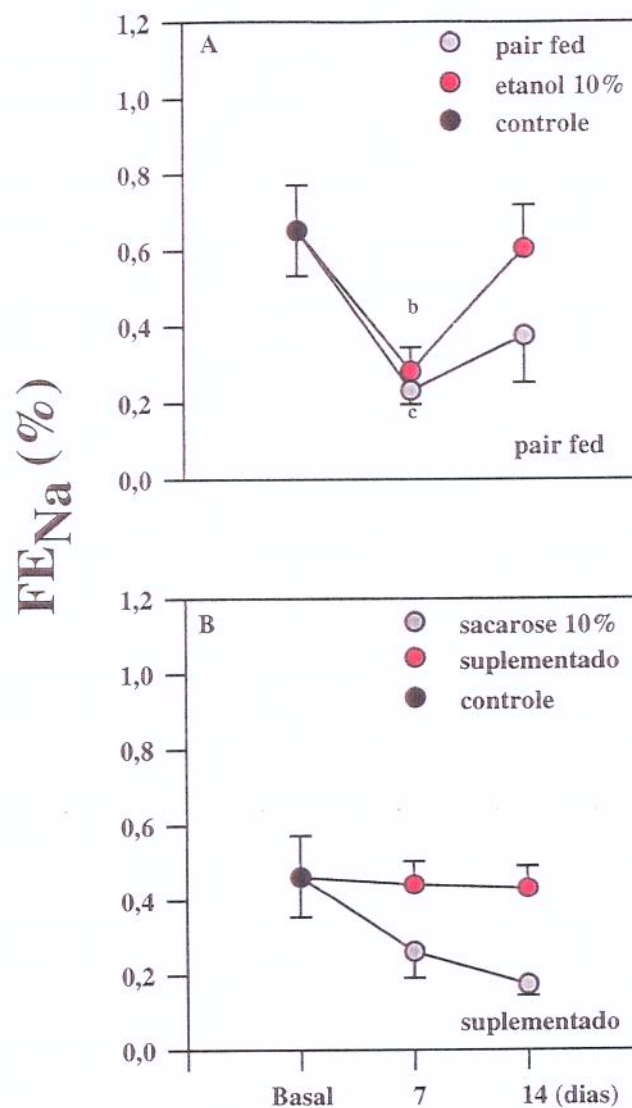
Figura 16: Clearance de Sódio (CNa)

4.3.5. Fração de excreção de sódio (FE_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

A Figura 17.A apresenta resultados similares para a FE_{Na} nos animais etanol 10% comparados ao grupo pair fed. Quando avaliada a excreção urinária basal ambos os grupos mostram uma diminuição significativa da FE_{Na} aos 7 dias de experimento, havendo um retorno aos valores basais no 14º dia de tratamento.

Após a suplementação alimentar não se observa alterações significativas da FE_{Na} no grupo suplementado, enquanto aqueles tratados com 10% apresentam uma diminuição progressiva da FE_{Na} , significativa após 14 dias de tratamento.

Tabela 17 e Figura 17: os resultados abaixo apresentam os valores para a fração de excreção de sódio durante o estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias após tratamento. Os resultados estão apresentados em (%) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos está indicada por: **b**- período basal vs etanol. **c**- período basal vs sacarose.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

c= período basal vs sacarose 10%.

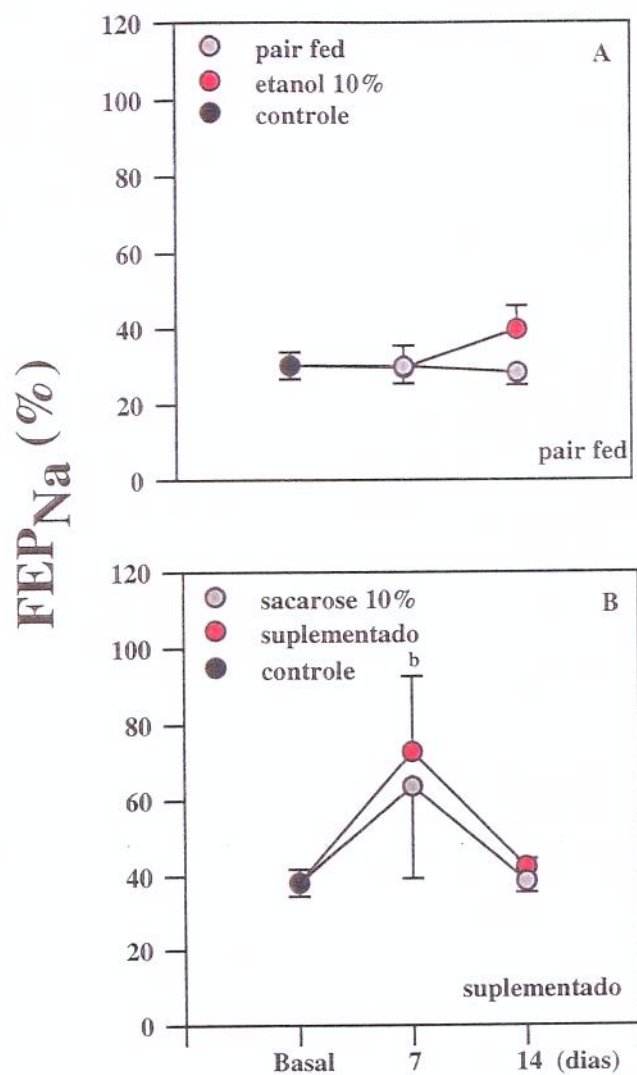
Figura 17: Fração de Excreção de Sódio (FE_{Na})

4.3.6. Fração de excreção proximal de sódio (FEP_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

O grupo pair fed apresentam uma rejeição proximal de sódio similar à observada nos animais tratados com etanol 10% (figura 18.A).

Após a suplementação alimentar observa-se uma elevação significativa na excreção proximal de sódio aos 7 dias após tratamento com etanol 10% comparados aos valores basais, sendo que esta excreção retornou a valores próximos aos basais no 14º dia, não foi observada diferenças significativas comparando os grupos entre si.

Tabela 18 e Figura 18: os resultados abaixo apresentam os valores para a fração de excreção proximal de sódio durante o estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em (%) pela média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos é indicada por: **b**- período basal vs etanol.



Legenda.:

b= período basal vs etanol 10%.

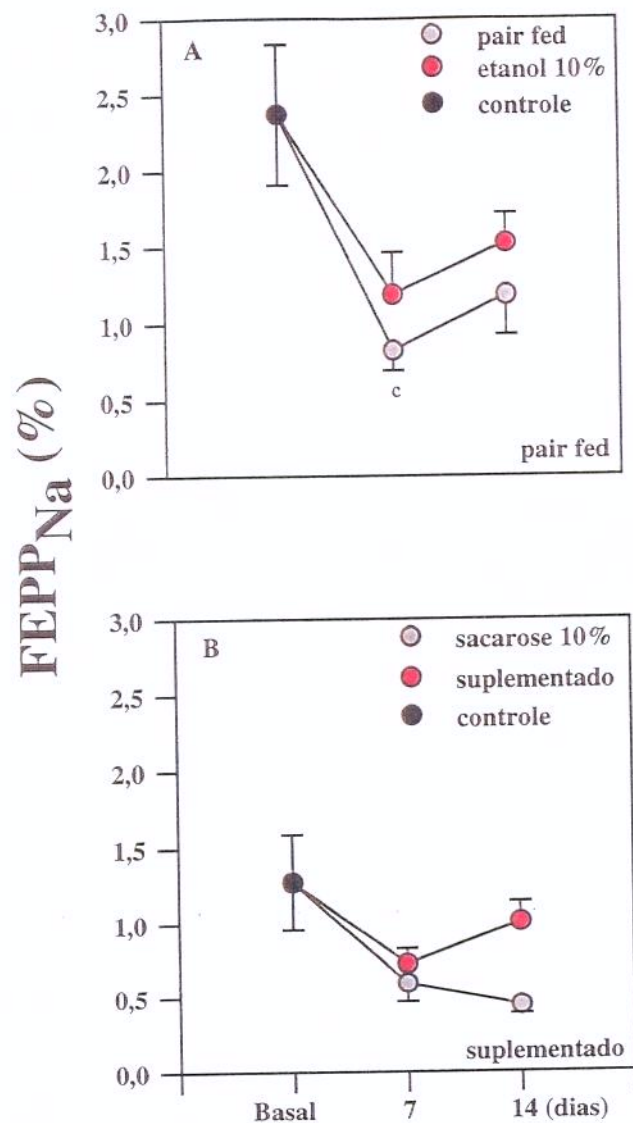
Figura 18: Fração de Excreção Proximal de Sódio (FEP_{Na}).

4.3.7. Fração de excreção pós-proximal de sódio (FEPP_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

O comportamento temporal para FEPP_{Na} (figura 19.A) foi similar quando comparados os grupos etanol 10% e pair fed. Uma diminuição significativa na FEPP_{Na} foi evidenciada para os dois grupos aos 7 dias, permanecendo abaixo da excreção basal no 14º dia experimental, embora não estatisticamente significativa.

Após a suplementação não foram identificadas alterações significativas entre os grupos ou em relação à excreção urinária basal.

Tabela 19 e Figura 19: os resultados abaixo apresentam os valores para a fração de excreção pós-proximal de sódio durante o estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias de tratamento. Os resultados estão apresentados em (%) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos estão apresentadas por: c- período basal vs sacarose.



Legenda.:

c= período basal vs sacarose 10%.

Figura 19: Fração de Excreção Pós-Proximal de Sódio (FEPP_{Na})

4.3.8. Fração de excreção de potássio (FE_K) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

A fração de excreção de potássio (FE_K) está apresentada nas figuras 20.A e 20.B. A figura 20.A, uma diferença significativa da FE_K para os grupos pair fed e etanol 10%. Os animais pair fed apresentam uma elevação significativa da fração de excreção de potássio aos 7 dias de tratamento em relação aos valores basal, retornando em seguida a valores próximos ao basal. Já o grupo etanol 10% embora haja uma tendência a queda da FE_K aos 7 dias após o tratamento, estes valores não são significativos em relação ao basal.

A figura 20.B mostra um aumento significativo da fração de excreção de potássio ao 7º dia experimental. Os animais tratados com sacarose 10% não apresentaram diferenças significativas em relação ao basal, 7º e 14º dias experimentais, embora significativamente diferente dos grupos suplementados.

Tabela 20 e Figura 20: os resultados abaixo apresentam os valores obtidos para a fração de excreção de potássio durante o estudo funcional renal nos grupos pair fed e suplementado no período basal, 7 e 14 dias após tratamento. Os resultados estão apresentados em (%) como média $\pm$ SEM. O número de animais de cada grupo é apresentado entre parênteses. A significância $p \leq 0.05$ entre os grupos está indicada por: *- etanol vs sacarose ; b- período basal vs etanol; c- período basal sacarose.

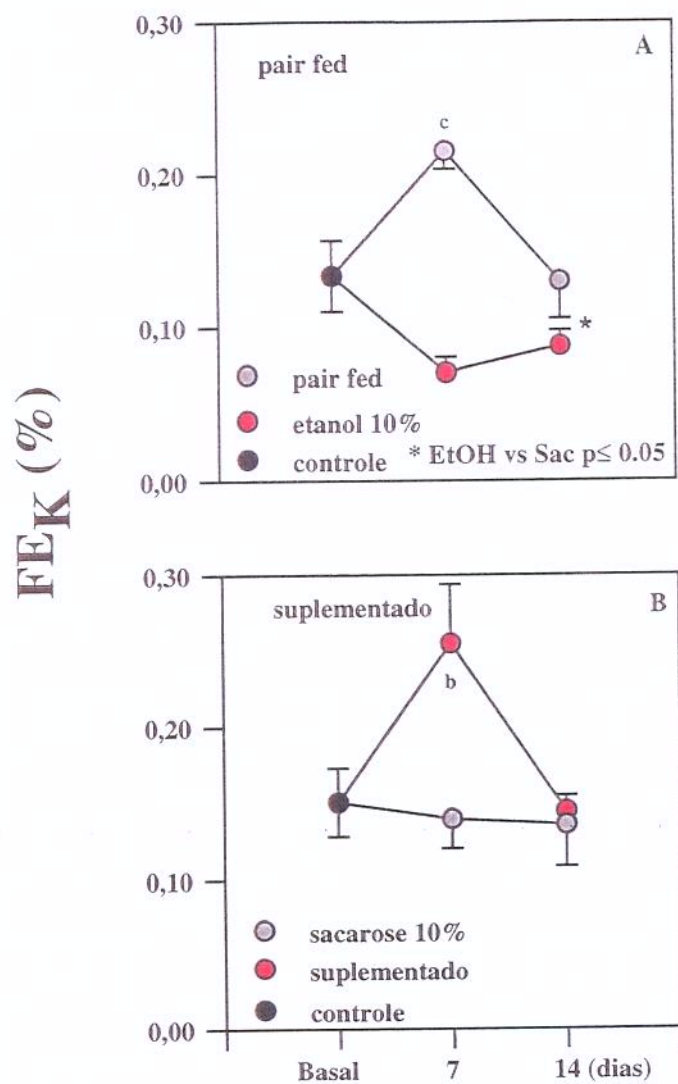


Figura 20: Fração de Excreção de Potássio (FE_K)



5. DISCUSSÃO

5.1 EVOLUÇÃO PONDERAL E DA PRESSÃO ARTERIAL EM ANIMAIS DO GRUPO *AD LIBITUM*, SUPLEMENTADO E PAIR FED, INGERINDO ETANOL 10% E SACAROSE 10%.

Estudos criteriosos sobre a evolução dia a dia da ingestão de etanol ou sacarose, sobre a evolução ponderal e da pressão arterial em ratos, não tem sido efetivamente realizado.

Para a definição da dose de etanol a ser utilizada experimentalmente, procedeu-se a determinação de uma curva dose-resposta. Os níveis séricos de etanol dos animais estudados (Figura 1) apresentaram-se próximos a 234 mg/dl (Shaffar & Stroupe, 1983) quando administrada a solução de etanol a 10% por via oral. Neste sentido, como mostra a literatura, a administração de uma solução de etanol a 10% foi considerada adequada para a promoção da intoxicação alcoólica nos animais do presente estudo. Em outros trabalhos, os níveis séricos de etanol mostram-se entre 144 mg/dl a 172 mg/dl (Tang & Falk 1986; Wigle et al., 1993)

Em animais tratados com solução de etanol a 10% durante o presente estudo foi constatada, uma diminuição significativa de massa corporal e renal como também, uma diminuição da ingestão diária de ração (Figuras 2.A, 5 e 3.A), quando comparados aos animais que ingeriram sacarose 10%.

Nos animais tratados com solução de etanol 10% também foram observados aumentos pressóricos transitórios significativos ao 3º, 4º e 5º dias de tratamento (Figura 4.A e Tabela 4.A), quando avaliados pelas medidas de pressão arterial caudal. Concomitantemente aos resultados apresentados observou-se ainda uma elevação nas concentrações plasmáticas de corticosterona (Figura 6) como citado em outros estudos (Rivier, Imaki, Vale, 1990).

Para o grupo suplementado, onde foi administrada uma solução equicalórica e eletrolítica, seguida da administração de etanol 10%, a suplementação dietética não conseguiu reverter à perda de massa corporal, embora tenha conseguido minimizar a redução da massa renal, quando comparado aos animais tratados com sacarose 10%. Os aumentos pressóricos também não foram atenuados pela suplementação dietética.

Estes resultados em que a administração do etanol a 10% promove uma diminuição significativa da ingestão sólida diária seguida por uma perda de massa corporal nos animais, confirmam alguns estudos realizados anteriormente (Hsieh et al., 1992; Leibel et al., 1993).

Estudos prévios (Rothman, 1992; Rodrigo & Thielemann, 1997) tem mostrado que a ingestão de etanol pode atuar sobre a estrutura e a função renal promovendo principalmente uma hipertrofia, associada à modificação na função tubular, em alguns modelos experimentais. As observações relativas a uma redução da massa renal no presente estudo, são contrárias a observações da literatura. No entanto, a administração suplementar calórica conseguiu por sua vez minimizar a perda de massa renal, promovida pelo tratamento com solução de etanol 10% embora não revertesse a redução da massa corporal e a hipofagia induzida pelo etanol (Wigle et al., 1993).

Estudos sugerem (Assadi, 1989; Hsieh et al., 1992; Wigle et al., 1993; Steiner et al., 1997; Stewart & Kennedy, 1999), que a diminuição da massa corporal após a administração de etanol em ratos, seja independente da menor ingestão calórica observada. Aventa-se a possibilidade que o etanol promova alterações humorais, estimulando a liberação de CRH (hormônio de liberação de corticotropina) (Randim et al., 1995). Este aumento de CRH por sua vez, pode elevar os níveis de glicocorticóides produzidos pelo córtex adrenal nos animais, através de um aumento da secreção hipotalâmica-hipofisária de ACTH (Lee & Rivier, 1995; Steiner et al., 1997). Tais observações são comprovadas em nosso estudo, sendo evidenciado um aumento persistente dos níveis de corticosterona sérica nos animais tratados com etanol 10%.

A elevação de CRH juntamente ao aumento de corticosterona, poderia promover modificações do apetite destes animais bem como propiciar um desequilíbrio hipercatabólico, pela diminuição da massa corporal e renal e ainda colaborar para os aumentos pressóricos transitórios, como sugerido em alguns achados (Knich & Prohaska, 1981; Randim et al., 1995).

Por outro lado, os animais tratados com solução de sacarose e com livre acesso a dieta para ratos apresentaram também, uma evidente diminuição na ingestão de ração sólida. Por outro lado, apresentaram um significativo acréscimo nas massas corporal e renal (Figuras 2.A, 5 e 3.A). Estudos sugerem (Alavi, Zawada, Simons, 1995) que a ingestão crônica de sacarose induz a uma hipertrofia renal. Mecanismos relacionados a hiperfiltração e também a um aumento da pressão de ultrafiltração glomerular, podem estar envolvidos neste crescimento renal, induzido.

Os efeitos observados após a administração de sacarose no presente estudo provavelmente estejam, pelo menos em parte, relacionados a um aumento da secreção de fatores humorais. Tais modificações poderiam causar aumentos séricos de insulina e outros fatores de crescimento. O efeito da ingestão crônica de sacarose também tem sido relacionado a hiperinsulinemia observada, a uma resistência periférica à insulina induzida (Jawahar, Daksshinamurti, Thliveris, 1996). O aumento na ingestão de um carboidrato como a sacarose combinada a um efeito lipogênico da insulina, poderiam justificar o aumento da massa corporal e renal e ainda a elevação pressórica nestes animais (Uchida et al., 1997).

Por sua vez, um aumento na atividade simpática não pode ser excluído. Um possível aumento na atividade simpática é considerado por alguns autores (Overton, VanNess, Casto, 1997) como um elo entre a regulação homeostática do peso corporal e aos aumentos pressóricos em animais. A restrição calórica promovida nos animais tratados com sacarose 10% do grupo pair fed, conseguiu retardar o ganho de massa renal e corporal, corroborando os nossos resultados e de alguns outros achados (Johnson, Zhang, Katchen, 1993; Eiam-Ong & Sabatini, 1999).

Confirmando observações prévias (Alavi, Zawada, Simons, 1995), a restrição calórica atenuou a elevação pressórica nos animais tratados com sacarose, quando avaliados pelas medidas de pressão arterial caudal. Esta atenuação foi igualmente demonstrada em ratos tratados com sacarose e recebendo dieta com restrição principalmente de sódio (Jonhson et al., 1993). Outros autores (Overton et al., 1997; Eiam-Ong & Sabatini, 1999) têm associado esta diminuição dos níveis pressóricos a uma diminuição ponderal dos animais em estudo.

Neste sentido fica evidente o impacto da ingestão de sacarose sobre o ganho ponderal como também sobre os aumentos da pressão arterial sistêmica. Todavia, o efeito da sacarose parece potencializar os aumentos nos níveis pressóricos, quando associada a dietas com concentrações normais ou elevadas de sódio em ratos.

5.2. EXCREÇÃO RENAL DE SÓDIO E FLUXO URINÁRIO EM ANIMAIS DO GRUPO *AD LIBITUM*, SUPLEMENTADO E PAIR FED INGERINDO ETANOL 10% E SACAROSE 10%.

Durante todo o experimento os animais tratados com as soluções de etanol 2,5%, 5% e 10% (curva dose-resposta), não apresentaram alterações significativas no fluxo urinário por minuto, na $U_{Na}V$ e U_KV quando comparado, ao período basal e ao grupo sacarose. Esses resultados são coerentes com aqueles observados em alguns estudos realizados em humanos (De Marchi et al., 1993) ou em coelhos (Zawada, Johnson, Sica, 1995).

Porém, quando os animais foram tratados com etanol 10% e receberam simultaneamente suplementação dietética e calórica, estes apresentaram uma diminuição transitória mas significativa na U_KV aos 7 dias de tratamento (Figura 12.B), sem que houvesse modificações significativas na $U_{Na}V$ (Figura 11.B).

Por conta disto, nossos resultados confirmam outros estudos onde estes sugerem que a administração de etanol induz modificações transitórias na manipulação renal de potássio (Eiser, 1987; De Marchi et al., 1993; Ishigami et al., 1997) todavia, para os resultados nos diferentes estudos existem controvérsias. Alguns achados sugerem que a administração de etanol poderia induzir a modificações transitórias na manipulação de potássio, promovendo a reabsorção deste íon ao longo do túbulo distal e no túbulo coletor (Assadi et al., 1991). Contudo, outros estudos (Eiser, 1987; De Marchi et al., 1993; Ishigami et al., 1997) sugerem que o etanol poderia levar a um aumento na excreção deste mesmo íon.

Em nossos experimentos animais tratados com sacarose 2,5%, 5% não apresentaram alterações no manuseio tubular renal de sódio e potássio. Porém, aqueles animais tratados com sacarose 10% e com livre acesso a ração, apresentam uma diminuição sustentada e significativa na $U_{Na}V$ e também da U_KV , bem como no fluxo urinário por minuto.

Por outro lado, quando os animais tratados com sacarose 10% foram submetidos à restrição calórica e avaliados, não se observaram alterações significativas para a $U_{Na}V$ e para o fluxo urinário por minuto. Porém, a U_KV nesses animais, apresentou uma diminuição transitória mas significativa (Figura 12.A).

A administração de sacarose associada à ingestão *ad libitum* de ração no presente experimento parece promover o aumento da reabsorção de sódio e potássio ao longo do néfron, como sugerido em alguns estudos (Johnson et al., 1993). Este aumento na reabsorção de sódio deve ter promovido simultaneamente uma elevação na reabsorção tubular de água pelos diversos segmentos tubulares renais. Este aumento na retenção hidrossalina pode ser um dos fatores contribuintes para o aumento do peso ponderal como acima descrito nestes animais. Entretanto, este efeito foi atenuado, quando os animais foram submetidos à restrição da ingestão calórica e eletrolítica (pair fed) (Figura 10.A e 11.A), efeito também constatado em outros achados (Johnson et al., 1993)

Assim, os resultados obtidos sugerem a influência da ingestão dietética sobre o transporte de água e íons pelos rins em animais tratados com sacarose.

Algumas observações anteriores (Johnson et al., 1993) mostram que o aumento da atividade simpática, bem como de fatores humorais plasmáticos (hiperinsulinemia), poderiam estar relacionados às alterações renais acima observadas.

5.3. MANUSEIO TUBULAR RENAL DE SÓDIO, AVALIADO PELOS *CLEARANCES* DE CREATININA E LÍTIO, DE ANIMAIS DOS GRUPOS SUPLEMENTADO E PAIR FED, TRATADOS COM SOLUÇÕES DE ETANOL 10% E SACAROSE A 10%.

No presente trabalho, as provas funcionais renais tiveram como objetivo quantificar e estabelecer o sítio de manipulação hidrossalina nos diferentes segmentos do néfron após a administração de etanol ou sacarose e, se aquelas refletiram uma ação coordenada dos vários segmentos do néfron.

O processo de filtração glomerular foi estimado pelos *clearance* de creatinina e o manuseio tubular renal de sódio foi avaliado pelo *clearance* de lítio. Baseado na técnica do *clearance* de lítio, acredita-se que este íon após sua filtração seja absorvido proporcionalmente à absorção de sódio e água nos segmentos proximais do néfron, permanecendo inalterada a partir deste sítio a massa de íons que transita pelo néfron em direção aos segmentos mais distais deste, como relatado em alguns estudos (Evert, 1990).

Confirmando observações prévias (Assadi, 1989; De Marchi et al., 1993; Rodrigo & Thielemann, 1997), em animais tratados com etanol 10% após a suplementação calórica, não foi evidenciada qualquer modificação significativa na filtração glomerular, quando estimada pelo *clearance* de creatinina (CCr) (Figura 14.B). Nestes mesmos animais, pela prova de depuração do lítio foi evidenciada aos 7 dias de tratamento uma diminuição do fluxo urinário (Figura 13.B), um aumento na fração de excreção proximal de sódio (Figura 18.B), paralelo ao aumento no *clearance* de lítio (Figura 15.B). Apresentaram ainda, um aumento na fração de excreção de potássio (Figura 20.B). Não foram observadas alterações para o *clearance* de sódio (Figura 16.B), fração de excreção de sódio (Figura 17.B) ou ainda, para a fração de excreção pós-proximal de sódio (Figura 19.B), em animais tratados com etanol e suplementados. O aumento significativo da fração de excreção de potássio (FE_K) nestes animais, poderia relacionar-se a uma elevação do fluxo intratubular ou do aporte distal de sódio. Modificações na manipulação renal de sódio têm sido associadas a um aumento na reabsorção tubular de água nos diversos segmentos tubulares renais como observado em alguns achados (Vamvakas et al., 1998). Estudos anteriores também comprovam, que a administração de etanol pode modificar o manuseio de potássio

pelos segmentos distais e coletores do néfron (Eiser, 1987; De Marchi et al., 1993; Ishigami et al., 1997).

Por outro lado, em animais tratados com etanol e não suplementados houve uma diminuição transitória do fluxo urinário quando comparado aos níveis basais (Figura 13.A). Estes animais apresentaram ainda, uma diminuição transitória aos 7 dias pós-tratamento da fração de excreção de sódio (Figura 17.A) e uma tendência à diminuição aos 7 e 14 dias pós-tratamento da fração de excreção pós-proximal (Figura 19.A), sem alterações significativas da fração de excreção proximal de sódio (Figura 18.A) e acompanhada de uma reabsorção de potássio (Figura 20.A). Estes resultados sugerem que a administração de etanol 10% em animais não suplementados, promove uma diminuição transitória na fração de excreção de sódio principalmente relacionada a uma reabsorção pós-proximal. Assim, uma maior rejeição proximal de sódio poderia levar a um aumento do aporte pós-proximal, o que estimularia uma reabsorção compensatória deste íon nestes segmentos do néfron. Paralelamente, este aumento na reabsorção de sódio promoveria uma elevação na reabsorção tubular de água pelos diversos segmentos tubulares renais, como citado anteriormente.

Nosso trabalho não confirma alguns achados, relatando um efeito natriurético em animais tratados com solução de etanol (Rodrigo, Novoa, Granata, 1993) ou ainda, um aumento na reabsorção proximal de sódio, induzida após o tratamento com etanol (Rodrigo & Thielemann, 1997).

Os resultados apresentados até aqui podem evidenciar que a ingestão de etanol por duas semanas, poderia causar uma anormalidade tubular renal generalizada, envolvendo diferentes segmentos do néfron, independente da filtração glomerular como sugerem outros estudos (Assadi, 1989; Rodrigo, Novoa, Granata, 1993; De Marchi et al., 1993; Carney, Gillies, Ray, 1995).

Alguns mecanismos poderiam ser citados como possíveis responsáveis pelas alterações renais após o uso de etanol. Existe a possibilidade, que a administração de etanol aumente a atividade nervosa simpática. Estudos (Ibsen et al., 1981; Borne et al., 1997) mostram que a administração de etanol no hipotálamo anterior promove o aumento da atividade simpática, associado a um aumento pressórico. O etanol ainda, promovendo

aumento nos níveis de corticosterona sérica (Randim et al., 1995), como pode ser comprovado em nosso estudo, através da liberação central de CRH conseqüentemente exerceriam junto um efeito simpatoexcitatório (Randim et al., 1995). Assim, outras possíveis alterações humorais da intoxicação alcoólica por duas semanas poderiam ser propostas, o que envolveria também o balanço hidro-eletrolítico. O presente trabalho sugere ainda, que a ingestão de etanol 10% poderia promover uma ação adrenal direta com um aumento nos níveis de corticosterona e de outros mineralocorticóides ou glicocorticóides nestes animais, como em outros achados (Tang & Falk, 1986; Wigle et al., 1993).

Por outro lado, tem sido observado um aumento da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona após a intoxicação alcoólica crônica. Esta possibilidade poderia ser decorrente secundariamente a um aumento da atividade simpática pelo uso de etanol (Suzuki et al., 1996).

Tem sido observado que modificações do equilíbrio hidro-eletrolítico principalmente resultando na diminuição da excreção urinária de sódio e potássio, seguidos de aumentos pressóricos seriam possíveis resultados do uso crônico de etanol (Borne et al., 1997), entretanto nossos resultados não confirmam tais achados.

A deficiência nutricional em animais tratados com etanol é citada na literatura, como um dos possíveis responsáveis por desequilíbrios eletrolíticos e pressóricos em animais (Tang & Falk, 1986; Wigle et al., 1993; Carney, Gillies, Ray, 1995). No entanto, a suplementação dietética nos animais tratados com etanol, não conseguiu minimizar eficientemente os aumentos pressóricos transitórios, porém significativos (Tabela 4). Todavia, estas alterações pressóricas poderiam ser decorrentes de um efeito direto do etanol ou secundários a uma excitação simpática, independente do estado nutricional dos animais.

Os resultados apresentados para os animais tratados com solução de sacarose e submetidos à restrição calórica (pair fed) evidenciaram algumas alterações que merecem ser enfatizadas. Neste grupo, verificou-se um aumento significativo na taxa de filtração glomerular, estimada pelo *clearance* de creatinina. Paralelamente, foi demonstrado um significativo aumento do *clearance* de lítio. Elevações similares na filtração glomerular após o tratamento com sacarose foram previamente demonstrados (Suzuki et al., 1996).

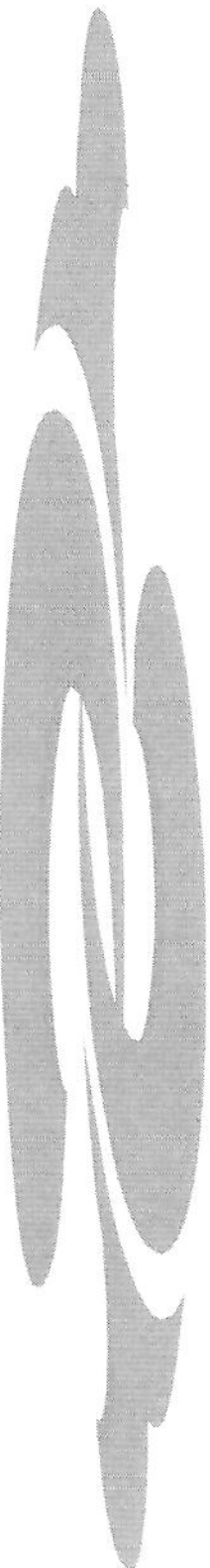
Estas alterações associadas do *clearance* de creatinina e de lítio poderiam justificar a ausência de modificação na FEP_{Na} calculada.

Por outro lado, apesar da ausência de modificações na FEP_{Na} em nossos experimentos, foi identificada uma diminuição na fração de excreção de sódio (FE_{Na}), como resultado de uma diminuição significativa da fração de excreção pós-proximal deste íon ($FEPP_{Na}$). Esta diminuição da rejeição distal de sódio ocorreu paralelamente a um aumento na fração de excreção de potássio (FE_K). É altamente provável que aumentos nos níveis séricos de mineralocorticóides possam estar envolvidos neste mecanismo reabsortivo, pois estes aumentam a reabsorção pós-proximal de sódio principalmente em animais submetidos a dietas com reduzidas concentrações de sódio (Uchida et al., 1997). Esta reabsorção tubular pós-proximal poderia então colaborar para o restabelecimento compensatório homeostático do balanço hidro-salino (Assadi, 1989; De Marchi et al., 1993).

Estes resultados evidenciam que o tratamento por duas semanas com sacarose 10% em condições de restrição calórica (pair fed), altera a manipulação tubular de sódio representada aqui por uma diminuição significativa na fração de excreção total deste íon (FE_{Na}). O pronunciado aumento na FE_K sugere que este efeito sobre a manipulação pós-proximal de sódio ocorre principalmente em sítios distais à alça de Henle.

Alguns estudos sugerem que a administração crônica de sacarose associada a uma dieta equilibrada em ratos, promove um aumento da atividade nervosa simpática via hipotalâmica, resistência à insulina e um efeito antinatriurético insulínico sobre os túbulos renais (Johnson, Zhang, Katchen, 1993). Este aumento na atividade simpática associada a uma expansão do volume extracelular promovida pela sacarose, contribuiria para as elevações pressóricas observadas neste trabalho (Overton, VanNess, Casto, 1997).

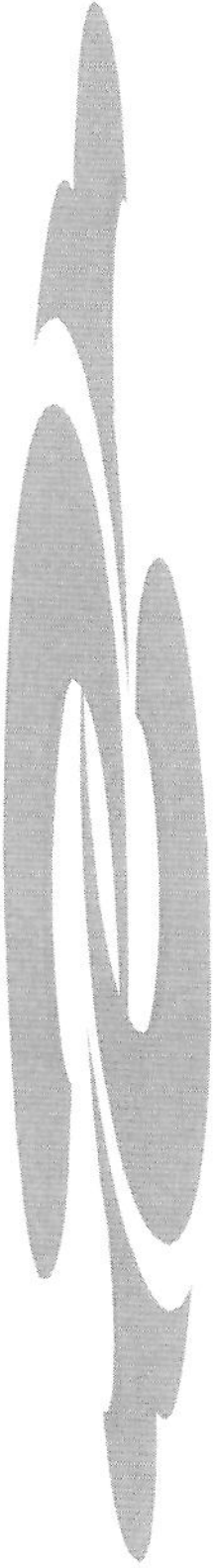
O presente estudo demonstra, que a administração de sacarose não promove hipertensão em ratos submetidos à restrição calórica. As modificações tubulares associadas aos aumentos pressóricos promovidos pela sacarose, parecem estar relacionados principalmente à ingestão excessiva de carboidratos e particularmente como consequência desta, a uma elevação na reabsorção tubular de sódio.



6. CONCLUSÃO

- Os animais tratados com solução de etanol 10% e com livre acesso a ração apresentam uma diminuição da massa corporal, da massa renal como também, da ingestão diária de ração. Apresentam ainda, aumentos transitórios nos níveis pressóricos e nos níveis de corticosterona sérica.
- Quando administrada uma suplementação calórica e eletrolítica aos animais tratados com etanol 10%, esta suplementação não atenua a perda de massa corporal e os aumentos nos níveis pressóricos.
- Os animais tratados soluções de etanol a 2,5%, 5% e 10% (curva dose-resposta), não apresentam alterações significativas do fluxo urinário por minuto ou na excreção urinária de sódio e potássio nas diferentes soluções
- A solução de etanol 10% atua no néfron estimulando a reabsorção de potássio ao longo do túbulo distal e coletor, quando os animais são mantidos em condições eletrolíticas adequadas. Contudo, não há modificações na filtração glomerular, nestas mesmas condições.
- A solução de etanol 10% quando administrada por duas semanas em animais não suplementados promove uma ação anti-natriurética principalmente relacionada a uma tendência do aumento na reabsorção pós-proximal de sódio.
- O tratamento com sacarose 10% para os animais com o acesso livre a ração promove uma diminuição na ingestão de ração, embora cause um ganho na massa corporal e renal. Apresentam ainda, aumentos nos níveis de corticosterona sérica e pressóricos.
- Quando os animais são submetidos à restrição calórica e tratados com sacarose 10%, há um retardo no ganho de massa renal e corporal como também nos níveis pressóricos.
- Os animais tratados com sacarose 2,5 e 5% não apresentam alterações na manipulação renal de sódio ou potássio bem como também do fluxo urinário.

- Em animais tratados com sacarose 10% e livre acesso à ração, observou-se uma diminuição progressiva e significativa na excreção urinária de sódio e potássio e do fluxo urinário.
- Quando os animais tratados com sacarose 10% foram submetidos à restrição calórica, houve apenas uma diminuição transitória mas significativa para excreção urinária de potássio.
- Nos animais tratados com solução de sacarose porém submetidos à restrição calórica as provas funcionais renais demonstram um aumento na filtração glomerular e na reabsorção de sódio, seguida de diminuição de potássio principalmente a nível tubular pós-proximal.
- O efeito da ingestão de sacarose parece potencializar os aumentos nos níveis pressóricos associada a modificações tubulares em dietas com níveis normais principalmente de sódio em ratos.



7. SUMMARY

There is a surprising lack of experimental data on the mechanisms of ethanol-induced disturbances in blood pressure and renal sodium handling. Current evidences suggests that effects of ethyl alcohol on kidney function partly depend on influencing plasma concentrations of ethanol and corticosterone. The present study was undertaken to investigate the effects of two-weeks ethanol (3.25, 6.5 and 13 g ethanol/kg/day) intake on tubule sodium handling and arterial blood pressure of unanesthetized, unrestrained rats and their non-alcohol-treated controls. To evaluate the ethanol effect on blood pressure and renal function, we compared three distinct groups of (n=10 each) of Wistar-Hannover (weighting between 180-250 g) rats 1) sucrose-treated, 2) ethanol-treated and 3) pair-fed rats. Separate groups of rats were housed individually in standard stainless-steel cages in temperature and humidity controlled room with a 12-h light-dark cycle. The experiments consisted of one control week followed by two weeks of oral administration of 2.5 5.0 and 10 % ethyl alcohol or at same concentration of sucrose solutions twice a day by gavage. Arterial pressure was estimated electrosphygmomanometry and renal function tests were performed in individual metabolic cages 7 and 14 days after the beginning of ethyl alcohol or sucrose administration by creatinine and lithium clearances.

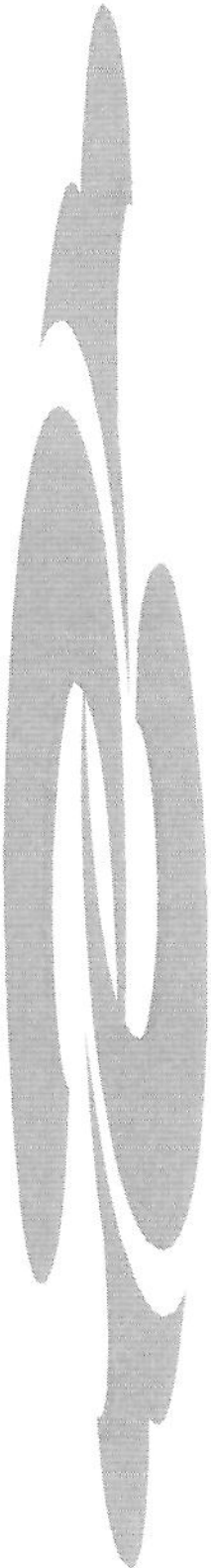
The basal blood pressure was not significantly different among the three groups (124.1 ± 0.5 mmHg). At first week, arterial pressure was significantly increased in ethanol and sucrose-treated rats compared with the pair-fed group reaching respectively, in ethanol-treated: 135.6 ± 10.5 mmHg and sucrose-treated: 146.4 ± 4.2 mmHg by day 3 compared to 118.6 ± 2.4 mmHg in pair-fed rats ($p < 0.05$) (Fig. 1). The arterial pressure did not change significantly in the all groups during the second week of the study.

The data from the renal function studies in the three experimental groups are shown in Figure 2. The urinary flow rates did not differ significantly among the groups throughout of renal tubule sodium handling. The glomerular filtration rate estimated by creatinine clearance (CCr), increase significantly from 255.9 ± 18.8 $\mu\text{l}/\text{min}/100$ g b.w. to 320.8 ± 50.3 $\mu\text{l}/\text{min}/100$ g b.w. and to 317 ± 26.3 $\mu\text{l}/\text{min}/100$ g b.w. in food-restricted (pair-fed) by the first and second week, respectively, compared to the basal level and ethanol and sucrose-treated groups ($p < 0.01$). Nevertheless, no significant changes in creatinine clearance were observed in the ethanol-treated and sucrose groups compared to the basal estimated glomerular filtration rate.

The basal renal fractional sodium and potassium excretion did not differ among the experimental groups. Ethanol and sucrose oral administration cause a sustained and significant decrease in fractional renal sodium (FE_{Na^+}) excretion by the 7th day post-treatment, returning near to basal values until the 14th day just in ethanol-treated animals. The decreased fractional urinary sodium excretion was accompanied by a significant fall in post-proximal sodium excretion by the 7th day in all groups remaining above the basal values until the 14th day post-treatment. In contrast to sucrose-treated rats data, there was no change in fractional urinary sodium excretion by the 14th day after ethyl alcohol oral administration, although by this time the proximal tubular sodium reabsorption was strikingly depressed which in both groups coinciding with an increased lithium clearance. The FEP_{Na^+} remaining unaltered in pair-fed animals by the 14th day compared to basal values.

In conclusion, the observations from the current study suggest that chronic ethanol consumption not only increases plasma corticosterone levels in a dose-dependent fashion, but also affects transiently blood pressure and renal function. This study highlights the necessity for further investigations on possible mechanisms involved in functional ethanol-kidney interaction.

Key words: Renal function, blood pressure, ethanol, natriuresis, and lithium clearance.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdel-Rahman, A-R.A.; Dar, M.S.; Wooles, W.R. - Effect of chronic ethanol 2 administration on arterial baroreceptor function and pressor and depressor responsiveness in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **232** (suppl. 1): 194-201, 1984.
2. Alavi, F.K.; Zawada, E.T.; Simmons, J.L. - Renal hemodynamic and histological consequences of diets high in unsaturated fat, protein or sucrose in obese Zucker rats. **Clinical Nephrology**, **43** (suppl. 2) : 122-130, 1995.
3. Altura, B.M.; Ogunkoya, A.; Gabrewold, A.; Altura, B.J. - Effects of ethanol on terminal arteriolar and muscular venules. Direct observations on the microcirculation. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, **1** : 97-113, 1979.
4. Assadi, F.K. - Acute effect of ethanol on renal electrolyte excretion in rats. **Alcohol** **6** : 257-260, 1989.
5. Assadi, F.K.; Manaligod, J.R.; Fleischmann, L.E.; Zajac, C.S. - Effects of prenatal ethanol exposure on postnatal renal function and structure in the rat. **Alcohol**, **8** : 259-263, 1991.
6. Azzara, A.V. & Sclafani, A. - Flavor preferences conditioned by intragastric sugar infusions in rats: maltose is more reinforcing than sucrose. **Physiology & Behavior**, **64** (suppl. 4) : 535-541, 1998 .
7. Borne, P.; Mark, A.L.; Montano, N.; Mion, D.; Somers, V.K. - Effects of alcohol on sympathetic activity, hemodynamics, and chemoreflex sensitivity. **Hypertension**, **29**: 1278-1283, 1997.
8. Carney, S.L.; Gillies, A.H.B.; Ray, C.D.- Acute effect of ethanol on renal electrolyte transport in the rat. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, **22**:629-634, 1995.
9. Cobb, C.F.; Van Thiel, D.H.; Gavalier, J.S.; Lester, R. - Effects of ethanol and acetaldehyde on the rat adrenal. **Metabolism**, **30** : 537-543, 1981.

10. Cowie, M.R. - Alcohol and the heart (Review). **British Journal of Hospital Medicine**, 57 (suppl. 9): 457- 460, 1997.
11. De Marchi, S.; Cecchin, E.; Basile, A.; Bertotti, A.; Nardini, R.; Bartoli, E. - Renal tubular dysfunction in chronic abuse-effects of abstinence. **The New England Journal of Medicine**, 329 (suppl.26) : 1927-1934, 1993.
12. D'Souza, N.B.; Nelson, S.; Summer, W.R.; Deacuic, I.V. - Alcohol modulates alveolar macrofage tumor necrosis Factor- γ , Superoxide Anion and Nitric Oxide, secretion in rat. **Alcohol Clin. Exp. Research**, 20 (suppl.1) : 156-163, 1996 .
13. Eiam-Ong, S. & Sabatini, S. - Food restriction beneficially affects renal transport and cortical membrane lipid content in rats. **Journal of Nutrition**, 129 : 1682-1687, 1999.
14. Eisenhofer, G. & Johnson, R.H. - Effects of ethanol ingestion on plasma vasopressin and balance water in humans. **American Journal Phisiology**, 242 : 522-527, 1982.
15. Eisenhofer, G. - Effects of ethanol on plasma catecholamines and norepinefrine clearance. **Clin. Pharmacol. Ther.**, 34 : 143-147, 1983.
16. Eiser, R.A. - The effects of alcohol on renal function and excretion. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, 11 (suppl. 2) : 127-139, 1987.
17. Emmanuele, M.; Kelly, M.; Tentier, J.; Emanuele, N.; Lawrence, A. -The effect of ETOH on pituitary hormone gene transcription and translation. **Alcoholism Clinical and Experimental Research**, 14 : 285, 1990.
18. Evert, J. & Dorhout, M. - Hystory of the "lithium concept". **Kidney International**, 37 (suppl 28) : S2-3, 1990.
19. Garcia, E.W.; Gontijo, J.A.R.; Figueiredo, J.F. - Clearance de lítio como método de avaliação do manuseio tubular de sódio em ratos acordados, estudos em gaiolas metabólicas. **J.Bras.Nefrol.**, 13 : 89-94, 1991.

20. Ganguli, M.C.; Smith, J.D.; Hanson, L.E. - Sodium metabolism and its requirement during reproduction in female rats. **Journal Nutrition**, **99** : 225-234, 1969.
21. Glue, P. & Nutt, D. - Overexcitement and desenhhibition. Dinamic neurotransmitter interaction in alcohol withdrawal. **Br. J. Psychiatry**, **157** : 491-499, 1990.
22. Gondal, J.A.; MacArthey P.; Myers, A.K.; Preuss, H.G. - Effects of dietary sucrose and fibers on blood pressure in hipertensive rats. **Clinical Nephrology**, **45** (suppl.4) : 163-168, 1996 .
23. Gordon, G.G.; Altman, K.; Sounthren, Al.; Rubin, E.; Lieber, C.S. - Effect of alcohol (ethanol) administration on sex hormone metabolism in normal men. **New England J. Med.**, **295** : 793-797, 1976.
24. Greger, R. - Possible sites of lithium transport in the nefron. **Kidney Int.**, **37** (suppl.28) : 26-30, 1990 .
25. Guillaume, P.; Dam, T-V.; Gianoulakis, C.; Gutkowska, J. - Renal alterations of atrial natriuretic peptide receptors by chronic moderade ethanol treatment. **Am. Journal. Physiol.**, **272** (suppl.1) : 107- 116, 1997.
26. Holstein-Rathlou, N.-H. - Lithium transport across biological membranes. **Kidney International**, **37** (suppl. 28) : S4-9, 1990.
27. Hsieh, S-T.; Sano, H.; Saito, K.; Kobota, Y.; Yokoyama, M. - Magnesium supplementation prevents the development of alcohol-induced hypertension. **Hypertension**, **19** : 175-182, 1992 .
28. Ibsen, H.; Christensen, N.J.; Rasmussen, S.; Hollnagel, H.; Nielsen, M.D.; Giese, J. - The influence chronic high alcohol intake on blood pressure plasma noradrenaline concentration and plasma renin concentration . **Clinical Science**, **61** : 377-379, 1981.
29. Ireland, M.A. - Acute effects of moderate alcohol consumption on blood pressure and plasma catecholamines. **Clinical Science**, **66** : 643-648, 1984.

30. Ishigami, M.; Ohnishi, T.; Eguchi, M.; Mizuiri, S.; Hasegawa, A. - Renal effects of alcohol withdrawal in five-week alcohol-treated rats. **Journal of Studies on Alcohol**, **58** : 392-397, 1997.
31. Jawahar, K.L.; Daksshinamurti, K.; Thliveris, J.- The effect of vitamin B₆ on the systolic blood pressure of rats in the various animal models of hypertension. **Journal of Hypertension**, **14** : 355-363, 1996 .
32. Johnson, M.D.; Zhang, H.Y.; Katchen, T.A. - Sucrose does not raise blood pressure in rats maintained on a low salt intake. **Hypertension**, **21** : 779-785, 1993 .
33. Keller, C.K. & Andrassy, K. - Postinfections glomerulonephritis - is there a link to alcoholism? **Quartely J. Med.**, **87** : 97-102, 1994.
34. Kirchner, K.A. - Effect of antidiuretic hormone on lithium as a marker for proximal tubule delivery. **Am. J. Physiol.**, **257** : 899-906, 1989.
35. Klag, M.J.; Jiang He; Whwlton, P.K.; Chen, J-Y.; Qian M-C.; He, G-Q. - Alcohol use and blood pressure in unacculturated society. **Hypertension**, **22** : 365-370, 1993 .
36. Klatsky, A.L.; Armstrong, M.A.; Gary, D.; Friedman, M.D. - Alcohol e Mortality. **Annals of International Medicine**, **117** : 646-654, 1992 .
37. Knych, T.E. & Prohaska, J.R. - Effect of chronic intoxication and naloxone on the ethanol-induced increase in plasma corticosterone. **Life Science**, **28** : 1987-94, 1981.
38. Lee, S. & Rivier, C. - Altered ACTH and corticosterone responses to interleukin-1B in male rats exposed to na alcohol diet: possible role of vasopressin and testosterone. **Alcoholism: Clinical and Experimental Reserch**, **19** : 200-208, 1995.
39. Leibel, R.L.; Dufour, M.; Hubbard, V.S.; Lands, W.E.M.- Alcohol and calories: a matter of balance. **Alcohol**, **10** : 429-434, 1993.

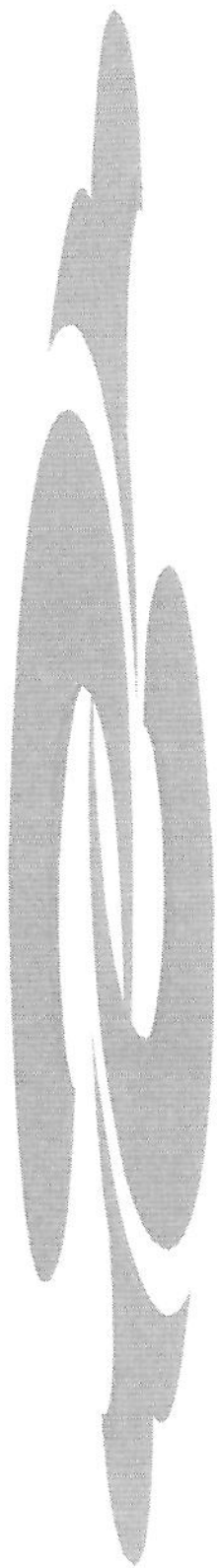
40. Lieber, C.S. (Review) - Biochemical and Molecular Basis of alcohol- induced injury of liver and other tissues. **The New England Journal of Medicine**, 319 (suppl.25) : 1639-1650, 1988.
41. Lovenberg, W. - Techniques for the measurement of blood pressure. **Hypertension**, 9 (suppl. I) : I5-I6, 1987.
42. MacMahon, S. - Alcohol consumption and hypertension (breif review). **Hypertension**, 9 : 111-121, 1987.
43. Muscelli, E.O.A.; Saad, M.J.A.; Gontijo, J.A.R. - Insulinemia and blood pressure responses to oral glucose load in primary hipertensive patients. **Cardiology**, 79 : 14-19, 1991.
44. Nelson, S.; Mason, C.; Bagby, G.; Summer, W.- Alcohol Tumor necrosis Factor and Tuberculosis. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, 19 (suppl.1) : 17-24, 1995 .
45. Overton, J.M.; VanNess J.; Casto, R.M. - Food restriction reduces sympathetic support of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Nutrition**, 127 : 655-660, 1997.
46. Parker, R.N. & Auerhahn, K., (Review) - Alcohol Drugs and Violence. **Annu.Rev. Sociology**, 24 : 291-311, 1998 .
47. Pohl, C.R.; Guilinger, R.A.; VanThiel, D.H. - Inhibitory action of ethanol on luteinizing hormone secretion by rat anterior pituitary cells in culture. **Endocrinology**, 120 : 849-852, 1987.
48. Porrino, L.J.; Whitlow, C.T.; Samson, H.H. - Effects of the self- administrations of ethanol and ethanol/sucrose on rates of local cerebral glucose utilization in rats. **Brain Research**, 791 : 18-26, 1998 .
49. Potter, J.F. - The pressor and metabolic effects of alcohol in normotensive subjects. **Hypertension**, 8 : 625-631, 1986.

50. Quadros, M.R.; Gontijo, J.A.R; Figueiredo, J.F. - Renal tubular sodium handling determined by lithium clearance in partially hepatectomized rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **29** : 1077-1083, 1996.
51. Randin, D.; Vollenweider, P.; Tappy, L.; Jequier, E.; Nicod, P.; Scherrer, U. - Suppression of alcohol-induced hypertension by dexamethasone. **The New England Journal of Medicine**, **332** (suppl.26) : 1733-1737, 1995.
52. Rao, A.G. & Larkin, E.C. - Nutritional factors required for alcoholic liver disease in rats. **The Journal of Nutrition**, **127** (suppl.5) : 896s-898s, 1997.
53. Rico, H. (Reviews) - Alcohol and bone disease: **Alcohol & Alcoholism**, **25** (suppl.4) : 345-352, 1990.
54. Rivier, C.; Imaki, T.; Vale, V. - Prolonged exposure to alcohol: effect on CRF mRNA levels and CRF- and stress induced ACTH secretion in the rat. **Brain Research**, **520** : 1-5, 1990.
55. Rodrigo, R.; Novoa, E.; Granata, P. - Effects of chronic ethanol consumption on renal clearance of electrolytes in the rat. **Med. Sci. Res.**, **21** : 47-49, 1993.
56. Rodrigo, R.; Novoa, E.; Maureira, M.; Iniguez, G.; Granata, P. - Plasma concentration of aldosterone, corticosterone, triiodothyronine and thyroxine and activity of renal (Na+K)-ATPase in ethanol-treated rats. **Med. Sci. Res.**, **21** : 413-415, 1993.
57. Rodrigo, R. & Thielemann, L. - Effects of chronic and acute ethanol exposure on renal (Na+K)-ATPase in the rat. **Gen Pharmac.**, **29** (suppl.5) : 719-723, 1997.
58. Rothman, A. - Effect of ethanol on the Na and the (Na+K)-ATPase activities of basolateral plasma membranes of kidney proximal tubular cells. **Biochemical Pharmacology**, **43** (suppl.9) : 2034-2036, 1992.

59. Santucci, L.; Graham, T.J.; VanThiel, D.H. - Inhibition of testosterone production by rat Leydig cells with ethanol and acetaldehyde: prevention of ethanol toxicity with 4-methylpyrazole. **Alcoholism : Clinical and Experimental Research**, 7 : 135-139, 1983.
60. Sessler, F.M.; Hsu, F.C.; Felder, T.N.; Zhai, J.; Lin, R.C.S.; Wieland, S.J.; Kosobud, A.E.K. - Effects of ethanol on rat somatosensory cortical neurons. **Brain Research**, 804 : 266-274, 1998.
61. Shaffar, M. & Stroupe, S.D. - A general method for routine clinical chemistry on the Abbott TDx analyser. **Clin. Chem.**, 29 (suppl.6) : 1251, 1983. (Abstract)
62. Shi, S.J.; Preuss, H.G.; Abernethy, D.R.; Li, X.; Jarrell, S.T.; Andrawis, N.S. - Elevated blood pressure in spontaneously hypertensive rats consuming a high sucrose diet is associated with elevated angiotensin II and is reversed by vanadium. **Journal of Hypertension**, 15 : 857-862, 1997.
63. Slawecki, C.J.; Samson, H.H.; Hodge, C.W. - Differential changes in sucrose /ethanol and sucrose maintained responding by independently altering ethanol or sucrose concentration. **Alcoholism Clinical and Experimental Research**, 21 (suppl. 2) : 250-260, 1997.
64. Spencer, H.; Rubio, N.; Rubio, E.; Indreika, M.; Seitam, A. -Frequently overlooked cause of osteoporosis in men. **The Journal of Medicine**, 80 : 393-397, 1986.
65. Smith, J.J. - The effect of alcohol on the adrenal ascorbic acid and cholesterol content of the rat. **Journal of Clinical Endocrinology**, 11 : 792-795, 1951.
66. Stampfer, M.J.; Colditz, G.A.; Willett, W.C.; Speizer, F.E. - A prospective study of moderate alcohol consumption and the risk of coronary disease and stroke. **New England of Medicine**, 319 : 267-273, 1988 .
67. Steiner, J.C.; La Paglia N.; Hansen, M.; Emanuele, N.V.; Emanuele, M.A.- Effect of chronic ethanol on reproductive and growth hormones in the peripubertal male rat. **Journal of Endocrinology**, 154 : 363-370, 1997.

68. Stewart, C.W. & Kennedy, R.H. - Effects of chronic ethanol consumption on aortic constriction in male and female rats. **European Journal of Pharmacology**, 366 : 55-60, 1999.
69. Suzuki, H.; Ikenaga, H.; Hayashida, T.; Otsuka, K.; Kanno, Y.; Ohno, Y.; Ikeda, H.; Saruta, T. - Sodium balance and hypertension in obese and fatty rats. **Kidney International**, 49 (suppl. 55) : 150-153, 1996.
70. Tang, M. & Falk, J.L. - Chronic alcohol dependence and water-electrolyte status. **Alcohol**, 3 : 33-37, 1986.
71. Teschner, M.; Schaefer, R.M.; Weissinger, F.; Kulzer, P.; Duell, M.J.; Peter, G.; Heidland, A. - Chronic ethanol ingestion enhances catabolism and muscle and protease activity in acutely uremic rats. **Nephron**, 50 : 338-344, 1988.
72. Thomsen, K. (Editorial review) - Lithium clearance: a new method for determining proximal and distal reabsorption of sodium and water. **Nephron**, 37: 217, 1984.
73. Thomsen, K. - Lithium Clearance as measure of sodium and water delivery from the proximal tubules. **Kidney International**, 37 (suppl 28) : s10 -s16, 1990.
74. Thomsen, K. & Shirley, D.G. (review) - The validity of lithium clearance as index of sodium and water delivery from the proximal tubules. **Nephron**, 77 : 125-138, 1997.
75. Uchida, A.; Nakata, T.; Hatta, T.; Kiyama, M.; Kawa, T.; Morimoto, S.; Miki, S. - Reduction of insulin resistance attenuates the development of hypertension in sucrose-fed SHR. **Life Science**, 61 (suppl.4) : 455-464, 1997.
76. Vamvakas, S.; Teschner, M.; Bahner, U.; Heidland, A. (review)-Alcohol abuse potential role electrolyte disturbances and kidney disease. **Clinical Nephrology**, 49 (suppl.4) : 205-213, 1998.
77. VanThiel, D.H.; Gavalier, J.S.; Little, J.M.; Lester, R. - Alcohol: its effect on the kidney. **Adv.Exp.Med.Biol.**, 85 (suppl.A) : 449-457, 1979.

78. VanThiel, D.H. & Gavalier, J.S. (review) - Endocrine consequences of alcohol abuse. **Alcohol & Alcoholism**, **25** (suppl.4) : 341-344, 1990.
79. Wang, Y.; Freund, R.K.; Palmer, M.R.- Potentiation of ethanol effects in cerebellum by activation of endogenous noradrenergic inputs. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **288** (suppl.1) : 211-288, 1999.
80. Wigle, D.A.; Pang, S.C.; Radakovic, N.; Sarda, R.I.; Watson, J.D.; Roy, R.N.; Flynn, T.G. - Chronic ethanol ingestion modifies the renin-aldosterone axis independent of alterations in the regulation of atrial natriuretic peptide. **Alcoholism Clinical and Experimental Research**, **17** (suppl.4) : 841-846, 1993.
81. Winek, C.L. & Paul, L.J. - Effects of short-term storage conditions on alcohol concentrations in blood from living human subjects. **Clinical Chemistry**, **29** : 1959 , 1983.
82. Zawada, E.T.; Johnson, M.; Sica, M. - Ethanol-induced water diuresis is not prostaglandin dependent. **Nephron**, **40** : 149-151, 1985.



9. *ANEXOS*

Tabela 1: Concentrações plasmáticas de etanol (mg/dl) após administração oral de soluções de etanol a 2,5%, 5% e 10%.

EtOH	2,5%	5%	10%
plasmático	4,7±1,4	43,2±7,9	234,4±28,3
(mg/dl)	(10)	(10)	(10)

Tabela 2: Evolução ponderal diária(g) dos animais tratados com etanol ou sacarose 10%, nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado.

	<i>ad libitum</i> 2.A		pair fed 2.B		suplementado 2.C	
Basal (g)	243,2±3,0 (30)*		225,0±2,0 (39)		220,09±2,2 (51)*	
	EtOH (5)	SAC (5)	EtOH (6)	SAC (7)	EtOH (8)	SAC (9)
1º dia	242,8±8,1	257,6±4,5	223,0±5,7	230,1±3,8	229,2±5,5	235,7±5,4 ^c
2º dia	242,8±8,4	262,4±4,7 ^c	218,5±6,5	228,1±3,5	229,6±6,6	233,8±5,7 ^c
3º dia	223,2±10,9 ^{a,b}	251,6±5,0	220,4±7,1	232,6±4,4	217,3±7,9 ^a	236,5±4,6 ^c
4º dia	219,4±8,9 ^{a,b}	256,6±5,0	210,2±6,8	234,0±4,8	219,2±7,3 ^a	239,0±4,8 ^c
5º dia	216,4±12,2 ^{a,b}	257,6±4,7	212,0±7,2	221,6±4,5	208,5±8,2 ^a	236,7±4,5 ^c
6º dia	212,6±9,7 ^{a,b}	256,8±5,5	215,8±7,5	223,8±4,7	211,0±7,2 ^a	237,8±4,9 ^c
7º dia	219,4±9,8 ^{a,b}	262,0±7,2 ^c	215,5±6,8	219,8±5,0	213,0±7,9 ^a	248,6±6,3 ^c
8º dia	226,6±12,0	260,8±8,9 ^c	217,0±8,9	221,8±4,8	217,2±8,3 ^a	249,5±4,8 ^c
9º dia	221,0±10,3 ^{a,b}	259,4±11,6	219,8±9,1	220,5±4,9	216,7±9,6 ^a	249,3±4,9 ^c
10º dia	220,2±9,8 ^{a,b}	260,0±13,3	229,1±8,8	221,8±4,8	213,1±9,3 ^a	249,2±5,3 ^c
11º dia	226,2±10,6	263,4±15,3 ^c	229,4±8,3	227,6±5,4	215,0±8,3 ^a	249,7±4,9 ^c
12º dia	231,2±10,6	266,0±15,8 ^c	231,7±4,7	235,1±6,0	218,6±10,5 ^a	252,6±5,5 ^c
13º dia	233,6±10,9	269,4±17,3 ^c	233,4±7,2	230,8±5,0	224,3±11,5 ^a	255,6±5,3 ^c
14º dia	236,8±11,5	272,6±18,5 ^c	237,1±8,1	237,5±4,7	233,5±14,4	259,8±5,2 ^c
15º dia	241,6±11,5	275,4±19,9 ^c	239,8±9,5	244,3±4,8	236,5±14,4	263,3±5,0 ^c

Tabela 3: Ingestão diária de ração (g) após administração de etanol e sacarose 10%, nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado.

	<i>ad libitum</i> 3.A*		pair fed 3.B		suplementado 3.C	
Basal (g)	24,2±0,4 (30)*		17,8±0,7 (39)		23,1±0,3 (51)*	
	EtOH (5)	SAC (5)	EtOH (6)	SAC (7)	EtOH (8)	SAC (9)
1º dia	22,4±0,6 ^a	25,0±0,0	16,8±1,0	18,6±0,1	20,2±1,1	22,1±0,7
2º dia	15,6±1,0 ^{a b}	19,2±0,9 ^c	10,5±1,1	10,0±0,0	11,5±1,8 ^{a b}	16,2±0,8 ^c
3º dia	4,6±2,0 ^{a b}	13,6±0,6 ^c	8,4±1,5	8,0±0,0	7,0±1,6 ^{a b}	15,1±0,7 ^c
4º dia	5,4±1,6 ^{a b}	14,2±0,9 ^c	8,1±0,8	8,0±0,0	6,8±0,9 ^{a b}	16,1±0,9 ^c
5º dia	5,0±2,0 ^{a b}	13,2±0,8 ^c	8,1±0,6	8,0±0,0	6,1±1,6 ^{a b}	13,6±0,6 ^c
6º dia	5,6±1,5 ^{a b}	10,8±1,0 ^c	10,0±0,9	10,0±0,0	13,1±1,5 ^{a b}	17,1±0,6 ^c
7º dia	9,8±1,9 ^b	14,0±2,1 ^c	9,0±0,7	9,0±0,0	11,7±1,3 ^{a b}	16,8±0,9 ^c
8º dia	7,4±1,2 ^{a b}	14,0±1,6 ^c	13,0±0,4	13,0±0,0	11,1±0,7 ^{a b}	15,0±0,8 ^c
9º dia	7,6±1,4 ^{a b}	13,4±1,2 ^c	14,8±1,0	15,0±0,0	8,8±2,1 ^{a b}	13,8±0,5 ^c
10º dia	7,4±1,3 ^b	10,4±2,3 ^c	15,8±0,8	16,0±0,0	7,7±2,0 ^{a b}	13,2±0,7 ^c
11º dia	15,8±1,5 ^b	13,6±2,9 ^c	16,2±0,3	16,0±0,0	13,0±2,3 ^b	11,8±0,7 ^c
12º dia	13,0±1,2 ^b	14,0±1,3 ^c	16,5±0,3	16,0±0,0	12,7±1,4 ^b	13,0±0,5 ^c
13º dia	14,4±0,6 ^b	14,2±2,1 ^c	15,7±0,6	16,0±0,0	13,8±1,1 ^b	14,0±0,4 ^c
14º dia	13,0±1,0 ^b	13,8±1,5 ^c	15,2±0,6	15,0±0,0	14,7±0,6 ^b	14,5±0,5 ^c
15º dia	13,2±0,4 ^b	14,4±1,5 ^c	15,2±0,6	15,0±0,0	14,8±0,6 ^b	14,3±0,3 ^c

Tabela 4: Avaliação da pressão arterial sistólica nos grupos *ad libitum*, pair fed e suplementado.

	<i>ad libitum</i> 4.A		pair fed 4.B		suplementado 4.C	
Basal /(PAC)	124,1±0,5 (20)*		116,6±1,2 (26)		123,1±0,5 (34)*	
	EtOH (5)	SAC (5)	EtOH (6)	SAC (7)	EtOH (8)	SAC (9)
2º dia	125,6±3,3 ^a	136,8±2,6 ^c	115,7±3,7	114,0±2,9	117,7±3,1 ^{a b}	143,5±3,6 ^c
3º dia	129,2±2,6 ^b	135,6±1,0 ^c	116,2±6,5	116,6±1,6	127,5±2,9 ^{a b}	140,8±3,8 ^c
4º dia	135,6±10,5 ^b	146,4±4,2 ^c	119,7±3,1	118,6±2,4	125,2±4,5 ^a	140,2±3,3 ^c
5º dia	133,6±3,2 ^b	138,8±4,9 ^c	113,4±2,5	115,0±3,9	121,5±7,3	136,6±4,9 ^c
10º dia	120,8±0,9 ^{a b}	126,4±1,9	115,4±4,4	115,3±1,8	117,5±1,7 ^{a b}	132,6±5,2 ^c
15º dia	123,2±0,7	124,0±0,9	118,0±2,8 ^a	105,0±4,3 ^c	121,5±3,2	121,3±4,2

Tabela 5: Medidas de peso renal (g/100g de peso corporal) nos grupos *ad libitum* tratados com soluções 2,5%, 5% e 10%, pair fed e suplementado.

Soluções:	Etanol (g/100g de p.c)	Sacarose (g/100g de p.c)
2,5%	0,78±0,01 (7)	0,71±0,01 (9)
5%	0,74±0,04 (10)	0,76±0,02 (9)
10%	0,64±0,01 * (9)	0,76±0,04 (9)
pair fed	0,63±0,02 * (9)	0,72±0,01 (9)
suplementado	0,69±0,02 (7)	0,72±0,02 (7)

Tabela 6: Concentrações plasmáticas de corticosterona no grupo *ad libitum* após a administração oral de soluções de etanol e sacarose a 10%.

<i>ad libitum</i>		
dosagem sérica (mg/dl)	10,9±1,4 (20)	
	EtOH (10)	SAC (10)
7º dia	23,0±1,5 ^b	20,0±2,3 ^c
14º dia	25,7±3,3 ^b	18,0±3,3 ^c

Tabela 7: Fluxo urinário por minuto de animais tratados com etanol e sacarose a 10% - Curva dose- resposta.

<i>ad libitum</i>	2,5%		5%		10%	
Basal /(ml/min/pc)	5,5±0,8 (17)		8,7±1,1 (19)		8,0±0,9 (19)	
	EtOH (8)	SAC (9)	EtOH (10)	SAC (9)	EtOH (10)	SAC (9)
7º dia	5,0±0,4	5,1±0,6	7,0±0,7	5,9±0,7	7,5±0,5	7,4±1,0
14º dia	5,5±0,7	5,1±0,6	6,7±0,7	5,7±0,5	5,8±0,6	5,6±0,5

Tabela 8: Excreção urinária de sódio (U_{NaV}) após o tratamento com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.

<i>ad libitum:</i>	2,5%		5%		10%	
Basal(μ Eq/min/ 100g de rato)	280,7 $\pm$ 20,5 (17)		349,0 $\pm$ 26,9 (19)		326,7 $\pm$ 45,7 (19)	
	EtOH (8)	SAC (9)	EtOH (10)	SAC (9)	EtOH (10)	SAC(9)
7º dia	341,3 $\pm$ 27,3	325,6 $\pm$ 18,2	292,4 $\pm$ 18,9	295,8 $\pm$ 28,3	333,9 $\pm$ 22,5	234,2 $\pm$ 26,1
14º dia	236,2 $\pm$ 15,0	292,9 $\pm$ 24,7	298,7 $\pm$ 19,4	311,8 $\pm$ 35,4	284,1 $\pm$ 45,1	173,6 $\pm$ 25,0 ^c

Tabela 9: Excreção urinária de potássio (U_{KV}) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - Curva dose-resposta.

<i>ad libitum</i>	2,5%		5%		10%	
Basal/ (μ Eq/min/ 100 g de rato)	446,3 $\pm$ 26,5 (17)		457,0 $\pm$ 42,7 (19)		437,1 $\pm$ 36,0* (19)	
	EtOH (8)	SAC (9)	EtOH (10)	SAC (9)	EtOH (10)	SAC (9)
7º dia	532,5 $\pm$ 38,8	495,7 $\pm$ 40,5	461,9 $\pm$ 18,9	416,0 $\pm$ 26,6	409,6 $\pm$ 27,9 ^a	285,7 $\pm$ 19,6 ^c
14º dia	377,0 $\pm$ 19,6	419,7 $\pm$ 35,3	442,6 $\pm$ 29,7	393,0 $\pm$ 49,6	374,5 $\pm$ 49,4 ^a	238,2 $\pm$ 17,0 ^c

Tabela 10: Fluxo urinário por minuto de animais dos grupos pair fed e suplementado, tratados com etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (ml/min/ 100g de rato)	5,8±0,6 (18)		6,7±1,4 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	6,3±1,2	4,7±0,5	8,7±2,3	6,2±1,2
14º dia	6,0±0,6	4,7±0,3	7,7±2,6	5,1±0,9

Tabela 11: Excreção urinária de sódio (U_{NaV}) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - grupo pair fed e suplementado.

	pair fed		suplementado	
Basal (μ Eq/min/ 100g de rato)	236,2±24,1 (18)		264,7±26,9* (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	223,0±45,1	236,9±40,7	280,5±45,2	198,8±27,0
14º dia	311,2±39,0	310,9±17,9	314,5±29,1 ^a	106,8±21,2 ^c

Tabela 12: Excreção urinária de potássio (U_{KV}) após o tratamento dos ratos com etanol e sacarose a 10% - grupo pair fed e suplementado.

	pair fed		suplementado	
Basal ($\mu\text{Eq}/\text{min}/$ 100g de rato)	478,5 $\pm$ 39,3 (18)		501,1 $\pm$ 42,3 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	319,7 $\pm$ 47,5 ^b	296,3 $\pm$ 52,4 ^c	337,7 $\pm$ 45,6 ^b	322,4 $\pm$ 22,6 ^c
14º dia	373,0 $\pm$ 45,4	375,5 $\pm$ 16,3	464,8 $\pm$ 37,9	259,0 $\pm$ 46,1 ^c

Tabela 13: Fluxo urinário durante o estudo funcional dos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal ($\mu\text{l}/\text{min}/$ 100g de rato)	56,9 $\pm$ 1,8 (18)		54,2 $\pm$ 2,6 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	48,1 $\pm$ 4,4 ^b	52,3 $\pm$ 3,3	44,7 $\pm$ 1,5 ^b	51,1 $\pm$ 2,8
14º dia	61,1 $\pm$ 2,8	44,6 $\pm$ 2,5 ^c	47,5 $\pm$ 3,1	42,3 $\pm$ 2,5 ^c

Tabela 14: Clearance de creatinina (CCr) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (µl/min/ 100g de rato)	255,9±18,8 (18)		177,8±22,3 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7° dia	320,8±50,3	431,6±47,7 ^c	214,8±40,8	293,8±56,5 ^c
14° dia	317,2±26,3	400,9±42,1 ^c	231,1±31,4	339,3±30,1 ^c

Tabela 15: Clearance de lítio (CLi) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (µl/min/ 100g de rato)	73,8±7,7 (18)		64,8±9,9 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	74,3±6,6	117,1±12,4 ^c	124,8±19,5 ^b	134,4±24,7 ^c
14º dia	119,0±17,2 ^b	108,0±11,2 ^c	95,8±11,9	130,6±13,8 ^c

Tabela 16: Clearance de sódio (CNa) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (μEq/min/ 100g de rato)	1,7±0,3 (18)		0,7±0,1 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	0,7±0,1 ^b	0,9±0,1	0,9±0,2	0,6±0,1
14º dia	1,8±0,3	1,2±0,3	1,0±0,2	0,6±0,1

Tabela 17: Fração de excreção de sódio (FE_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (%)	0,65$\pm$0,11 (18)		0,46$\pm$0,10 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	0,28 $\pm$ 0,06 ^b	0,23 $\pm$ 0,03 ^c	0,44 $\pm$ 0,06	0,26 $\pm$ 0,06
14º dia	0,60 $\pm$ 0,11	0,37 $\pm$ 0,12	0,43 $\pm$ 0,06	0,17 $\pm$ 0,02

Tabela 18: Fração de excreção proximal de sódio (FEP_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (%)	30,2±3,5 (18)		38,2±3,4 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	29,5±5,9	29,9±4,5	72,9±19,6 ^b	63,6±24,2
14º dia	39,7±6,3	28,3±3,2	42,3±2,1	38,6±2,8

Tabela 19: Fração de excreção pós-proximal de sódio (FEPP_{Na}) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

	pair fed		suplementado	
Basal (%)	2,3±0,4 (18)		1,2±0,3 (14)	
	EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	1,1±0,2	0,8±0,10 ^c	0,7±0,1	0,5±0,1
14º dia	1,5±0,1	1,1±0,2	1,0±0,1	0,4±0,0

Tabela 20: Fração de excreção de potássio (FE_K) nos grupos pair fed e suplementado, tratados com soluções de etanol e sacarose a 10%.

		pair fed		suplementado	
Basal (%)		0,13±0,02* (18)		0,15±0,02 (14)	
		EtOH (9)	SAC (9)	EtOH (7)	SAC (7)
7º dia	0,07±0,01 ^a	0,21±0,01 ^c	0,25±0,03 ^b	0,13±0,01	
14º dia	0,08±0,01	0,13±0,02	0,14±0,01	0,13±0,01	