

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Faculdade de Farmácia**

**Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia**

**Efeito da associação de álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros metabólicos e  
bioquímicos em ratos**

**Dayane Alves Quinteros**

**Porto Alegre, novembro de 2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Faculdade de Farmácia**

**Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia**

**Efeito da associação de álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros metabólicos e  
bioquímicos em ratos**

**Dayane Alves Quinteros**

**Orientadora**

Professora Doutora Rosane Gomez

**Co-Orientadora**

Doutoranda Greice Caletti

**Porto Alegre, novembro de 2013**

*“Não confunda derrotas com fracasso nem vitórias com sucesso. Na vida de um campeão sempre haverá algumas derrotas, assim como na vida de um perdedor sempre haverá vitórias. A diferença é que, enquanto os campeões crescem nas derrotas, os perdedores se acomodam nas vitórias.”*

Roberto Shinyashiki

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho representa a conclusão de uma importante etapa da minha vida. Etapa essa que foi vivida com muita intensidade, dedicação, abdicção e principalmente muita alegria. Só me resta, portanto agradecer aqueles que acompanharam a trajetória deste trabalho assim como os momentos relacionados a esta conquista:

Aos meus pais, Antonio e Neuza Quinteros pelo amor incondicional e por serem meus maiores exemplos; por sempre me mostrarem os verdadeiros valores de vida, me orientando a fazer as melhores escolhas; por entenderem minha ausência em diversos momentos importantes para eles. Aos meus irmãos Vanessa e Eduardo Quinteros, pela grande torcida e apoio; pela paciência e por todos os momentos divididos, pelas dificuldades superadas e pelas brigas relevadas, pelo seu amor e carinho. A minha família meu muito obrigado e a certeza de que é em vocês que eu encontro toda a minha força.

A minha orientadora Rosane Gomez por ter me acompanhado por dois anos, me apoiando e confiando no meu trabalho; por ter me ensinado tudo o que eu sei com relação à pesquisa e principalmente por ter me feito amar ela; por ser um grande exemplo de profissional para mim. Ao meu grupo de pesquisa, membros do LAT, pois sem vocês esse trabalho não teria sido possível. Agradeço pelo apoio e toda a ajuda que vocês me deram, ao carinho e a força nos momentos mais difíceis.

Agradeço também aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado me dando força para encarar os desafios; por cada momento dividido, sendo eles bons ou ruim, engraçados ou tristes e que fizeram desta que esta etapa fosse vivida da melhor maneira e com muita alegria.

**Este trabalho de conclusão de curso, escrito em forma de artigo, foi elaborado segundo as normas da Revista Neurociências.**

Categoria: Artigo Original (6000 palavras)

ISSN: 0104-3579

Qualis: B5

Fator de impacto: 0,18 (SJR, SCImago)

**Efeito da associação de álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros metabólicos e bioquímicos em ratos**

**Effect of the association of alcohol and smoke cigarettes on metabolic and biochemical parameters in rats**

Dayane A. Quinteros<sup>1</sup>, Carolina F. Santos<sup>1</sup>, Vanessa Clarimundo<sup>1</sup>, Fernanda Huf<sup>2</sup>, Ricardo Schneider<sup>3</sup>, Greice Caletti<sup>4</sup>, Rosane Gomez<sup>5</sup>

1. Graduanda da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.
2. Biomédica, mestranda pelo Programa de Pós Graduação em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil.
3. Biomédico, doutorando do Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Neurociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.
4. Nutricionista, doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS
5. Farmacêutica, Professora Adjunta II do Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

**Endereço para correspondência:**

Rosane Gomez

Departamento de Farmacologia- ICBS -UFRGS

Rua Sarmiento Leite, 500/202

CEP 90050-170 – Porto Alegre – RS - Brazil

Phone/fax: 55-51-33083121

E-mail: [rosane.gomez@ufrgs.br](mailto:rosane.gomez@ufrgs.br)

## RESUMO

**Objetivos:** Álcool e cigarro são frequentemente consumidos em associação, porém poucos estudos avaliam o efeito da sua exposição combinada sobre alterações metabólicas e bioquímicas. Avaliamos aqui o efeito da associação entre álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros metabólicos e bioquímicos, incluindo leptina sérica em ratos. **Método:** Ratos Wistar, machos, adultos (n=40), foram administrados por 30 dias com veículo (grupos Controle ou Cigarro) ou 2g/kg de álcool (grupos Álcool ou Álcool+Cigarro), via oral (gavagem), duas vezes ao dia. Imediatamente após eram colocados em câmaras para exposição ao ar ambiental ou fumaça de 6 cigarros, durante 2 horas. Consumo de ração e água foram monitorados e comportamento alimentar foi avaliado no 28º dia. No 30º dia, após eutanásia o sangue troncular foi utilizado para determinação da glicemia, triglicerídeos, colesterol e leptina. **Resultados:** Associação entre álcool e fumaça de cigarro aumentou o tempo de latência para a primeira mordida de alimento palatável, bem como reduziu o consumo de biscoitos durante o teste e de ração ao longo do experimento. Tais alterações promoveram menor ganho de peso dos animais, embora glicemia aumentada. **Conclusão:** A associação entre álcool e fumaça de cigarro, nas condições experimentais estudadas, afeta parâmetros metabólicos e bioquímicos, mas não altera leptina sérica em ratos.

**Unitermos:** Etanol, Tabaco, Drogas de abuso, Leptina, Comportamento Alimentar

## **ABSTRACT**

**Objectives:** Alcohol and cigarettes are often consumed in association; however few studies evaluate the effect of their association on eating behavior and biochemical changes. Here we assessed the effect of the association between alcohol and cigarette smoke on metabolic and biochemical parameters, including serum leptin in rats. **Methods:** Male adults Wistar rats (n=40), were administered for 30 days with vehicle (control or cigarette groups) or 2 g/kg of alcohol (Alcohol or Alcohol+Cigarette groups), orally (gavage), twice a day. Immediately after, they were placed in chambers to exposure to ambient air or 6 cigarette smoke for 2 hours. Feed intake and water were monitored and eating behavior was assessed at day 28. On the 30th day, after euthanasia, troncular blood was used to seric glucose, triglycerides, cholesterol and leptin determination. **Results:** Association between alcohol and cigarette smoke increased the latency to the first bite of palatable food, as well as reduced the consumption of biscuits during the test and feed throughout the experiment. Such effects promoted less weight gain in animals, although blood glucose increased. **Conclusion:** Association between alcohol and cigarette smoke in experimental conditions studied affects metabolic and biochemical parameters but does not alter serum leptin in rats.

**Key Words:** Ethanol, Tobacco, Drug abuse, Leptin, Feeding Behavior

## INTRODUÇÃO

Álcool e cigarro são as drogas psicoativas lícitas mais consumidas no mundo e são frequentemente consumidas em associação. Segundo a Organização Mundial da Saúde<sup>1</sup>, o uso abusivo de álcool é responsável por mais de 2,5 milhões de mortes anualmente, estando ele associado ao aumento de risco de mais de 60 diferentes tipos de doenças. Mais alarmantes são os dados para o cigarro que apontam que mais de 5,5 milhões de pessoas morrem anualmente em consequência do seu uso crônico, projetando-se uma morte a cada 6 segundos<sup>1</sup>.

Embora as vias envolvidas na dependência a drogas ainda não estejam completamente elucidadas, sabe-se que drogas de abuso ativam, direta ou indiretamente, as vias dopaminérgicas do sistema mesocorticolímbico<sup>2</sup>. Inúmeros são os candidatos à modulação indireta, tais como GABA, nicotina, serotonina, peptídeos opióides e outros<sup>3</sup>. A ativação desse sistema dopaminérgico, presente mesmo nos mamíferos mais primitivos, está relacionada com mecanismo de recompensa e tem participação fundamental na busca de estímulos prazerosos, tais como sexo, jogos e alimentos<sup>2</sup>. Estudos mostram que o comportamento alimentar aumenta a concentração de dopamina no núcleo acumbens de ratos, do mesmo modo que o faz para drogas de abuso<sup>4</sup>. No entanto, pouco se sabe sobre a relação entre comportamento alimentar e essas substâncias. Curiosamente, estudos revelam que o uso de drogas é comum entre indivíduos com transtorno alimentar<sup>5</sup>. De fato, indivíduos diagnosticados para bulimia nervosa, transtorno de compulsão alimentar periódica e transtorno alimentar não específico apresentam de 30 a 50% maior risco de alcoolismo<sup>6</sup>. A prevalência de fumantes entre indivíduos com transtorno alimentar é ainda maior, variando de 60 a 70%<sup>7</sup>. Sabe-se que fumantes de cigarro têm menor índice de massa corporal em comparação aos não fumantes e aqueles que param de fumar tendem a ganhar peso<sup>8</sup>.

Estudos pré-clínicos sugerem que leptina, um regulador do metabolismo energético, atua sobre mecanismos de recompensa por modulação da transmissão dopaminérgica<sup>9</sup>. A raça, o gênero, o índice de massa corporal (ICM), a idade e a concentração de insulina afetam as concentrações desse hormônio<sup>10</sup>. Além disso, a leptina pode estar alterada por fatores externos como o uso de drogas. Estudos mostram que as concentrações de leptina circulantes estão aumentadas de maneira dose-dependente no alcoolismo crônico<sup>11</sup>. Porém estudos que avaliam a variação de leptina em fumantes são controversos podendo, portanto este hormônio estar reduzido<sup>10</sup>, aumentado<sup>12</sup> ou não associado ao comportamento de fumar<sup>13</sup>. Embora tais resultados indiquem que fome e compulsão por drogas podem compartilhar circuitos neurais comuns, poucos estudos avaliam o efeito da associação entre álcool e cigarro sobre a concentração desse modulador do metabolismo energético e sobre o comportamento alimentar em ratos.

Ainda relacionado a metabolismo energético, parâmetros bioquímicos como glicemia e colesterol também são alterados pelo consumo de álcool e cigarro. Estudos mostram que embora a hipoglicemia seja comum em casos de intoxicação por álcool, o uso crônico dessa droga aumenta a glicemia entre usuários<sup>14</sup>.

Outros parâmetros como triglicerídeos e lipoproteínas plasmáticas podem ser afetados pelo consumo de álcool ou cigarro. Para o álcool, o uso crônico a moderado mostra efeitos benéficos para prevenção de doenças coronarianas e acidente vascular cerebral isquêmico, associado a alterações na concentração sérica de lipoproteínas<sup>15</sup>. Contudo, alguns estudos em animais mostram que o uso diário, por 4 semanas, aumenta a concentração plasmática não apenas do colesterol HDL, mas também do colesterol LDL e dos triglicerídeos<sup>16</sup>. Colesterol HDL está reduzido entre fumantes enquanto que colesterol total e triglicerídeos estão aumentados<sup>17</sup>. Em ratos, a exposição aguda à fumaça do cigarro não altera a concentração plasmática de triglicerídeos, HDL, LDL ou colesterol total<sup>18</sup>. No entanto, não há estudos

avaliando o efeito da associação entre álcool e cigarro sobre parâmetros glicídicos e lipídicos em ratos.

Portanto, foi nosso objetivo avaliar o efeito da associação entre álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros metabólicos, incluindo o comportamento alimentar, bem como sobre parâmetros bioquímicos, relacionando-os com alterações de leptina em ratos tratados cronicamente com álcool (4g/kg) e expostos à fumaça de cigarro (12 cigarros) diariamente, durante 30 dias.

## **METODOLOGIA**

### **Animais**

Foram utilizados 40 ratos machos, Wistar, adultos (270–300 g), provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e alojados no Biotério Setorial do Departamento de Farmacologia. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno (33 x 17 x 40 cm), sob condições de iluminação claro-escuro (7:00-19:00 h), temperatura ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ) e umidade (55%) controladas. Todos os animais tinham livre acesso a água e comida, exceto no dia da avaliação do comportamento alimentar, quando foram mantidos em jejum de 12 horas. Os experimentos seguiram as normas gerais brasileiras (Lei Arouca, 2008) e internacionais (International Council for Laboratory Animal Science) que regem a experimentação animal e foram executados apenas após aprovação pelo CEUA-UFRGS (#22444).

### **Solução alcoólica e cigarro**

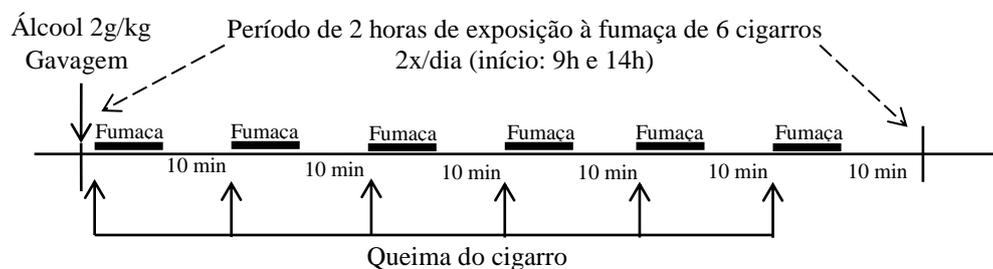
Solução alcoólica 20% (m/v) foi preparada diluindo-se etanol (95°GL) em solução glicosada a 3%. Para os animais controle foi administrada solução glicosada a 8%. A diluição do álcool em solução glicosada a 3% tem como objetivo aumentar a palatabilidade, enquanto a solução a 8% tem como objetivo igualar o valor calórico das soluções. Foram utilizados

cigarros comerciais (Malboro® Vermelho, Philip Morris, São Paulo, Brasil) pertencentes ao mesmo lote, contendo 1 mg de nicotina/cigarro, segundo informações do fabricante.

### Procedimento experimental

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n =10 grupo): Controle ou Cigarro, administrados com 10 mL/kg de solução glicosada e Álcool ou Álcool+Cigarro administrados com 2 g/kg de solução glicoalcoólica, por via oral (gavagem). Imediatamente após a administração, os animais dos grupos Controle e Álcool eram colocados em câmaras hermeticamente fechadas (50x50x40 cm), com fluxo de ar ambiente constante de 10 L/min. Os outros dois grupos, Álcool e Álcool+Cigarro, foram colocados em câmaras semelhantes, exceto que expostos à fumaça oriunda da queima dos cigarros. Durante 30 dias os animais foram administrados com as soluções e expostos ao ar ambiente ou fumaça de 6 cigarros, diariamente, pela manhã e à tarde, com início as 9 h e 14 h, por um período de 2 horas (Esquema 1).

Esquema 1 – Procedimento experimental



Do 19º ao 26º dia os animais foram treinados a comer biscoitos doces (Froot Loops, Kellogg's®, São Paulo, SP). Para esse treino, uma porção de biscoitos era colocada na caixa de residência ao lado da ração, de modo a habituar os animais ao novo alimento. No 27º dia, logo após a exposição da manhã, os animais eram colocados individualmente em caixas de polipropileno (49x34x16 cm), sem tampa de grade, para habituação ao ambiente, sendo oferecido a eles alguns biscoitos, por um período de 30 minutos. Durante todo o período de

treino eram monitorados por um observador. No 28º dia, logo após a exposição da manhã e um período de jejum de 12 horas, os ratos retornaram às caixas de polipropileno, onde permaneceram por 30 minutos, sendo-lhes oferecidos inicialmente 16 biscoitos e acrescidos mais caso os animais ingerissem todos. O mesmo observador do treino registrava o tempo de latência para primeira mordida e o total de biscoitos ingeridos ao longo dos 30 minutos. No 29º dia, após a exposição da manhã, foi avaliada a medida naso-anal dos ratos e peso, para o cálculo do Índice de Lee, calculado pela raiz cúbica do peso (g), dividida pelo comprimento naso-anal (cm) e multiplicado por 100. Ao final de 30 dias da exposição ao álcool e à fumaça de cigarro, os animais foram eutanasiados por decapitação e o sangue troncular foi coletado e centrifugado (3000 rpm, 15 min). O soro foi armazenado a 4°C para posterior análise bioquímica. Ao longo dos experimentos os animais eram pesados 2 vezes por semana para ajuste da dose. Ração e água também eram mensuradas duas vezes por semana, considerando-se o consumo médio individual como o total ingerido dividido pelo número de animais por caixa.

### **Dosagens bioquímicas**

As concentrações séricas de leptina foram determinadas pelo método de enzima-imunoensaio (ELISA) utilizando-se kits comerciais (Invitrogen, Pleasanton, CA, USA). Glicemia, colesterol e triglicerídeos foram determinadas no plasma, ao final do experimento, utilizando-se kits comerciais (LABTEST, São Paulo, SP), determinados por método colorimétrico.

### **Análise estatística**

Os resultados foram reunidos em banco de dados e o efeito do tratamento crônico com álcool e/ou exposição à fumaça de cigarro sobre as concentrações séricas de leptina, glicose, colesterol e triglicerídeos, bem como variação de peso e índice de Lee foram avaliados utilizando-se análise de variância de duas vias (ANOVA-2 via), seguida do teste de

Bonferroni para determinação da diferença entre os grupos. Consumo semanal de ração e água foi analisado por ANOVA- 2 vias de medidas repetidas, também seguida do teste de Bonferroni. Resultados não paramétricos foram avaliados pelo teste de Kruska-Walis, seguido do teste de Dunn para determinação da diferença entre os grupos. Resultados que apresentaram  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

## RESULTADOS

E exposição crônica à fumaça de cigarro ou sua associação com álcool aumentaram o tempo de latência para ingestão de alimento doce, mesmo após jejum de 12 horas ( $P = 0,043$ ) (Figura 1-A). O grupo Álcool+Cigarro também mostrou menor consumo de alimento ao longo dos 30 minutos de avaliação comparado ao grupo Controle ( $P = 0,003$ ) (Figura 1-B).

A associação entre álcool e fumaça de cigarro reduziu o consumo alimentar diário dos ratos, sendo essa mais importante na primeira semana (36% menor que o grupo controle) (Figura 2,  $P < 0,001$ ). Durante as semanas seguintes houve um aumento gradual do consumo de ração, mas ainda era menor (17%) do que o consumo dos animais Controle. Para o grupo Álcool, ao contrário, se observou uma redução do consumo diário de ração após a segunda semana (~14%), com máximo na terceira semana (20% menor do que o consumo do Controle). A fumaça isoladamente não interferiu sobre o consumo alimentar dos ratos ao longo do experimento. Álcool, fumaça de cigarro ou sua associação não modificaram o consumo de água entre os grupos, percebendo-se apenas um aumento gradual, mas não significativo, de cerca de 4% do consumo ao longo das semanas.

Como esperado, houve aumento de peso dos animais ao longo das semanas, sendo essa diferença significativa após a 3ª semana ( $P < 0,014$ ). No entanto, esse ganho de peso foi significativamente menor para os animais expostos à fumaça de cigarro ( $P = 0,037$ ) ou à associação fumaça de cigarro e álcool ( $P = 0,017$ ). Embora ao final do experimento os ratos

dos grupos Álcool+Cigarro e Cigarro tivessem 10,4% e 3,6% menos peso que os do grupo Controle, o índice de Lee, que avalia a proporção de gordura em relação ao tamanho do animal, não apresentou diferença significativa (Controle:  $33,7 \pm 0,3 \text{ g/cm}^3$ ).

Álcool, fumaça de cigarro ou sua associação aumentaram a glicemia dos animais quando comparados ao controle. Para o grupo Álcool esse aumento foi de cerca de 10% ( $P < 0,001$ ). Para o grupo Álcool+Cigarro, foi de 13% ( $P < 0,001$ ), mais do que o dobro do que observado no grupo de ratos expostos apenas à fumaça de cigarro (6%) ( $P = 0,005$ ).

Além da glicemia, o grupo Álcool também mostrou aumento significativo da concentração plasmática de triglicerídeos (38%,  $P < 0,001$ ) sem, no entanto, afetar colesterol total ou HDL. Curiosamente, para o grupo de animais expostos cronicamente à fumaça de cigarro, houve uma redução de todos esses parâmetros (Triglicerídeos:  $P < 0,001$ ; Colesterol total:  $P = 0,002$ ; HDL:  $P < 0,001$ ) em relação ao controle, reduzindo-os em 50%, 13% e 18,5%, respectivamente. Para o grupo Álcool+Cigarro, porém, os valores de triglicerídeos foram similares ao grupo Controle, mas mantiveram-se as concentrações plasmáticas de colesterol total (19,3%;  $P < 0,001$ ) e de HDL mais baixos (18,7%;  $P < 0,001$ ).

Sob as condições experimentais trabalhadas, álcool, fumaça de cigarro ou sua associação não alteraram os níveis séricos de leptina (Figura 3).

## DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que a associação entre álcool e fumaça de cigarro afeta o comportamento alimentar, aumentando o tempo de latência para ingestão de alimento palatável e reduzindo seu consumo num intervalo de 30 minutos. A exposição à fumaça de cigarro isoladamente aumenta apenas a latência para ingestão de alimento palatável. Em seres humanos, sabe-se que o hábito de fumar está associado à redução de apetite e de peso. Miyata e colaboradores<sup>19</sup> mostraram que a infusão de nicotina no hipotálamo lateral de ratos reduz

não apenas o número de refeições, mas também a quantidade de alimento consumida. Esses autores, empregando técnica de microdiálise, mostraram que a hipofagia produzida pela nicotina era acompanhada por aumento da serotonina e dopamina nesse mesmo núcleo<sup>18</sup>. Injeção bilateral de muscimol, um agonista GABAérgico, no núcleo acumbens de ratos, ao contrário, aumenta o consumo de solução glicosada e ração<sup>20</sup>. Aqui, não observamos alteração do comportamento alimentar pelo álcool, também um agonista GABAérgico. No entanto, sua associação com fumaça do cigarro reduziu também o consumo de biscoitos (tamanho da refeição), indicando uma possível interação entre essas drogas de abuso, potencializando o efeito hipofágico da nicotina, possivelmente modulando sistema serotoninérgico e dopaminérgico no hipocampo.

O efeito hipofágico da associação também foi confirmado, ao longo do experimento pela redução da ingestão de ração. Esse efeito redutor da ingestão de alimento foi maior na primeira semana (~36% menor que o grupo Controle). No decorrer do tempo, os ratos aumentaram a ingestão da ração, porém mantendo-se sempre menor do que o grupo Controle, indicando uma possível tolerância ao efeito hipofágico da associação. Interessantemente, esse efeito só foi observado pela associação, uma vez que a exposição crônica à fumaça do cigarro não afetou a ingestão de ração ao longo do experimento, embora ela fosse sempre menor (6,5%) que o do grupo Controle. O álcool, que se esperava, aumentasse o comportamento alimentar promoveu, ao contrário, uma redução da ingestão de alimento. Não descartamos a possibilidade de que os efeitos pelo uso continuado tenham sensibilizado o sistema serotoninérgico e dopaminérgico hipotalâmico, reduzindo o comportamento alimentar<sup>21</sup>. Embora possamos considerar que a administração por via oral (gavagem) possa interferir sobre o comportamento alimentar em função de possíveis lesões esofágicas que venham a ocorrer no ato da administração, temos que levar em conta que todos os animais eram

administrados da mesma forma e o efeito de redução do consumo de ração também deveria ser observado para os demais grupos e não apenas para o grupo Álcool.

Independentemente das alterações de comportamento alimentar, observamos que os ratos dos grupos Cigarro e Álcool+Cigarro apresentaram menor ganho de peso, 3,6 e 10,4%, ao longo do experimento. Embora o grupo Cigarro não tenha reduzido de modo significativo a ingestão de alimentos, o aumento da taxa metabólica basal e consequente aumento da atividade adrenérgica e termogênese justifica a perda de peso nesses animais<sup>22</sup>. Outro fator que também pode contribuir para redução de peso em fumantes é o retardo do esvaziamento gástrico, resultado do efeito da nicotina sobre a motilidade intestinal, aumentando a sensação de saciedade e promovendo a liberação de peptídeos intestinais sabidamente anorexígenos, como o peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1)<sup>23</sup>. Para os animais do grupo Álcool+Cigarro, a redução da ingestão de ração, associado ao aumento da taxa metabólica e alteração do trânsito intestinal justificaria perda de quase 3 vezes mais peso do que os animais do grupo Cigarro.

Com relação à ingesta hídrica, não observamos alteração pela administração de álcool, exposição à fumaça de cigarro ou sua associação. Tais resultados estão de acordo com Burns e Proctor<sup>24</sup> que também não observaram mudanças na ingesta hídrica de animais expostos à fumaça do cigarro, embora tenham observado aumento do consumo de álcool em um modelo de autoadministração.

Além das alterações sobre parâmetros metabólicos, também investigamos os efeitos da associação entre álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros bioquímicos e de leptina. Observamos que álcool, fumaça de cigarro ou sua associação aumentam a glicemia dos ratos. Porém, frequência de uso e dose de álcool são determinantes para alteração da glicemia. Cullmann e colaboradores<sup>25</sup> mostram que o consumo crônico moderado de bebidas alcoólicas reduz o risco de pré-diabetes e diabetes entre seres humanos, enquanto consumo de doses

elevadas aumentam esse risco. Paralelamente, estudos mostram que fumantes apresentam maior risco de desenvolvimento de diabetes, sendo o risco proporcional ao número de cigarros fumados por dia<sup>26</sup>. Não há estudos avaliando o efeito da associação do álcool e do cigarro. Os resultados encontrados indicam essa associação pode ser ainda mais importante para a elevação da glicemia (13%), o que poderia aumentar ainda mais o risco de desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes. Contudo, nossos resultados se mostram intrigantes em relação ao perfil lipídico. Enquanto o tratamento crônico com álcool aumentou os triglicerídeos, sem afetar o colesterol total e o HDL, a exposição à fumaça do cigarro reduziu todos esses parâmetros em ratos. Para o álcool, estudos em coelhos ou ratos mostram aumento tanto de triglicerídeos, quanto do colesterol total e do HDL após administração<sup>27</sup>. Contudo, as doses administradas e o tempo de tratamento são diferentes daqueles utilizados. Enquanto coelhos foram tratados com 15 ou 30 mg/kg/dia, por 4 semanas, os ratos foram administrados com 2 g/kg, três vezes por semana, por 3 semanas. Sugerimos, portanto que doses diárias de 2g/kg, administradas duas vezes ao dia, por 30 dias, afetaram apenas os triglicerídeos. Estudos mostram também que fumar aumenta os níveis de colesterol total e triglicerídeo, além de diminuir HDL<sup>17</sup>. Para a associação entre álcool e cigarro, os poucos estudos conduzidos em seres humanos mostram não haver afetação do HDL, mas, ainda assim, os triglicerídeos estão aumentados<sup>17</sup>. Esse é o primeiro estudo avaliando o efeito da exposição à fumaça do cigarro em ratos. Não descartamos que a resposta observada nos animais possa ser diferente daquela observada em seres humanos.

Finalmente, não observamos efeito do tratamento com álcool, exposição à fumaça do cigarro ou sua associação sobre a concentração de leptina sérica. Em linha com nossos resultados, Swislocki e Fakiri<sup>28</sup> mostraram que ratos administrados com nicotina (implante subcutâneo) por 2 meses, não mostraram diferença na concentração de leptina plasmática. Embora alguns estudos mostrem que o uso crônico de álcool aumenta a concentração de

maneira dose dependente, resultados mais consistentes são observados pela abstinência ao álcool, sugerindo que a leptina estaria aumentada em situações de fissura pelo álcool<sup>29</sup>. Em seres humanos, o uso de álcool não altera a concentração sérica de leptina, estando esse hormônio aumentado apenas em mulheres durante a abstinência<sup>30</sup>. Nosso protocolo experimental avaliou a leptina apenas algumas horas após a última administração. Não descartamos que ela pudesse estar aumentada após período mais prolongado de abstinência.

## **CONCLUSÃO**

Nosso principal objetivo nesse estudo foi avaliar o efeito da associação entre álcool e fumaça do cigarro sobre parâmetros metabólicos e bioquímicos, relacionando-os com alterações de leptina em ratos. Com base nos resultados, podemos concluir que a associação entre álcool e cigarro afeta o comportamento alimentar, observado pela redução do alimento palatável e ingestão diária de ração, bem como normaliza triglicerídeos em ratos.

Embora não tenha sido encontrada uma alteração nas concentrações de leptina, não descartamos que doses maiores de álcool, maior número de cigarros/dia ou tempo mais prolongado de tratamento possam modifica-las.

## **Agradecimentos**

Esses estudos foram parcialmente financiados pelo CNPq e Propesq-UFRGS.

## REFERÊNCIAS

1. OMS. Organização Mundial da Saúde - Global Information System on Alcohol/Tobacco and Health. 2013. Disponível em <http://apps.who.int/gho/data/node.main.GISAH>.
2. Volkow ND, Li TK. Drug addiction: the neurobiology of behavior gone awry. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5:963-70.
3. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(1):217-38. doi: 10.1038/npp.2009.110.
4. Bassareo V, Di Chiara G. Differential influence of associative and non-associative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *J. Neurosci*. 1997;17:851-61.
5. Thompson-Brenner H, Eddy KT, Franko DL, Dorer D, Vashchenko M, Herzog DB. Personality pathology and substance abuse in eating disorders: a longitudinal study. *Int. J. Eat. Disord*. 2008;41:203-8.
6. Gadalla T, Piran N. Co-occurrence of eating disorders and alcohol use disorders in women: a meta-analysis. *Arch. Womens Ment. Health* 2007;10:133-40.
7. Anzengruber D, Klump KL, Thornton L, Brandt H, Crawford S, Ficher MM, et al. Smoking in eating disorders. *Eat. Behav*. 2006;7:291-9.
8. Owen-Smith V, Hannaford PC. Stopping smoking and body weight in women living in the United Kingdom. *Br J Gen Pract*. 1999;49:989-90.
9. Von der Goltz C; Koopmann A, Dinter C, Richter A, Rockenbach C, Grosshans M, et al. Orexin and leptin are associated with nicotine craving: a link between smoking, appetite and reward. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35(4):570-7.
10. Wei M, Stern MP, Haffner SM. Serum leptin levels in Mexican Americans and non-Hispanic whites: association with body mass index and cigarette smoking. *Ann. Epidemiol*. 1997;7:81-6.

11. Nicolas JM, Fernandez-Sola J, Fatio F, Casamitjana R, Bataller R, Sacanella E, et al. Increased circulating leptin levels in chronic alcoholism. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001;1:83-8.
12. Perkins KA, Fonte C. Effects of smoking status and smoking cessation on leptin levels. *Nicotine Tob Res.* 2002;4(4):459-66.
13. Donahue RP, Zimmet P, Bean JA Decourten M, Decarlo Donahue RA, et al. Cigarette smoking, alcohol use, and physical activity in relation to serum leptin levels in a multiethnic population: The Miami Community Health Study, *Ann. Epidemiol.* 1999;9:108-13.
14. Sucov A, Woolard RH. Ethanol-associated hypoglycemia is uncommon. *Acad Emerg Med.* 1995;2:185-99.
15. Nova E, Baccan GC, Veses A, Zapatera B, Marcos A. Potential health benefits of moderate alcohol consumption: current perspectives in research. *Proc Nutr Soc.* 2012;71(2):307-15.
16. Ikemura S, Yamamoto T, Motomura G, Iwasaki K, Yamaguchi R, Zhao G, et al. Lipid metabolism abnormalities in alcohol-treated rabbits: a morphometric and haematologic study comparing high and low alcohol doses. *Int J Exp Pathol.* 2011;92(4):290-5.
17. Glueck CJ, Heiss G, Morrison JA, Khoury P, Moore M. Alcohol intake, cigarette smoking and plasma lipids and lipoproteins in 12-19-year-old children. *Circulation.* 1981;64(3 Pt 2):III 48-56.
18. Rahim A, Naveed AK. Effect of smoke on PAPP-A and lipid profile in normal rats. *J Pak Med Assoc.* 2011;61(5):496-7.
19. Miyata G, Meguid MM, Fetissof SO, Torelli GF, Kim HJ. Nicotine's effect on hypothalamic neurotransmitters and appetite regulation. *Surgery.* 1999;126:255-63.
20. Stratford TR, Wirtshafter D. Opposite effects on the ingestion of ethanol and sucrose

- solutions after injections of muscimol into the nucleus accumbens shell. *Behav Brain Res.* 2011;216(2):514-8.
21. Meguid MM, Fetissov SO, Varma M, Sato T, Zhang L, Laviano A, et al. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition.* 2000;16(10):843-57.
  22. Grunberg NE. Nicotine, cigarette smoking, and body weight, *Br. J. Addict.* 1985;80:369-77.
  23. Gritz ER, Ippoliti A, Jarvik ME, Rose JE, Shiffman S, Harrison A, et al. The effect of nicotine on the delay of gastric emptying. *Aliment Pharmacol Ther.* 1988;2(2):173-8.
  24. Burns BE, Proctor WR. Cigarette smoke exposure greatly increases alcohol consumption in adolescent C57BL/6 mice. *Alcohol Clin Exp Res.* 2013;37(1):364-72.
  25. Cullmann M, Hilding A, Östenson CG. Alcohol consumption and risk of pre-diabetes and type 2 diabetes development in a Swedish population. *Diabet Med.* 2012;29(4):441-52.
  26. Rimm EB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Rosner B, et al. Cigarette smoking and the risk of diabetes in women. 1993;83(2):211-4.
  27. Adaramoye OA, Oloyede GK. Effect of moderate ethanol administration on biochemical indices in streptozotocin-diabetic Wistar rats. *West Indian Med J.* 2012;61(1):3-9
  28. Swislocki AL, Fakiri Z. Smokeless nicotine exposure has no lasting effect on fasting or postglucose circulation leptin in young rats. *Metab Syndr Relat Disord.* 2008;6(4):257-62. doi: 10.1089/met.2008.0017.
  29. Kenna GA, Swift RM, Hillemacher T, Leggio L. The relationship of appetitive, reproductive and posterior pituitary hormones to alcoholism and craving in humans. *Neuropsychol Rev.* 2012;22(3):211-28.

30. Cardoso Fernandes Toffolo M, Aparecida Marliere C, Nascimento de Freitas S, Silva de Aguiar Nemer A. Increasing leptin level in abstaining alcohol-dependent women. *Nutr Hosp.* 2012;27(3):781-8.

**Tabela 1.** Efeito da administração crônica (30 dias) de álcool (4 g/kg/dia), da exposição à fumaça de cigarro (12 cigarros/dia) ou da associação entre essas duas drogas de abuso sobre parâmetros bioquímicos no soro de ratos. ANOVA-2 vias + Bonferroni. Média  $\pm$  desvio padrão; **a**: diferente do Controle; **b**: diferente do Álcool; **c**: diferente do Cigarro; **d**: diferente de Álcool+Cigarro.

<b>Grupos</b>	<b>N</b>	<b>Glicose (g/dL)</b>	<b>Triglicerídeos (g/dL)</b>	<b>Colesterol total (g/dL)</b>	<b>HDL (g/dL)</b>
<b>Controle</b>	10	127,8 $\pm$ 4,5	95,3 $\pm$ 5,4	45,4 $\pm$ 4,1	25,4 $\pm$ 1,9
<b>Álcool</b>	9	141,0 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	131,6 $\pm$ 4,9 <sup>a,c,d</sup>	48,4 $\pm$ 2,6	26,4 $\pm$ 2,3
<b>Cigarro</b>	10	135,6 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	47,8 $\pm$ 5,8 <sup>a,c,d</sup>	39,1 $\pm$ 2,5 <sup>a,b</sup>	20,7 $\pm$ 1,1 <sup>a,b</sup>
<b>Álcool + Cigarro</b>	10	144,6 $\pm$ 2,9 <sup>a,c</sup>	96,8 $\pm$ 6,6	36,9 $\pm$ 1,7 <sup>a,b</sup>	20,5 $\pm$ 1,1 <sup>a,b</sup>

## Legenda das figuras

**Figura 1.** Tempo de latência para primeira mordida (A) e consumo (B) dos biscoitos doces no teste de comportamento alimentar. Média  $\pm$  erro padrão; n=9-10/grupo; Kruskal-walis + Dunn. # diferente dos grupos Controle e Álcool,  $P < 0,05$ ; \* diferente do grupo Controle,  $P = 0,003$ .

**Figura 2.** Consumo médio semanal de ração de ratos tratados com álcool (4g/kg/dia), via gavagem, expostos à fumaça de 12 cigarros/dia, via inalatória, ou sua associação, por 30 dias. Média  $\pm$  erro padrão; n=9-10/grupo; ANOVA 2 vias de medidas repetidas + Bonferroni. \* diferente dos demais grupos na mesma semana,  $P < 0,001$ ; # diferente do grupo Controle e grupo Cigarro na mesma semana,  $P < 0,001$ .

**Figura 3.** Concentração sérica de leptina de ratos tratados com álcool (4g/kg/dia), via gavagem, expostos à fumaça de 12 cigarros, via inalatória, ou sua associação, por 30 dias. Média  $\pm$  erro padrão; n=5-6/grupo; ANOVA-2 vias + Bonferroni.

Figura 1

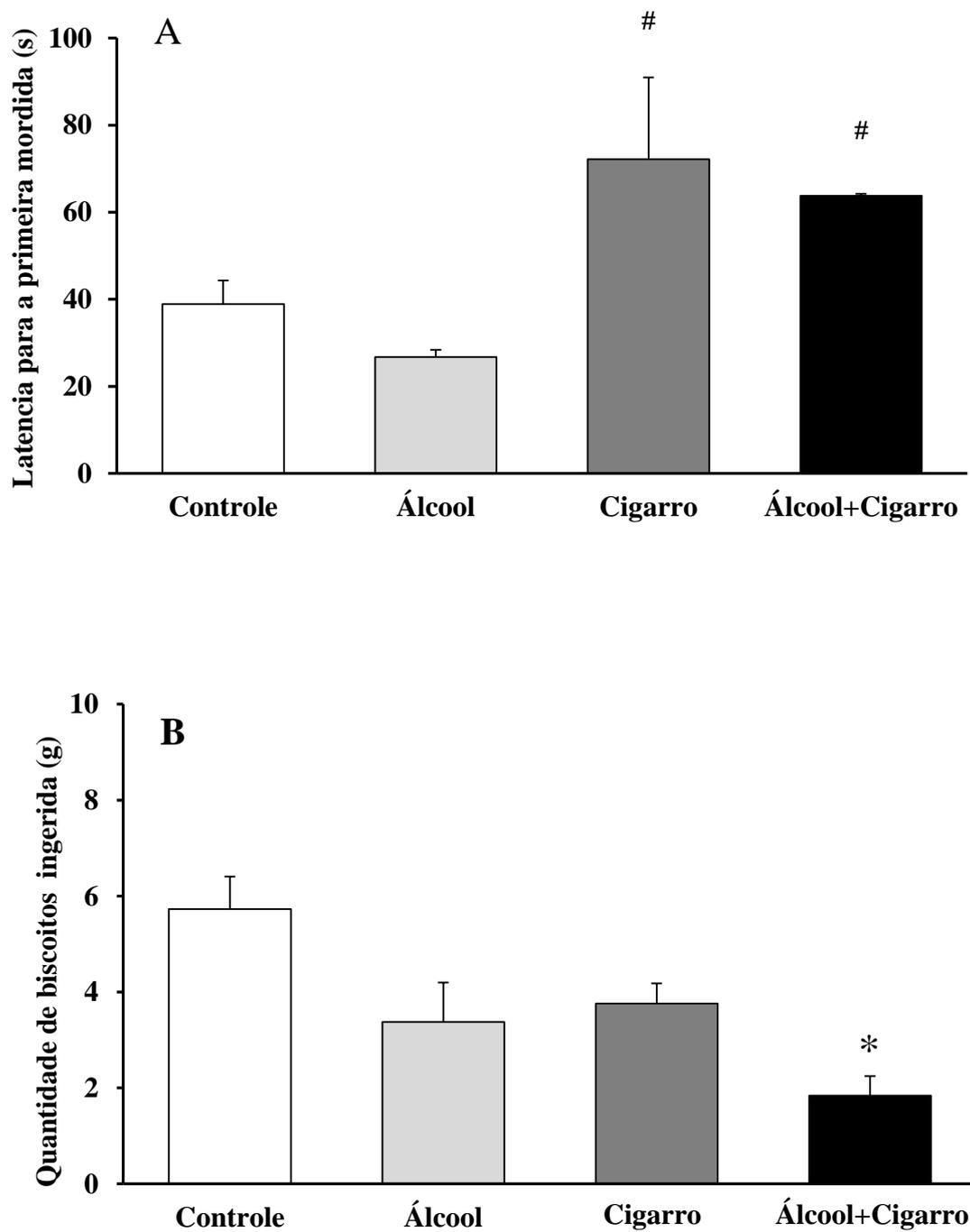
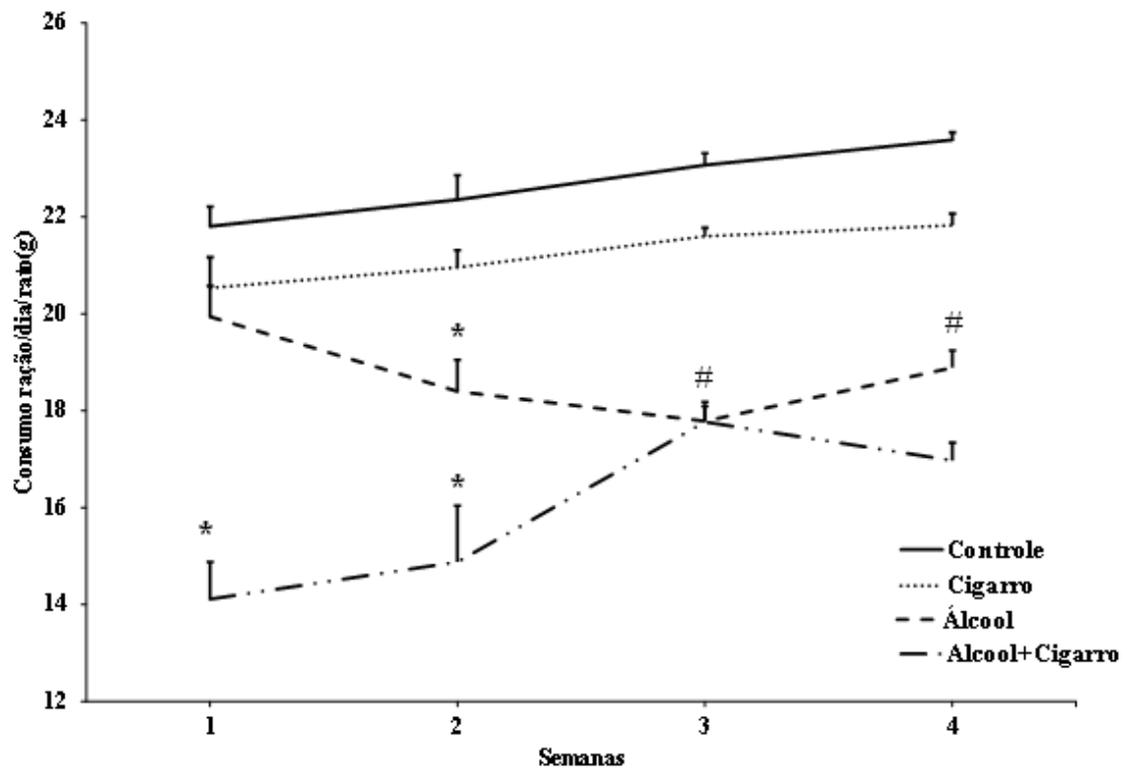
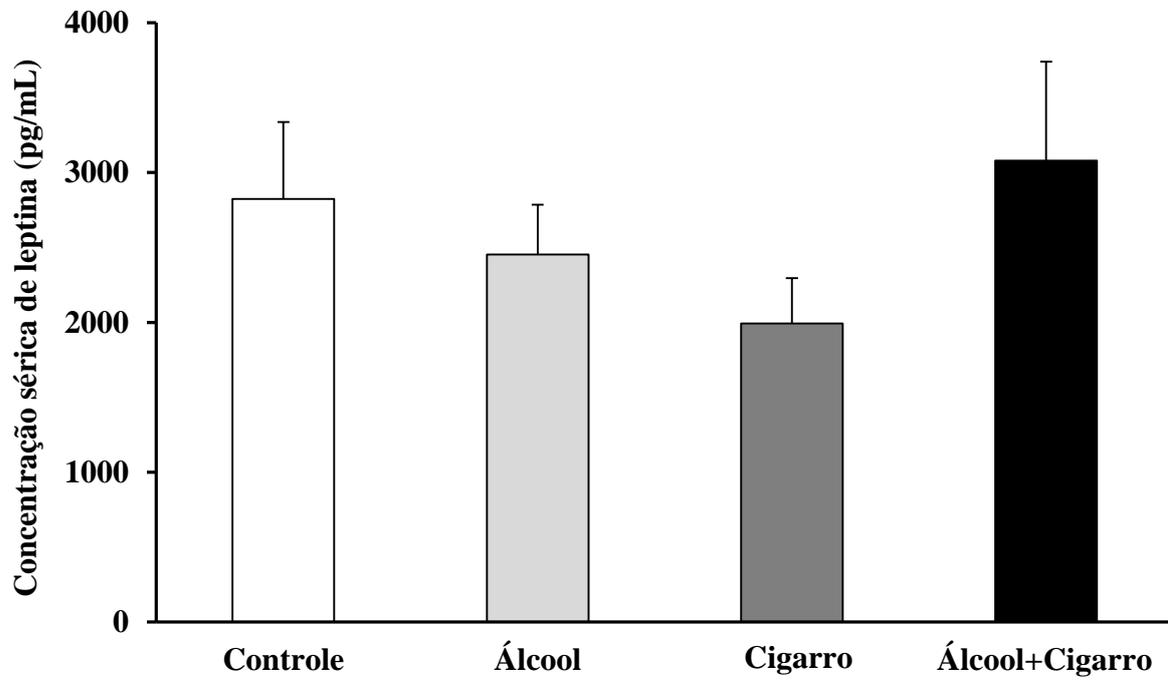


Figura 2



**Figura 3**



## ANEXOS

### Anexo 1. Normas de Publicação

A **Revista Neurociências** é voltada à Neurologia e às ciências afins. Publica artigos de interesse científico e tecnológico, realizados por profissionais dessas áreas, resultantes de estudos clínicos ou com ênfase em temas de cunho prático, específicos ou interdisciplinares. Serão aceitos artigos em inglês, português ou espanhol. Seus volumes anuais e números trimestrais serão publicados em março, junho, setembro e dezembro. A linha editorial da revista publica, preferencialmente, artigos Originais de pesquisa (incluindo Revisões Sistemáticas). Contudo, também serão aceitos para publicação os artigos de Revisão de Literatura, Atualização, Relato de Caso, Resenha, Ensaio, Texto de Opinião e Carta ao Editor, desde que aprovados pelo Corpo Editorial. Trabalhos apresentados em Congressos ou Reuniões Científicas de áreas afins poderão constituir-se de anais em números ou suplementos especiais da Revista Neurociências.

Os artigos deverão ser inéditos, isto é, não publicados em outros periódicos, exceto na forma de Resumos em Congressos e não deverão ser submetidos a outros periódicos simultaneamente, com o quê se comprometem seus autores. Os artigos devem ser submetidos eletronicamente, via e-mail para o endereço: [revistaneurociencias@yahoo.com](mailto:revistaneurociencias@yahoo.com). Recebido o manuscrito, o Corpo Editorial verifica se o mesmo encontra-se dentro dos propósitos do periódico e de acordo com as Normas de Publicação, recusando-se aqueles que não cumprirem essas condições. O Corpo Editorial emitirá um Protocolo de Recebimento do Artigo e enviará a Carta de Autorização, a ser assinada por todos os autores, mediante confirmação de que o artigo seja inédito, e uma declaração de eventuais conflitos de interesse pessoais, comerciais, políticos, acadêmicos ou financeiros de cada autor. O Corpo Editorial enviará, então, o artigo para, pelo menos, dois revisores dentro da área do tema do artigo, no sistema de arbitragem por pares. O Corpo Editorial analisará os pareceres e encaminhará as sugestões para os autores, para aprimoramento do conteúdo, da estrutura, da redação e da clareza do texto. Os autores terão 15 dias para revisar o texto, incluir as modificações sugeridas, cabendo-lhes direito de resposta. O Corpo Editorial, quando os revisores sugerirem a adição de novos dados, e a depender do estudo, poderá prover tempo extra aos autores, para cumprimento das solicitações. O Corpo Editorial verificará as modificações realizadas no texto e, se necessário, sugerirá correções adicionais. O Corpo Editorial poderá aceitar o artigo para publicação ou recusá-lo se for inadequado. Para publicação, será observada a ordem cronológica de aceitação dos artigos e distribuição regional. Os artigos aceitos estarão sujeitos a adequações de gramática, clareza do texto e estilo da Revista Neurociências sem prejuízo ao seu conteúdo. Ficará subentendido que os autores concordam com a exclusividade da publicação do artigo no periódico, transferindo os direitos de cópia e permissões à publicadora. Separatas poderão ser impressas sob encomenda, arcando os autores com seus custos. Os artigos são de responsabilidade de seus autores.

A partir de maio de 2012, todos os artigos aceitos para publicação deverão ser publicados com o número DOI (Digital Object Identifier), com o custo de 10 dolares a serem pagos pelos autores.

### INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

[www.revistaneurociencias.com.br](http://www.revistaneurociencias.com.br)

**Submissão do artigo:** os artigos deverão ser encaminhados ao Editor Chefe via email: [revistaneurociencias@yahoo.com](mailto:revistaneurociencias@yahoo.com) e poderão ser utilizados editores de texto,

preferencialmente “Word”, no formato “doc”, uma coluna, espaço duplo, *Times New Roman*, fonte 12.

**Categoria de artigos:** Editorial, Original, Revisão Sistemática, Revisão de Literatura, Atualização, Relato de Caso, Resenha, Ensaio, Texto de Opinião e Carta ao Editor. O número de palavras inclui texto e referências bibliográficas (não devem ser considerada folha de rosto com título, autores, endereço de correspondência, resumo e summary e tabelas, figuras e gráficos). Adotar as recomendações abaixo.

**I - Editorial:** a convite do Editor, sob tema específico, deve conter no máximo 2000 palavras e no máximo 10 referências bibliográficas (estilo Vancouver).

**II - Artigos Original, Revisão Sistemática e Relato de Caso:** resultado de pesquisa de natureza empírica, experimental ou conceitual (6000 palavras).

**Título:** em inglês e em português ou espanhol, sintético e restrito ao conteúdo, contendo informação suficiente para catalogação, não excedendo 90 caracteres. A Revista prefere títulos informativos.

**Autor(es):** referir nome(es) e sobrenome(s) por extenso. Referir a instituição em que foi feita a pesquisa que deu origem ao artigo. Referir formação acadêmica, titulação máxima e vínculo profissional mais importante de cada autor, por ex.: 1- Neurologista, Livre Docente, Professor Adjunto da UNIFESP, 2- Neurologista, Pós-graduando na UNICAMP, 3- Neurologista, Residente no Hospital São Paulo - UNIFESP. Referir suporte financeiro. A ordem dos autores deve seguir orientação Vancouver: primeiro autor o que realizou o projeto, último autor o orientador. O orientador ou professor da instituição deve ser indicado como autor correspondente.

**Resumo e Abstract:** devem permitir uma visão panorâmica do trabalho. O resumo deve ser estruturado em objetivos, métodos, resultados e conclusões. Não exceder 200 palavras.

**Unitermos e Keywords:** Máximo de 6 (seis), referir após o Resumo e o Abstract, respectivamente. Como guia, consulte descritores em ciências da saúde (<http://decs.bvs.br>).

**Corpo do Artigo:** apresentar a matéria do artigo sequencialmente: introdução e objetivo; método (sujeitos ou relato de caso, número do protocolo do Comitê de Ética da Instituição, procedimento ou intervenção e análise estatística) com detalhes suficientes para a pesquisa poder ser duplicada, resultados (apresentados de forma clara e concisa), discussão (interpretação dos resultados comparados à literatura), conclusões, agradecimentos, referências bibliográficas. As abreviações devem vir acompanhadas do seu significado na primeira vez que aparecerem no texto. Nomes comerciais e marcas registradas devem ser utilizados com parcimônia, devendo-se dar preferência aos nomes genéricos.

**Agradecimentos:** Devem ser feitos a pessoas ou Instituição que auxiliou diretamente a pesquisa, mas que não cabem como autores do trabalho.

**Figuras, Quadros, Gráficos e Tabelas:** Juntos não poderão exceder 5. Deverão ser apresentados em páginas separadas e no final do texto. Em cada um, deve constar seu número de ordem, título e legenda. As figuras e gráficos devem ter tamanho não superior a 6cm x 9cm, com alta resolução (300) e em arquivo JPEG. Identificar cada ilustração com seu número de ordem e legenda. Ilustrações reproduzidas de textos já publicados devem ser acompanhadas de autorização de reprodução, tanto do autor como da publicadora. O material recebido não será devolvido aos autores. Manter os negativos destas.

**Referências:** Máximo de 30 (as Revisões Sistemáticas deverão solicitar o aumento do número de referências ao Editor, conforme a necessidade), restritas à bibliografia essencial ao conteúdo do artigo. Todos os autores e trabalhos citados no texto devem constar na listagem de referências bibliográficas. No texto, as citações devem seguir o sistema numérico, isto é, são numerados por ordem de sua citação no texto, utilizando-se números arábicos

sobrescritos segundo o estilo Vancouver ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)). Por exemplo: “...o horário de ir para a cama e a duração do sono na infância e adolescência6-12,14,15.” As referências devem ser ordenadas consecutivamente na ordem na qual os autores são mencionados no texto. Mais de 6 autores, listar os **6 primeiros** seguidos de “et al.”.

a) **Artigos:** Autor(es). Título do artigo. Título do periódico (abreviados de acordo com o Index Medicus) ano; volume: página inicial – final. Ex.: Wagner ML, Walters AS, Fisher BC. Symptoms of attentiondeficit/ hyperactivity disorder in adults with restless legs syndrome. Sleep. 2004;27:1499-504.

b) **Livros:** Autor(es) ou editor(es). Título do livro. Edição, se não for a primeira. Tradutor(es), se for o caso. Local de publicação: editora, ano, total de páginas. Ex.: Ferber R, Kriger M. Principles and practice of sleep medicine in the child. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995, 253p.

c) **Capítulos de livros:** Autor(es) do capítulo. Título do capítulo. *In:* Editor(es) do livro. Título do livro. Edição, se não for a primeira. Tradutor(es), se for o caso. Local de publicação: editora, ano, página inicial e página final. Ex.: Stepanski EJ. Behavioral Therapy for Insomnia. *In:* Kryger MH; Roth T, Dement WC (eds). Principles and practice of sleep medicine. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000, p.647-56.

d) **Resumos:** Autor(es). Título. Periódico ano; volume (suplemento e seu número se for o caso): página(s). Quando não publicado em periódico: Título da publicação. Cidade em que foi publicada: editora, ano, página(s). Ex.: Carvalho LBC, Silva L, Almeida MM. Cognitive dysfunction in sleep breathing disorders children. Sleep. 2003; 26(Suppl):A135.

e) **Comunicações pessoais** só devem ser mencionadas no texto entre parênteses.

f) **Tese:** Autor. Título da obra, seguido por (tese) ou (dissertação). Cidade: instituição, ano, número de páginas. Ex.: Fontes SV. Impacto da fisioterapia em grupo na qualidade de vida de pacientes por AVCi (Tese). São Paulo: UNIFESP, 2004, 75p.

g) **Documento eletrônico:** Título do documento (Endereço na Internet). Local: responsável (atualização mês/ano; citado em mês/ano). Disponível em: site. Ex.: The pre-history of cognitive science (endereço na Internet). Inglaterra: World Federation Neurology. (última atualização 12/2005; citado em 01/2006). Disponível em: <http://www.wfneurology.org/index.htm>

**Recomendações:** não colocar nome de autores e datas no texto, apenas indicar o número da referência; não utilizar referências *apud*, dar preferência ao artigo original; não fazer citações em notas de rodapé; O Corpo Editorial segue a padronização da Sociedade Brasileira de Doenças Cerebrovasculares de 1996, utilizando o termo Acidente Vascular Cerebral – AVC.

**III - Artigos de Revisão de Literatura e Atualização:** revisão crítica de literatura ou atualização relativa a neurociências, com ênfase em causa, diagnóstico, prognóstico, terapia ou prevenção (8000 palavras).

**Título:** em inglês e em português ou espanhol, sintético e restrito ao conteúdo, contendo informação suficiente para catalogação, não excedendo 90 caracteres. A Revista prefere títulos informativos.

**Autor(es):** referir nome(es) e sobrenome(s) por extenso. Referir a instituição em que foi feita a pesquisa que deu origem ao artigo. Referir formação acadêmica, titulação máxima e vínculo profissional de cada autor, ex.: 1- Neurologista, Livre Docente, Professor Adjunto da UNIFESP, 2- Neurologista, Pós-graduando na UNICAMP, 3- Neurologista, Residente no Hospital São Paulo - UNIFESP. Referir suporte financeiro. Identificar o autor e endereço para correspondência.

**Resumo e Abstract:** devem permitir uma visão panorâmica do trabalho. O resumo deve ser estruturado em objetivos, métodos, resultados e conclusões. Não exceder 200 palavras.

**Unitermos e Keywords:** Máximo de 6 (seis), referir após o Resumo e o *Abstract*, respectivamente. Como guia, consulte descritores em ciências da saúde (<http://decs.bvs.br>).

**Corpo do Artigo:** apresentar a matéria do artigo sequencialmente: introdução, método, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas.

**Referências:** citar até 100 referências, seguindo o sistema numérico por ordem de sua citação no texto, segundo o estilo Vancouver.

**Quadros e Tabelas:** juntos não devem exceder 2, apresentados em páginas separadas e no final do texto. Em cada um, deve constar seu número de ordem, título e legenda.

**IV - Artigos de Resenha:** é a apresentação do conteúdo de uma obra (livros publicados, teses e dissertações dos últimos dois anos), acompanhada de uma avaliação crítica (3000 palavras).

As Resenhas devem seguir os itens: título em inglês e em português ou espanhol, sintético e restrito ao conteúdo, mas contendo informação suficiente para catalogação, não excedendo 90 caracteres. Nome do(s) autor(es), com formação, titulação acadêmica e vínculo profissional, instituição onde o trabalho foi realizado, endereço para correspondência. **Resumo e Abstract:** até 200 palavras com **Unitermos e Keywords:** Máximo de 6 (seis). Como guia, consulte descritores em ciências da saúde (<http://decs.bvs.br>). Corpo do texto contendo: tema, hipótese ou idéia central; argumentos; evidências científicas; avaliação pessoal quanto à organização da obra, pontos fortes e fracos, bibliografia utilizada (estilo Vancouver); conclusão, críticas e comentários.

**V - Ensaio:** é um texto literário breve, situado entre o poético e o didático, expondo idéias, críticas e reflexões morais e filosóficas a respeito de certo tema pesquisado na área das neurociências (3000 palavras). Deverá conter: título em inglês e em português ou espanhol, sintético e restrito ao conteúdo, mas contendo informação suficiente para catalogação, não excedendo 90 caracteres. Nome do(s) autor(es), com formação, titulação acadêmica e vínculo profissional, instituição onde o trabalho foi realizado, endereço para correspondência; e no máximo 10 referências bibliográficas no estilo Vancouver. **Resumo e Abstract:** até 200 palavras com **Unitermos e Keywords:** Máximo de 6 (seis). Como guia, consulte descritores em ciências da saúde (<http://decs.bvs.br>).

**VI - Texto de Opinião e Carta ao Editor:** deve conter opinião qualificada sobre um tema na área de neurociências, nota curta, crítica sobre artigo já publicado na Revista Neurociências ou relato de resultados parciais ou preliminares de pesquisa (1000 palavras). Deverá conter: título em inglês e em português ou espanhol, sintético e restrito ao conteúdo, mas contendo informação suficiente para catalogação, não excedendo 90 caracteres. Nome do(s) autor(es), com formação, titulação acadêmica e vínculo profissional, instituição onde o trabalho foi realizado, endereço para correspondência; e no máximo 10 referências bibliográficas (estilo Vancouver).

## Anexo 2. Carta encaminhada ao Comitê de  tica UFRGS – CEUA

### UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

#### Formulário de Encaminhamento de Projeto de Pesquisa   CEUA

##### 1. DADOS DO PROJETO:

N  do projeto no Sistema de Pesquisa:

Titulo: **Efeito da associa o do álcool e do cigarro sobre o comportamento alimentar e ansiedade de ratos**

Departamento ou Programa de Pós-Gradua o: Departamento de Farmacologia

Unidade: ICBS

Projeto de Tese ou Disserta o?  Sim  Não

##### 2. PESQUISADOR: Rosane Gomez

Cartão UFRGS: 12762

Unidade: ICBS – Departamento de Farmacologia

Telefone para contato: 33083121

E-mail: rosane.gomez@ufrgs.br

##### 3. COLABORADORES:

Dayane Alves Quinteros – Bolsista de IC

##### 4. LOCAL:

Laboratório do álcool e Tabaco (LAT), sala 204, ICBS. Os animais ficarão alojados no rat rio do Departamento de Farmacologia, no 2  andar do ICBS.

##### 5. TEMPO DE EXECU O:

Período previsto para desenvolver este projeto: 9 meses

In cio (mês/ano): 03/12

Término (mês/ano): 12/12

## 6. TERMO DE RESPONSABILIDADE

Estou ciente dos princípios éticos para o uso de animais para fins didáticos e de pesquisa científica. Conheço e cumprirei a legislação vigente, que normatiza as formas de conduta e tratamento com os animais (Lei 11.794/08 e Decreto 6899/09 da Presidência da República).

Nesse trabalho considerou-se a possibilidade de utilizar métodos alternativos aos modelos animais. Entretanto, concluiu-se que eles não estão disponíveis ou são inadequados por razões científicas. Considerou-se o princípio dos 3R (*replacement, reduction e refinement*, isto é, substituição, redução e refinamento). Ou seja:

- buscou-se a substituição de vertebrados por seres não sencientes,
- será utilizado um número mínimo de animais no experimento
- os procedimentos foram planejados de modo a minimizar o desconforto provocado ao animal durante o experimento.

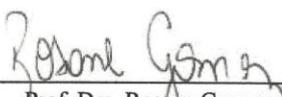
Este estudo não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e a equipe que participa desta atividade foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos nesse protocolo.

Comprometo-me a informar, por ofício, a CEUA/UFRGS eventuais alterações significativas nos experimentos aqui descritos, antes da implementação das mesmas.

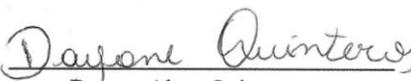
Tudo o que foi declarado nesse protocolo é a absoluta expressão da verdade. Estou ciente que o não cumprimento das condições aqui especificadas é de minha total responsabilidade (pesquisador principal) e que estarei sujeito às punições previstas na legislação em vigor.

Porto Alegre, 25 de Janeiro de 2012.

Assinatura do pesquisador responsável:

  
Prof. Dra. Rosane Gomez  
Dep. Farmacologia – ICBS - UFRGS

Assinatura dos componentes da equipe:

  
Dayane Alves Quinteros  
Bolsista de IC  
Dep. Farmacologia – ICBS - UFRGS

### Anexo 3. Aprovação do Comitê de ética UFRGS – CEUA



**UFRGS**

UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais



#### **CARTA DE APROVAÇÃO**

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

**Número:** 22444

**Título:** Efeito da associação do álcool e do cigarro sobre o comportamento alimentar e ansiedade de ratos

**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

ROSANE GOMEZ - coordenador de 05/05/2012 até 31/12/2012

DAYANE ALVES QUINTEROS - pesquisador de 05/05/2012 até 31/12/2012

*Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 16/04/2012 - Sala de Reuniões do 2º andar, no Prédio da Reitoria, Campus Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 48 ratos machos, adultos, Wistar de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.*

Porto Alegre, Segunda-Feira, 23 de Abril de 2012

  
\_\_\_\_\_  
FLAVIO ANTONIO PACHECO DE ARAUJO  
Coordenador da comissão de ética