

EFEITO DA INGESTÃO CRÔNICA DE VINHO SOBRE A HOMEOSTASE GLICÊMICA, LIPÍDICA E PONDERAL EM CAMUNDONGOS

Effect of chronic ingestion of wine on the glycemic, lipid and body weight homeostasis in mice

Sebastião Barreto de **BRITO-FILHO**¹, Egberto Gaspar de **MOURA**², Orlando José dos **SANTOS**¹, Euler Nicolau **SAUAIA-FILHO**¹, Elias **AMORIM**¹, Ewaldo Eder Carvalho **SANTANA**¹, Allan Kardec Dualibe **BARROS-FILHO**¹, Rennan Abud Pinheiro **SANTOS**¹

Trabalho realizado no ¹Laboratório da Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão, Departamento de Medicina II, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, MA, e ²Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

RESUMO Racional: Os benefícios para a saúde associados ao consumo moderado de vinho, como etanol e compostos fenólicos, incluem mecanismos diferentes ainda pouco compreensíveis. **Objetivo:** Avaliar as variações da glicemia, peso e depósito de triglicédeos, colesterol e glicogênio hepático com o uso de vinho tinto. **Métodos:** Sessenta camundongos ApoE knockout foram divididos em três grupos de 20: Grupo do Vinho (WG), grupo do Etanol (EG) Grupo Água (WAG). Cada grupo recebeu diariamente: WG 50 ml de vinho e 50 ml de água; EG 6 ml de etanol e WAG 94 ml de água. **Resultados:** O WG teve aumento de peso mais elevado em comparação com os outros grupos. A concentração de triglicédeos foi maior no WG (57%) e no grupo EG inferior (31,6%) do que no controle ($p < 0,01$). A concentração de colesterol foi inferior no WG (23,6%) e no EG (24,5%, $p < 0,05$). A concentração de glicogênio foi maior no WG (16%); a glicemia capilar foi maior no EG em comparação com os outros grupos, mas não demonstrou diferença estatisticamente significativa. **Conclusão:** Triglicédeos ficaram aumentados no WG e o colesterol diminuiu no WAG. Os triglicédeos podem ter aumentado devido ao alto valor calórico do vinho ou alguma propriedade desconhecida que levou ao aumento significativo da gordura subcutânea e retroperitoneal nos camundongos.

DESCRIPTORIOS: Homeostase. Camundongos. Vinho.

Correspondência:

Orlando José dos Santos
E-mail: orlanddojs@hotmail.com

Fonte de financiamento: FAPEMAFundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 04/03/2016
Aceito para publicação: 24/05/2016

HEADINGS Homeostasis. Mice. Wine.

ABSTRACT Background: The health benefits associated with moderate wine consumption, as with ethanol and phenolic compounds, include different mechanisms still little understandable. **Aim:** Evaluate glycemic and weight variations, and the deposit of triglycerides, cholesterol and liver glycogen with red wine consumption. **Methods:** 60 ApoE knockout mice were divided into three groups of 20: Wine Group (WG), Ethanol Group (EG) and Water Group (WAG). They received daily: WG 50 ml of wine and 50 ml water; EG 6 ml ethanol and WAG 94 ml of water. All groups were followed for four months. The food intake was monitored daily, in the period from eight to ten hours and held every five days. The measurement of water intake was also made every five days. The weighing of the animals took place every ten days. **Results:** The WG had higher weight increase as compared to the other groups. The concentration of hepatic triglyceride was higher in WG (57%) and the EG group was lower (31.6%, $p < 0.01$) than the control. The concentration of cholesterol was lower in the WG (23.6%), as well as EG (24.5%, $p < 0.05$). The concentration of glycogen was higher in WG (16%) and fasting blood glucose was higher in EG compared to the other groups but not both demonstrated a statistically significant difference. **Conclusion:** The WG increased triglyceride and WAG decreased cholesterol. The triglyceride may be increased due to the high caloric value of wine or some unknown property that led to significant increase in subcutaneous and retroperitoneal fat in mice.

INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos de consumo de vinho tanto como bebida como para fins medicinais datam de 7.000 anos a.C. Registro em papiros do Egito e tábuas dos Sumérios (cerca de 2200 anos a.C) traziam receitas de cura baseadas em vinho o que as consagra como a mais antiga prescrição médica documentada²⁷. Hipócrates (cerca de 400 anos a.C) usava e recomendava o vinho como desinfetante, medicamento associado à outras drogas e como parte de dieta saudável²³. Galeno (século II d.C) empregava o vinho na cura das feridas dos gladiadores, como desinfetante¹³.

O uso do vinho foi popularizado ao longo da história, para os mais diversos fins. Entretanto, a partir do final do século XIX, a visão do vinho como medicação começou a sofrer alterações. O alcoolismo passou a ser considerado doença e os males e benefícios do consumo começaram a ser estudados. Referências sobre o benefício com o consumo regular surgiram em 1992 com a publicação do "Paradoxo Francês". O termo que significa aparente incompatibilidade entre o consumo exagerado de lipídios na dieta com a baixa incidência de doenças cardiovasculares, podendo ser atribuída ao consumo regular de vinho tinto por apresentar na sua composição compostos fenólicos, em especial flavonoides, os quais inibem as reações de oxidação de LDL e consequentemente ação inibidora das placas ateroscleróticas^{7,10}.

Vários estudos avaliaram o benefício das bebidas alcoólicas, com ênfase no vinho,

consumo de bebidas alcoólicas diferentes (cerveja e destilados) e risco de morte por doenças cardiovasculares em população de 13.000 pessoas na Dinamarca em um ano. Foi demonstrado que o consumo diário de vinho reduziu significativamente o risco de morte pelas enfermidades cardiovasculares, enquanto as demais bebidas alcoólicas acarretaram pouca ou nenhuma alteração. Entretanto, também há relatos que a partir de certo patamar de consumo diário, o vinho exerce efeito contrário, com elevação do risco de morte por cirrose ou outras doenças. Ficou claro que o vinho reduziu os riscos de doenças vasculares por conterem outros compostos na bebida além do etanol²⁹.

Os benefícios do consumo de vinho estão relacionados ao etanol e aos compostos fenólicos presentes, em especial o resveratrol. A função do resveratrol na uva é proteger contra fungos, bactérias, vírus e radiação solar, e é encontrado na casca, semente e polpa da uva. Os possíveis efeitos benéficos à saúde são vários, mas não muito bem entendidos^{1,3,5,6,8,9,11,12,14,15,16,17,29,30}.

Como o vinho é largamente utilizado nas dietas e possui aporte calórico elevado, sua contribuição no ganho ponderal e controle glicêmico pode ser considerável. Dessa forma com o consumo habitual há o favorecimento de um maior estoque de lipídios e aumento do peso corporal e conseqüentemente aparecimento da obesidade. O acúmulo de gorduras acontece preferencialmente no abdome. O etanol também é considerado um estimulador do apetite com atuação em vários sistemas neuroquímicos através da inibição da leptina e serotonina ou incrementando o efeito do ácido gama-aminobutírico, opióides e neuropeptídeo Y^{19,24}.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito crônico de vinho tinto sobre a glicemia, lipídios e homeostase do peso corporal em camundongos knockout ApoE geneticamente modificados.

MÉTODOS

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 60 camundongos ApoE Knockout, machos, adultos de peso médio de 30 g. Os animais permaneceram à temperatura de 22±3° C com períodos claro/escuro de 12 h. O experimento foi conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal como recomenda o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal do Centro de Ciências Agrárias do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), sob o protocolo 002/2011.

Os animais foram distribuídos em três grupos: Grupo Vinho (GV), Grupo Etanol (GE) e Grupo Água (GA) de 20 camundongos ApoE Knockout cada, mantidos em 15 gaiolas com quatro animais, recebendo ração padrão e identificados em cada gaiola com marcações na cabeça (C), cauda superior (CS), cauda inferior (CI) e sem marca (SM), durante quatro meses.

No GV, os animais receberam dieta comercial (Nuvital®, Brasil) com livre acesso ao reservatório de água acrescido de vinho, 50 ml de vinho+50 ml de água. O vinho tinto foi da uva pinot noir (5,13 mg de resveratrol/l, 13% vol). No GE, os animais foram submetidos à mesma dieta com livre acesso ao recipiente hídrico contendo 6 ml de etanol +94 ml de água. O GA recebeu à mesma dieta dos grupos anteriores com livre acesso ao reservatório contendo somente água (100 ml).

A ingestão alimentar foi controlada diariamente, no horário entre oito e dez horas e realizada a cada cinco dias. A medição da ingestão hídrica foi feita também a cada cinco dias. A pesagem dos animais ocorreu a cada dez dias.

Morte dos animais

Todos os grupos foram acompanhados por quatro meses. Na véspera do dia da morte todos foram colocados em jejum, e após período de 12 h, aferiu-se a glicemia de jejum com auxílio de glicosímetro ACCU-CHEK active® e em seguida induzidos a morte com dose letal de anestésicos. Foi feita combinação de cetamina (Ketalar®) na dose de 15 mg/kg com xilasina (Rompum®) na dose de 3 mg/kg por via intramuscular.

Após a morte de cada animal foi feita abertura da cavidade abdominal e o fígado e as gorduras viscerais (retroperitoneal e epididimal) e subcutânea (inguinal) foram coletadas e pesadas. Os depósitos de tecido adiposo foram coletados de ambos os lados do corpo e estabeleceu-se como gordura retroperitoneal o depósito existente em volta de cada rim e ao longo dos músculos lombares, e a gordura epididimal como o tecido adiposo ao redor dos ureteres, bexiga e epidídimo.

Parte do tecido adiposo epididimal foi armazenado em solução de formalina de Millonig (1,27 mol/l formaldeído em 0.1 M de tampão fosfato, pH 7.2) para fixação e posterior processamento histológico.

Morfometria do tecido adiposo

Após a etapa de fixação, mínima de 48 h, o material seguiu para o processamento histológico composto por desidratação em concentrações crescentes de álcool, diafanização em xilol e inclusão em Paraplast Plus (Sigma-Aldrich, Co, St. Louis, MO, EUA). Posteriormente, obteve-se cortes aleatórios e não sequenciais de 5 µm para a confecção de lâminas histológicas, que foram, em seguida, submetidas à coloração de hematoxilina-eosina.

Foram realizadas 10 fotomicrografias por animal (formato TIFF, cor 36-bit, 1360x1024 pixels) com câmera Olympus DP71 e com Olympus BX40 microscópio de fluorescência (Olympus, Tokyo, Japão). As análises da área seccional dos adipócitos foram realizadas através do programa Image-Pro Plus versão 5.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

Análises bioquímicas

O glicogênio hepático foi avaliado através da glicose produzida pela hidrólise do glicogênio hepático utilizando o kit comercial e técnica específica para ele.

O triglicerídeo hepático, foi analisado por amostras de fígado (50 mg) homogeneizadas e centrifugadas. O teor de triglicéridos foi quantificado por kit comercial colorimétrico de acordo com as especificações do fabricante.

O colesterol hepático foi medido a partir do mesmo homogeneizado do processamento de triglicéridos com análise colorimétrica.

Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando-se o programa Stata 10.0 for Windows. Os resultados foram expressos em média±desvio-padrão. Para comparação entre as médias foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e o teste T para amostras não pareadas com variâncias iguais. O nível de significância utilizado para se rejeitar a hipótese da nulidade foi de 0,05.

RESULTADOS

Avaliação da massa corporal

Comparando os grupos, a massa corporal dos camundongos do grupo vinho teve média de peso maior em aproximadamente 6,35% que os outros grupos, mostrando diferença estatisticamente significativa, p<0,001% (Tabela 1 e Figura 1).

TABELA 1 - Diferenças de massa corporal entre os grupos

	Peso médio (g)	Desvio-padrão (g)	Mínimo (g)	Máximo (g)
GV	44,56	6,22	25	59
GE	42,43	5,62	27	56
GA	41,40	6,69	24	59

GV= grupo vinho; GE=grupo etanol; GA=grupo água

Análise bioquímica

Na avaliação de triglicerídeos hepáticos a média foi maior no GV comparada ao GA (18%) e GE (57%), que foi de 31,6% mais baixa do que o controle (p<0,01, Figura 2).

O colesterol hepático teve média menor no GV e GE (23,6% no vinho e 24,5% no etanol), sendo estatisticamente significativa com p<0,05 (Figura 2).

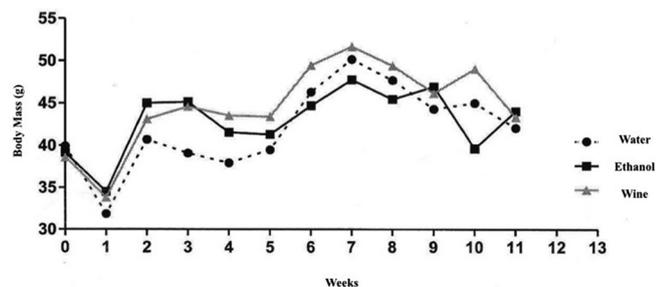


FIGURA 1 - Avaliação de massa corporal em semanas

Na avaliação de glicogênio hepático a média foi maior no GV (16%), não sendo estatisticamente significativa (Figura 2).

A glicemia de jejum no dia da morte do animal a média foi maior no GE em relação aos outros grupos, mas sem diferença estatística significativa ($p=0,42$, Figura 2)

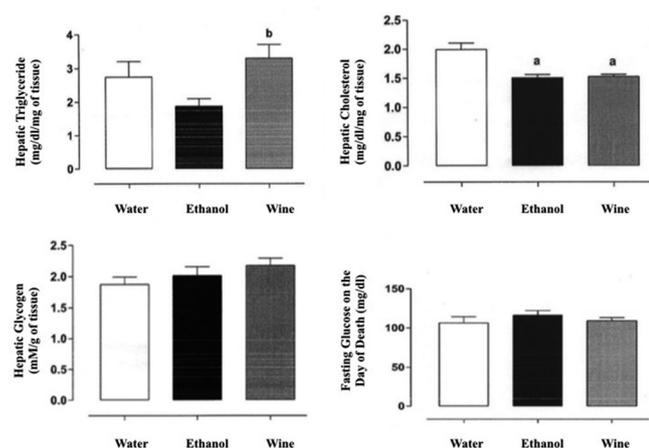


FIGURA 2 - Avaliação da gordura do epidídimo, retroperitoneal, subcutânea e adipócitos

Avaliação da gordura

O peso médio em grama da gordura epididimal foi maior no grupo vinho (36,5%) e menor no GE (33%), ($p<0,05$)

O peso médio em grama da gordura retroperitoneal foi duas vezes maior no grupo vinho que nos outros grupos, ($p=0,026$, Figura 3). O peso médio em grama da gordura subcutânea foi 2,3 vezes maior no grupo vinho que os outros grupos, com essa diferença sendo estatisticamente significativa ($p=0,011$, Figura 3).

Não existe diferença histológica entre as gorduras analisadas (ambas representam gordura visceral). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, ou seja, não existe hipertrofia dos adipócitos (Figuras 3 e 4)

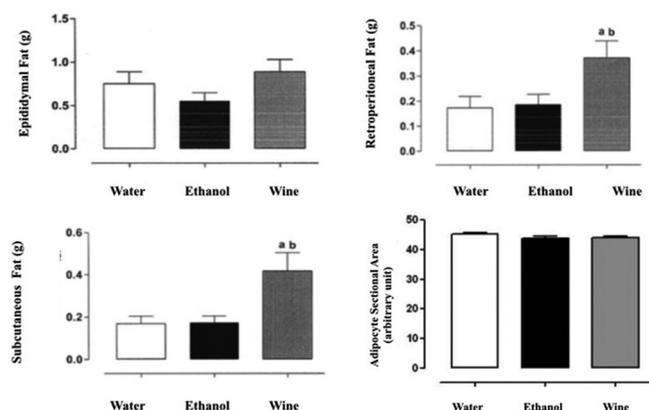


FIGURA 3 - Avaliação do epidídimo, retroperitoneal, gordura subcutânea e adipócitos área seccional

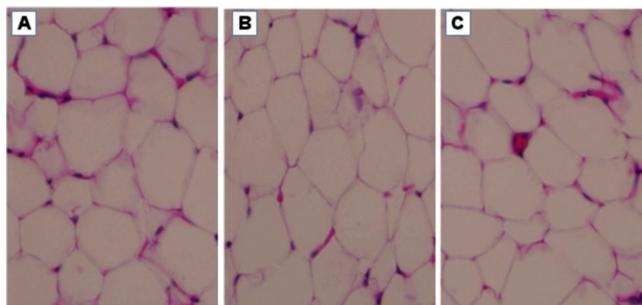


FIGURA 4 – Diferenças histológicas entre os grupos: A=GV; B=GE e C=GA

DISCUSSÃO

O trabalho simulou, em animais, uma situação de hábito rotineiro humano de tendência mundial que é o consumo de vinho na dieta comum. Efeitos sobre massa corporal, gordura visceral, glicemia e esteatose hepática foram avaliados pela medida do triglicerídeo, colesterol e glicogênio hepáticos em camundongos ApoE Knockout. Este camundongo é o mais indicado por apresentar deficiência no gene que codifica a ApoE e ser predisposto a hipercolesterolemia induzindo aterosclerose. Esse é um modelo já validado e largamente empregados em experimentação^{3,16,18,20,21,22,25,26}.

A escolha do vinho a base da uva Pinot Noir foi por possuir maiores concentrações de resveratrol dentre todos os vinhos (5,13 mg/l), o que difere do trabalho de Jonas Lefèvre, sobre consumo moderado de vinho tinto com a uva Cabernet Sauvignon (4-6 mg/l)¹⁴.

A determinação do tempo da experimentação por quatro meses deve-se ao fato de que esses animais têm média de vida de 12 meses e chegaram ao local do experimento já com três meses de vida, portanto, considerados adultos jovens. Baseado no tempo de experimentação pode-se afirmar que os animais se submeteram a um consumo crônico da bebida.

O ganho de massa corpórea foi maior no GV, o que atribui-se ao valor calórico da bebida. A participação calórica também é atribuída ao etanol embora o aumento do consumo alcoólico possa diminuir o ganho de peso¹⁶.

O colesterol hepático teve acúmulo menor tanto no GE quanto no GV, sugerindo que é o álcool que reduz a deposição de colesterol no fígado destes animais Knockout ApoE, que teriam tendência a acumular colesterol no fígado. Por outro lado os triglicerídeos tiveram maior acúmulo no GV, enquanto diminuíram no GE. Desta forma, pelo menos para estes animais, a ingestão de etanol foi benéfica, enquanto a de vinho paradoxalmente não foi tão boa, pois permitiu o aumento dos triglicerídeos hepáticos. Tanto a glicemia, quanto o glicogênio hepático não apresentaram diferença significativa entre os grupos. A propriedade antioxidante do vinho tem sido amplamente reportada, embora muitos estudos revelem que polifenóis podem apresentar indesejado efeito pró-oxidante^{2,4}.

O vinho tinto aumenta a gordura visceral e subcutânea de forma considerável, sem afetar a área do adipócito, e independe de seu teor alcoólico. Também aumenta o triglicerídeo hepático no que independe também da presença de álcool. O álcool tanto diretamente ou como componente do vinho diminuiu o acúmulo de colesterol hepático, sem afetar a glicemia e o glicogênio hepáticos. Difere de outro trabalho que diz que uma taça de vinho diariamente inibe o acúmulo de gordura no fígado. Esse efeito surge da interação entre o álcool e os ingredientes antioxidantes da uva. É possível que as doses ajudem a diminuir a resistência a insulina, o que contribui para evitar o depósito gorduroso no fígado⁴.

Estudos sobre a obesidade relatam redução de peso corporal e adiposidade com o consumo de resveratrol. Neste

estudo o uso do vinho, que contém resveratrol proporcionou maior ganho de peso aos animais sem haver hipertrofia dos adipócitos, que também vai de encontro à pesquisa em ratos em que o resveratrol não afetou o ganho de peso^{11,27}.

A glicemia em jejum no dia da morte do animais foi maior no GE. Efeito do resveratrol mostrou possível ação hipoglicemiante, bem como, redução nas concentrações de lipídeos e elevação nas substâncias antioxidante, induzindo a concluir que existe ação hipoglicemiante com uso do vinho pela presença de etanol em sua composição¹⁴.

O uso do resveratrol por tempo prolongado reduz a glicose do sangue em condições de hiperglicemia; o composto não afeta os níveis de glicose em animais com o nível glicêmico normal. Neste estudo a glicemia foi analisada somente em jejum no dia da morte dos animais e não mostrou diferença significativa.

Recentemente foi demonstrado que o extrato da casca de uva diminuiu a glicemia em modelo experimental de diabete, o que leva a crer que o uso do vinho também tem o mesmo efeito, visto que os componentes fenólicos estão presentes na casca da uva, matéria prima básica na produção do vinho^{21,22}.

Os animais do GV durante todo o experimento se mostraram mais enérgicos, observação também compartilhada por outro autor¹⁹, embora o uso tenha sido com resveratrol, componente polifenólico da uva, sem a presença do álcool. Neste estudo o autor concluiu que os animais tratados com resveratrol apresentaram menor dano hepático, menor risco de desenvolverem diabete e melhor coordenação motora. Com isso os animais que recebiam a dieta gordurosa e resveratrol apresentaram longevidade e qualidade de vida semelhante aqueles que seguiram dieta normal e balanceada²⁶.

Neste estudo o vinho tinto não aumentou o glicogênio hepático, diferindo de outro trabalho que revelou que os taninos encontrados em sementes de *Vitisvinifera* e conseqüentemente no vinho reduzem o nível de glicose no sangue, induzindo a regeneração de células pancreáticas (epicatequina) inibindo a absorção da glicose no intestino (catequina) e aumentando a síntese de glicogênio hepático (galato epicatequina)²⁴.

O ganho ponderal foi maior no GV que vem de encontro a estudo que revela que uso de extrato da casca de uva não apresentou influencia no ganho ou perda ponderal. Ressalte-se que nesse estudo não foi analisado o efeito do álcool que está presente no vinho. Nesse mesmo estudo foi caracterizado que nos animais estudados houve equilíbrio glicêmico dentro da normalidade sem alterações na glicemia de animais hipertensos. O ganho de peso teve alteração maior no GV em relação ao GE. Em estudo parecido o etanol induziu elevação na energia total ingerida, bem como, no consumo líquido e palatabilidade, sem alterar o peso final e o ganho de peso dos animais experimentais com igual resultado comparando ao grupo etanol com resveratrol²⁵.

A eficácia de consumo de vinho tinto diariamente na prevenção e tratamento de doenças ainda é controversa, apesar de números estudos sobre o resveratrol comprovando sua eficácia na prevenção e tratamento de várias doenças. Essa controvérsia se deve principalmente à presença do álcool na composição do vinho que é sabidamente causador de dependência^{1,11,14,21}.

Apesar do aparente resultado controverso, o vinho piorando o metabolismo lipídico dos animais APOE Knockout, a limitação deste estudo pode ser exatamente o uso destes animais, que não reproduzem fielmente o que pode ocorrer em seres humanos hipercolesterolêmicos.

CONCLUSÃO

O uso regular e crônico de vinho tinto em animais que não metabolizam o colesterol aumentou o triglicérido hepático e o acúmulo de gordura visceral quanto subcutânea nestes

animais. O uso moderado do etanol tanto isoladamente quanto associado ao vinho demonstrou diminuição do colesterol, sem afetar a massa de tecido adiposo.

REFERÊNCIAS

1. Amorim AC, de Souza AF, Nascimento AL, Maio R, Burgos MG. Use of alcohol before and after bariatric surgery. *Rev Col Bras Cir.* 2015 Jan-Feb;42(1):3-8. doi: 10.1590/0100-69912015001002.
2. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature.* 2006;444(7117):337-42. PMID:17086191
3. Boemeke L, Bassani L, Marroni CA, Gottschall CB. Lipid profile in cirrhotic patients and its relation to clinical outcome. *Arq Bras Cir Dig.* 2015 Apr-Jun;28(2):132-5. doi: 10.1590/S0102-67202015000200012.
4. Bradamante S, Barenghi L, Piccinini F, Bertelli AA, De Jonge R, Beemster P, et al. Resveratrol provides late-phase cardioprotection by means of a nitric oxide and adenosine-mediated mechanism. *Eur J Pharmacol.* 2003;465(1-2):115-23. PMID:12650840
5. Casimiro-Lopes G, Alves SB, Salerno VP, Passos MC, Lisboa PC, Moura EG. Maximum acute exercise tolerance in hyperthyroid and hypothyroid rats subjected to forced swimming. *HormMetab Res.* 2008;40(4):276-80. PMID:18548387
6. Cotrim HP, Freitas LA, Alves E, Almeida A, May DS, Caldwell S. Effects of light-to-moderate alcohol consumption on steatosis and steatohepatitis in severely obese patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21(9):969-72. doi:10.1097/MEG.0b013e328328f3ec
7. Das S, Santani DD, Dhalla NS. Experimental evidence for the cardioprotective effects of red wine. *Exp Clin Cardiol.* 2007;12(1):5-10. PMID:PMC2359620
8. Dohadwala MM, Vita JA. Grapes and cardiovascular disease. *J Nutr.* 2009;139(9):1788s-93s. PMID:19625699
9. Faine LA, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ebaid GM, Diniz YS, Fernandes AA, et al. Butyl hydroxytoluene (BHT)-induced oxidative stress: effects on serum lipids and cardiac energy metabolism in rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2006;57(3):221-6. PMID:16338125
10. Gronbaek M, Deis A, Sorensen TI, Becker U, Borch-Johnsen K, Muller C, et al. Influence of sex, age, body mass index, and smoking on alcohol intake and mortality. *BMJ.* 1994;308(6924):302-6. PMID: 8124118
11. Hayek T, Fuhrman B, Vaya J, Rosenblat M, Belinky P, Coleman R, et al. Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):2744-52. PMID:9409251
12. Kolovou G, Anagnostopoulou K, Mikhailidis DP, Cokkinos DV. Apolipoprotein E knockout models. *Curr Pharm Des.* 2008;14(4):338-351. PMID:18289060
13. Lamuela-Raventós RM, Andrés-Lacueva C. Wine in Mediterranean Diet. *Arch Latinoam Nutr.* 2004;54(2 Suppl 1):79-82. PMID: 15584478
14. Lefevre J, Michaud SE, Haddad P, Dussault S, Menard C, Groleau J, et al. Moderate consumption of red wine (cabernet sauvignon) improves ischemia-induced neovascularization in ApoE-deficient mice: effect on endothelial progenitor cells and nitric oxide. *Faseb J.* 2007;21(14):3845-52. PMID: 17641150
15. Magalhães CR, Malafaia O, Torres OJ, Moreira LB, Tefil SC, Pinheiro Mda R, Harada BA. Liver regeneration with L-glutamine supplemented diet: experimental study in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2014 Mar-Apr;41(2):117-21.
16. Magno FC, da Silva MS2, Cohen L, Sarmiento Ld, Rosado EL, Carneiro JR. Nutritional profile of patients in a multidisciplinary treatment program for severe obesity and preoperative bariatric surgery. *Arq Bras Cir Dig.* 2014;27 Suppl 1:31-4.
17. Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci.* 2003;73(11):1393-400. PMID:12850500
18. Moreira Mde A, Espinola PR, de Azevedo CW. Food intolerances and associated symptoms in patients undergoing Fobi-Capella technique without gastric ring. *Arq Bras Cir Dig.* 2015;28(1):36-9. doi: 10.1590/S0102-67202015000100010.
19. Moura RS, Costa GF, Moreira AS, Queiroz EF, Moreira DD, Garcia-Souza EP, et al. Vitisvinifera L. grape skin extract activates the insulin-signaling cascade and reduces hyperglycaemia in alloxan-induced diabetic mice. *J Pharm Pharmacol.* 2012;64(2):268-76. PMID: 22221103
20. Oliveira AV, Rocha FT, Abreu SR. Acute liver failure and self-medication. *Arq Bras Cir Dig.* 2014 Nov-Dec;27(4):294-7. doi: 10.1590/S0102-67202014000400016.
21. Oliveira KD, Baracat EC, Lanaro R, Eugeni C, Ricci E, Rabello MS, de Souza JP, Gimenes VC, de Azevedo RC, Fraga GP. Alcohol and brief intervention for trauma victims. *Rev Col Bras Cir.* 2015 Jul-Aug;42(4):202-8. doi: 10.1590/0100-69912015004002.
22. Oliveira LF, Tissot CG, Silvano DM, Campos CM, do Nascimento RR. Glycemic behavior in 48 hours postoperative period of patients with type 2 diabetes mellitus and non diabetic submitted to bariatric surgery. *Arq Bras Cir Dig.* 2015;28 Suppl 1:26-30. doi: 10.1590/S0102-67202015005100009.

23. Pickleman J. "A glass a day keeps the doctor...". *Am Surg*. 1990;56(7):395-7. PMID: 2195938
24. Rocha KK, Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, Cataneo AC, Novelli EL. Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol*. 2009;47(6):1362-7. PMID:19298841
25. Rocha KK, Souza GA, Seiva FR, Ebaid GX, Novelli EL. Weekend ethanol consumption and high-sucrose diet: resveratrol effects on energy expenditure, substrate oxidation, lipid profile, oxidative stress and hepatic energy metabolism. *Alcohol Alcohol*. 2011;46(1):10-6. PMID: 21139018
26. Silva RM, Malafaia O, Torres OJ, Czezko NG, Marinho Junior CH, Kozłowski RK. Evaluation of liver regeneration diet supplemented with omega-3 fatty acids: experimental study in rats. *Rev Col Bras Cir*. 2015 Nov-Dec;42(6):393-7. doi: 10.1590/0100-69912015006008.
27. Souza GG, Meneghin LO, Coelho SP, Maia JF, Silva AG. A uva roxa, *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) – seus sucos e vinhos na prevenção de doenças vasculares. *Natureza on-line*. 2006;4(2):80-6. PMID:15584478
28. Szkudelska K, Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol*. 2010;635(1-3):1-8. PMID: 20303945
29. Yeomans MR, Caton S, Hetherington MM. Alcohol and food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003;6(6):639-44. PMID:14557794
30. Yeomans MR. Effects of alcohol on food and energy intake in human subjects: evidence for passive and active over-consumption of energy. *Br J Nutr*. 2004;92 Suppl 1:S31-S4. PMID:15384320