

## AVALIAÇÃO DO METABOLISMO DE ETANOL EM RATOS EXPOSTOS A DIFERENTES TEMPERATURAS <sup>1</sup>

EVALUATION OF THE ETHANOL METABOLISM IN RATS UNDERGONE DIFFERENT TEMPERATURES

Mauro de Souza PANTOJA <sup>2</sup>; Victor Gonçalves LOPES <sup>3</sup>; Renata Vidal LEÃO <sup>3</sup>; Celyne Agrassar da SILVA<sup>3</sup>; Karen Costa CARVALHO <sup>3</sup> e Marcos Vinicius Vieira de LEMOS <sup>3</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** avaliar o metabolismo do etanol em diferentes temperaturas. **Método:** foram utilizados 11 ratos mantidos à temperatura corporal de 30°C (Grupo Frio) e posteriormente a 39,5°C (Grupo Quente). O etanol foi administrado aos animais etanol na dose de 3g.kg<sup>-1</sup>. Foi então realizada punção cardíaca com coleta do material para determinação da concentração sanguínea do etanol. **Resultados:** no Grupo Frio as concentrações séricas de etanol foram aproximadamente 22% menores que no Grupo Quente. Entretanto, resultados divergentes foram encontrados na literatura, sendo estes também ainda insuficientes para uma definição final a respeito do efeito da temperatura no metabolismo do etanol. **Conclusão:** observou-se que ratos submetidos a temperaturas ambiente mais baixas registraram menores níveis séricos de etanol, após administração via oral, em comparação com animais submetidos a maiores temperaturas. Entretanto, mais estudos são ainda necessários para elucidar esta questão e suas implicações práticas no estudo do metabolismo do etanol.

**DESCRITORES:** etanol, temperatura e metabolismo.

### INTRODUÇÃO

Globalmente, o etanol causa 3,2% de todas as mortes ou 1,8 milhões de mortes e por ano representa 4,0% das doenças. O problema das lesões causadas pelo etanol é particularmente alarmante em muitos países de baixa e média renda, onde o consumo de etanol está crescendo e as taxas de lesões são extremamente altas.<sup>1</sup>

Embora haja pouca dúvida de que o consumo de etanol está associado com a ocorrência de lesões, são escassas as informações sobre o nível de risco nos variados padrões de consumo, a quantidade de etanol consumida, ou em que situações de consumo colocam o indivíduo em risco para lesões acidentais.<sup>1</sup>

O etanol é absorvido por difusão passiva simples sem sofrer processos de digestão. Cerca de 75% do etanol ingerido é absorvido no

estômago e 25% nos intestinos, principalmente ao nível de jejuno proximal. O metabolismo do etanol ocorre quase exclusivamente no fígado, através de sua oxidação, principalmente através da ADH (álcool-desidrogenase), que produz acetaldeído, o qual será transformado, por um processo dependente de ATP, à acetil-CoA pela enzima acetate-CoA ligase.<sup>2</sup>

A temperatura ambiente pode influenciar no metabolismo do etanol. Estudos do metabolismo em pessoas que vivem em diferentes regiões geográficas têm revelado taxas metabólicas 10 a 20% menores nas regiões tropicais do que nas árticas. Essa diferença é causada em parte, pela adaptação da glândula tireóide, cuja secreção aumenta nos climas frios e diminui nos climas quentes. Com efeito, muito

<sup>1</sup> Trabalho realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará- UEPA. Belém, Pará Brasil.

<sup>2</sup> Professor Doutor Adjunto da disciplina de Técnica Operatória da Universidade do Estado do Pará- UEPA. Belém, Pará, Brasil

<sup>3</sup> Graduandos do Curso de Medicina da Universidade do Estado do Pará- UEPA. Belém, Pará, Brasil

mais pessoas desenvolvem hipertireoidismo em regiões frias do que nas regiões tropicais.<sup>3</sup>

Ainda em regiões frias, ocorre vasoconstrição periférica, aumentando o aporte sanguíneo para o fígado, órgão responsável pelo metabolismo do etanol. O oposto ocorre em locais de temperatura mais elevada.<sup>3</sup>

Muitos trabalhos experimentais, entretanto, têm revelado menores níveis séricos de etanol em ratos submetidos a altas temperaturas.<sup>4, 5, 6</sup>

## MÉTODO

Todos os animais da pesquisa foram cuidados segundo a legislação nacional para vivissecção animal em vigor (Lei federal 6.638 de 08 de maio de 1979) e as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo o projeto de pesquisa submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pará. Inicialmente, quatro animais foram utilizados para um melhor aperfeiçoamento na técnica, bem como capacitar a equipe responsável pela realização da pesquisa e avaliar a efetividade dos recipientes térmicos e da dose da substância a ser utilizada.

Foram utilizados 11 ratos (*Rattus norvegicus*), da linhagem McCoy, machos, adultos, com peso variando entre 200 – 250g que, inicialmente mantidos à temperatura corporal de 30°C por 75 minutos (grupo frio), receberam etanol por meio de gavagem na dose de 3g.Kg<sup>-1</sup> após 12 horas de jejum. Uma semana depois, os mesmos animais foram mantidos à temperatura de 39°C por 75 minutos (grupo quente) e os procedimentos repetidos.

Procedimento: a fim de atingir as temperaturas corporais pré-determinadas, foram utilizados recipientes térmicos com bolsas de gelo<sup>7</sup> enquanto grupo frio, e recipientes térmicos com lâmpadas enquanto grupo quente, ambos com controle constante da temperatura por meio de termômetros acoplados. A temperatura corporal dos animais foi confirmada com a utilização de um termômetro retal por 15 minutos antes da gavagem e por 60 minutos após a gavagem, a fim de que fosse alcançado o pico de concentração sanguínea do etanol.<sup>8</sup>

Punção cardíaca e coleta do material: após realizada a gavagem e a aferição da temperatura realizou-se, primeiramente, a indução anestésica utilizando éter etílico, por meio do vaporizador artesanal de éter. Com o animal em decúbito lateral direito foi realizada a depilação e

antisepsia do hemitórax esquerdo. Em seguida, procedeu-se a punção cardíaca e coleta de 2,0 mL de sangue. A amostra foi encaminhada para análise laboratorial no Instituto de Perícias Científicas Renato Chaves, onde foi determinada a concentração sanguínea do etanol.

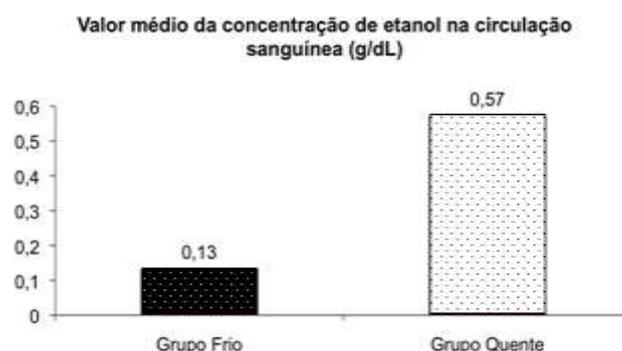
Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística através do teste ANOVA e, na presença de diferença estatisticamente significativa, empregou-se o teste Tukey, adotando-se como nível de significância  $\alpha = 0,05$ . Para tanto, utilizou-se o software Bioestat® 5.0.

## RESULTADOS

Na análise do sangue coletado dos animais foi observado que no grupo frio a concentração média de etanol encontrada foi de 0,13g.L<sup>-1</sup> ao passo que no grupo quente o valor médio foi de 0,57g.L<sup>-1</sup> (Figura 1).

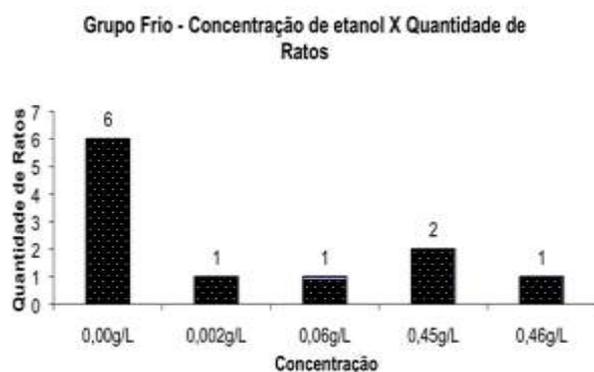
O menor valor da concentração da substância foi de 0,00g.L<sup>-1</sup>, o qual esteve presente apenas em animais pertencentes ao grupo frio, mais precisamente em cinco dos onze animais. Ainda no grupo frio, o maior valor de concentração sérica de etanol encontrado foi de 0,46g.L<sup>-1</sup> (Figura 2).

Já no grupo quente a maior concentração sérica de etanol encontrada foi 0,991g.L<sup>-1</sup> e a menor 0,357g.L<sup>-1</sup> (Figura 3). Ressalta-se que a coleta do material foi realizada sessenta minutos após a administração do etanol através de gavagem, teoricamente após o processo de absorção da substância.



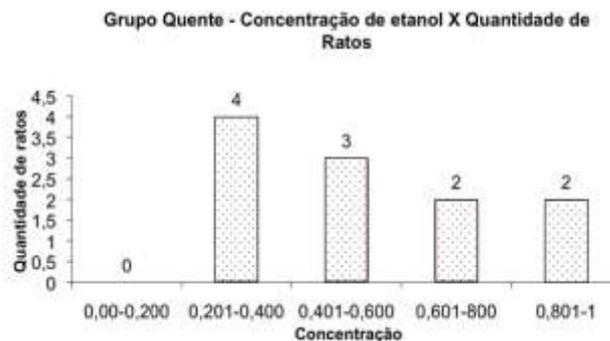
**Figura 1** – Concentração média de etanol na circulação sanguínea

\* $p < 0,05$  (ANOVA um critério complementado com Teste Tukey).



**Figura 2** – Grupo Frio - Concentração de etanol versus quantidade de ratos

\* $p < 0,05$  (ANOVA um critério complementado com Teste Tukey).



**Figura 3** – Grupo Quente - Concentração de etanol versus quantidade de ratos

\* $p < 0,05$  (ANOVA um critério complementado com Teste Tukey).

## DISCUSSÃO

Sabe-se que após a ingestão de etanol, cerca de 75% do seu total é absorvido no estômago, sendo o restante absorvido a nível intestinal. Apenas 2% a 10% do etanol absorvido é eliminado pelos rins e pulmões, o restante, cerca de 80% a 90%, é oxidado, principalmente no fígado. A taxa de remoção do etanol do corpo é determinada pelo padrão de metabolismo hepático e extra-hepático e pela taxa de eliminação.<sup>9</sup>

Nos humanos, a velocidade de absorção no estômago depende do tipo de bebida, da concentração de etanol, do pH do meio e do estado de vacuidade ou repleção do estômago.<sup>10</sup>

Neste estudo, os resultados encontrados caracterizam uma menor concentração sérica de etanol no grupo submetido a menores temperaturas, o que diverge de muitos artigos publicados na literatura.<sup>4, 5, 6</sup> Entretanto, fatores como a vasoconstrição estimulada pela baixa temperatura, a qual efetivaria um maior aporte sanguíneo ao fígado com um conseqüente aumento na metabolização do etanol, podem ser um dos motivos para tal resultado.<sup>3</sup>

Corroborando com os resultados encontrados tem-se estudo de Finn et al. 1989<sup>4, 17</sup>, no qual foi observado o efeito da temperatura corporal na mortalidade de camundongos expostos a doses letais de etanol (6 a 8,2g.dl<sup>-1</sup>), mostrando que esta foi maior nos animais com maiores temperaturas corporais (34°C), em comparação a animais submetidos a 23°C. Tal variável aumentou de 15% no grupo com hipotermia para 95% no grupo com hipertermia em 24 horas após a injeção da substância. Entretanto, os registros dos níveis sanguíneos de etanol mostraram que estes resultados não

poderiam ser explicados pelas mudanças no metabolismo do etanol relacionadas às variações de temperatura. Ou seja, a maior mortalidade atestada nos animais submetidos a maiores temperaturas não pôde ser relacionada à persistência de níveis séricos maiores de etanol. Uma das possibilidades que podem explicar a ausência de níveis elevados de etanol nestes animais é o fato de se ter utilizado altas doses da substância, o que propicia uma aceleração de seu metabolismo.<sup>11</sup>

Teorias a respeito da ação anestésica do etanol sugerem uma conexão entre a temperatura corporal e a sensibilidade do cérebro a esta substância. Versões recentes dessas teorias postulam que anestésicos em gerais, incluindo o etanol, causam depressão celular e anestesia através de discreta perturbação de microambientes hidrofóbicos no interior das membranas plasmáticas das células cerebrais.<sup>12, 13, 19</sup>

Equações fisicoquímicas e evidências in vitro indicam que uma diminuição na temperatura das membranas celulares do cérebro reduzem as perturbações cerebrais induzidas pelo etanol e seus efeitos comportamentais, em contraste, um aumento na temperatura corporal manifestou efeito contrário.<sup>4, 20</sup>

Estudos em outras espécies também sugeriram que a sensibilidade do dependente do etanol à temperatura é um fenômeno geral. Esses fatos, entretanto, não foram relacionados a maiores ou menores valores de etanol no sangue, fator não avaliado nos artigos encontrados.<sup>4, 21</sup>

O mecanismo da influência da temperatura corporal na sensibilidade do etanol é ainda desconhecido. Mudanças no tempo de sono poderiam refletir as alterações induzidas pela temperatura na absorção, distribuição e

eliminação do etanol.<sup>14</sup>

Em direção contrária aos artigos até então expostos, tem-se o estudo de Benjamian et al.<sup>5</sup>, o qual relatou concentrações séricas de etanol, progressivamente, menores em camundongos expostos a temperaturas progressivamente maiores (de 4 a 38.2 °C), tendo sido os animais submetidos a dose de etanol 3.6g.Kg<sup>-1</sup>. O maior acréscimo na taxa de eliminação do etanol foi verificado quando houve o aumento de temperatura de 26 para 38.2 °C, onde observou-se aumento de 50% na taxa de eliminação da substância. Neste estudo em particular, a submissão dos camundongos às variações de temperatura foi realizada após a administração do etanol. Tendo em mente que a eliminação do etanol pode também ser realizada através da transpiração, os valores mais baixos de etanol encontrados nos camundongos expostos a temperaturas mais altas não deve ser analisado de forma absoluta, uma vez que o papel da hiperventilação e suor nestes experimentos torna difícil o acesso a resultados significantes.<sup>15</sup>

O mesmo artigo relacionou ainda o aumento da temperatura corporal às manifestações de sensibilidade ao etanol, mostrando que nos animais submetidos a maiores temperaturas houve um aumento no tempo de perda do “reflexo de endireitamento” apesar dos animais terem mostrado maiores taxas de eliminação do etanol. Concluí-se, então, que as mudanças induzidas pela temperatura na eliminação do etanol não parecem mediar os efeitos da temperatura na sensibilidade a esta substância.

Em outro artigo foi observado que em ratos submetidos a menores temperaturas, estabelecidas através da administração de fenobarbital, houve uma diminuição da taxa de metabolização do etanol, atestada no estudo através da análise do coeficiente entre temperatura corporal e taxa de metabolização do etanol.<sup>6</sup> Este estudo, entretanto, utilizou baixa dose de etanol (1g.Kg<sup>-1</sup>) e não descreveu a quais temperaturas os animais foram submetidos. A própria dose de etanol, sendo baixa, já contribui para a permanência de valores maiores da substância no sangue, já que são as doses maiores as responsáveis por aumentar a taxa de metabolização da droga.

Também em outros estudos, analisando o efeito poiquilotérmico do álcool, foi mostrado que o aumento da temperatura ambiente de 15 a 37

graus diminuiu as concentrações cerebrais e séricas do etanol em camundongos.<sup>16</sup> Em estudo mais antigo realizado em cachorros, a hipotermia não mostrou efeito na taxa de concentração sérica do etanol. Já em ratos, também foi mostrado um retardo no clearance do etanol.<sup>17</sup>

Analisando a metodologia dos artigos percebe-se que na sua grande maioria a administração do etanol foi realizada pela via parenteral, o que pode ter contribuído para as diferenças nos resultados encontrados, uma vez que tal via de administração elimina o papel da absorção como um dos definidores das concentrações séricas da substância. Isto, entretanto, não explica o porquê de na maioria desses estudos, as maiores taxas séricas de etanol terem sido encontradas em animais expostos a temperaturas menores.

A constante divergência de resultados pode ter como uma das explicações o fato de diferentes animais, mesmo sendo de uma mesma espécie, possuírem diferentes níveis de receptores de hidrogênio nos hepatócitos, os quais, ao sofrerem grandes depleções no início do metabolismo do etanol, limitariam a ação contínua do hormônio antidiurético a níveis submáximos.<sup>18</sup>

Além disso, alterações no suprimento sanguíneo das células hepáticas podem induzir mudanças artefaturais, que devem ser consideradas na avaliação de estudos experimentais. Ao lado disso, as diferenças entre as concentrações dos substratos utilizados, a disponibilidade de cofatores e os meios de regeneração e sequestro dos componentes presentes nos estudos *in vivo*, podem justificar as divergências de alguns estudos.

## CONCLUSÃO

Observou-se que o etanol quando administrado por via oral, determina menores níveis séricos em ratos submetidos à temperatura de 30°C. Pelo achado de resultados divergentes e controversos entre si na literatura, torna-se necessário a realização de mais estudos visando à análise do comportamento metabólico do etanol frente a diferentes temperaturas.

## SUMMARY

### EVALUATION OF THE ETHANOL METABOLISM IN RATS UNDERGONE DIFFERENT TEMPERATURES

Mauro de Souza PANTOJA; Victor Gonçalves LOPES; Renata Vidal LEÃO; Celyne Agrassar da SILVA; Karen Costa CARVALHO e Marcos Vinicius Vieira de LEMOS

**Introduction:** overall, the ethanol causes 3,2% of deaths or 1,8 million deaths and, per year, represents 4,0% of all diseases, mainly in countries in development. Studies of metabolism in people who live in different geographic regions have revealed metabolic rates 10% to 20% lower in tropical regions than in arctic regions. Many experimental researchs, however, have revealed lower seric ethanol rates in rats undergone high temperatures. Objective: evaluate the ethanol metabolism in rats undergone different temperatures. **Method:** for that, it was used 11 rats exposed to 30°C and after to 39,5°C. The ethanol was given through gavage in the dose of 3g.Kg<sup>-1</sup>. Then, a cardiac punction and the collect of the material was performed in order to determinate the blood ethanol concentration. The results were submitted to statistic tests. **Results:** it was found that in the Cold Group, the ethanol concentrations were approximately 22% lower than in Heat Group. However, divergent results were found in literature, but they are still insufficient for a final definition about the temperature effect in ethanol metabolism. **Conclusion:** in rats undergone lower temperatures the seric concentration of ethanol is lower than in rats under higher temperatures. Thus, it was concluded that more studies are still necessary to clarify this question.

**KEY-WORDS:** psoriasis; health profile; dermatology.

## REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial de Saúde. Alcohol and injury in emergency departments: summary of the report from the WHO collaborative study on alcohol and injuries. France; 2007
2. Mincis, M; Mincis, R. Doença hepática alcoólica: diagnóstico e tratamento. Revista Prática Hospitalar. 2006; 48:113-8
3. Guyton, AC. Tratado de fisiologia médica. 11ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2006
4. Finn, DA; Bejanian, M; Jones, BL; Syapin, PJ; Alkana, RL. Temperature affects ethanol lethality in C57BL/6, 129, LS and SS mice. Pharmacol Biochem Behav. 1989 Oct;34(2):375-80
5. Bejanian, M; Finn, DA; Syapin, PJ; Alkana, RL. Body temperature and ethanol pharmacokinetics in temperature-challenged mice. Alcohol. 1990 Jul-Aug;7(4):331-7
6. Romm, E; Collins, AC. Body temperature influences on ethanol elimination rate. Alcohol. 2005 May-Jun;4(3):189-98
7. Andraus, W; Jukemura, J; Dutra, F; Bechara, E; Cunha, JEM; Machado, MCC. Oxidative stress is enhanced by hypothermia imposed on cerulein-induced pancreatitis in rats. Clinics. 2007; 62(4)
8. Katzung, BG. Farmacologia básica e clínica. 10ª Ed. São Paulo (SP): Mc Graw Hill; 2007
9. Lieber, CS. Ethanol. metabolism, cirrhosis and alcohol-ism. Clin Chim Acta 257: 59-84, 2007
10. Bernardes, MSM; Chiarello, PG; Júnior, AAJ; Vannucchi, H. Peroxidação lipídica e etanol: Papel da Glutathione reduzida e da vitamina E. Rev Med Ribeirão Preto. 1998; 31: 434-449
11. Lundquist, F; Wolthers, H. The kinetics of alcohol elimination in man. Acts Pharmacol. Toxicol. 14:265-289,1958
12. Goldstein, DB. The effects of drugs on membrane fluidity. Ann Rev Pharmacol Toxicol 2006 25:43-64
13. Roth, SH. Membrane and cellular actions of anesthetic agents. Fed Proc 2010 39:1595-1599.
14. Alkana, RL; Finn, DA; Bejanian, M; Crabbe, JC; Jones, B; Chen, J; Syapin, P. Temperature-related factors play a role in determining genetically based sensitivities to ethanol. 1985. Alcoholism: Clin Exp Res 9:192
15. Ybung, F. The blood alcohol curve in hypothermia. Acta Pharmacol. Toxicol. 1995 1: 77-81.
16. Finn, DA; Boone, C; Alkana, RL. Temperature dependence of ethanol depression in rats. Psychopharmacology (2002)90:185-189
17. Dybing, F. The blood alcohol curve in hypothermia. Acta Pharmacol. Toxicol. 1: 77-81, 1945
18. Wallgreen, H. Absorption, diffusion, distribution and elimination of ethanol. Effect on biological membranes. In International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics, Section 20, vol. 1, Pergamo

Press, Oxford, 1970

19. Falk, B; Dotan, R. Children's thermoregulation during exercise in the heat: a revisit. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008 Apr;33(2):420-7
20. Falk, B; Dotan, R. Temperature regulation and elite young athletes. *Med Sport Sci.* 2011;56:126-49. Epub 2010 Dec 21
21. Anacker, AM; Ahern, TH; Young, LJ; Ryabinin, AE. The role of early life experience and species differences in alcohol intake in microtine rodents. *PLoS One.* 2012;7(6):e39753. Epub 2012 Jun 22

**Endereço para correspondência**

Renata Vidal Leão.  
Rua João Balbi, 972. Nazaré.  
CEP 66055-022.  
Telefone: (91) 82585885  
renatavl@hotmail.com

Recebido em 17.08.2012 – Aprovado em 12.09.2012