

**OCORRÊNCIA DO FENÔMENO DE TOLERÂNCIA
ALCOÓLICA E SUAS RELAÇÕES COM A FREQUÊNCIA
DIÁRIA DAS DOSES DE ETANOL E COM A PRESENÇA
DE UM INTERVALO DE ABSTINÊNCIA, EM UM
MODELO EXPERIMENTAL DE ALCOOLISMO EM RATOS**

J. O. CARDEAL

E. A. CAVALHEIRO

Sabe-se que o etanol é droga capaz de afetar todas as células do organismo, mas é justamente sobre as do sistema nervoso central que suas influências são mais evidentes, por determinar uma gama de alterações comportamentais. Por muitos séculos tem-se observado que o organismo humano torna-se menos sensível a esses efeitos após o uso da droga, sendo unânime a opinião de que o estudo dessas adaptações pode contribuir para a compreensão do alcoolismo e eventualmente das outras toxicomanias. A maioria dos estudos experimentais sobre a tolerância alcoólica tem sido feita utilizando-se técnicas que permitem obter, em animais, alcoolemias variáveis por determinado período de tempo, após o qual é administrada uma dose padronizada de etanol e observado o desenvolvimento da tolerância aos seus efeitos^{3,21,31}. Na prática clínica constata-se que alguns indivíduos ingerem diariamente, de modo ininterrupto, quantidades variáveis de alcoólicos como “aperitivos” acompanhando as refeições, enquanto outros ingerem doses por períodos descontínuos de tempo, sendo um ponto comum entre eles, muitas vezes, a tendência para o aumento da quantidade da droga ingerida com o prosseguimento do hábito. O estudo do desenvolvimento do fenômeno de tolerância alcoólica nesses indivíduos, que apresentam distintos comportamentos, poderia contribuir para melhor compreensão do alcoolismo, mas encontram-se limitações práticas, sendo os estudos de tolerância alcoólica feitos quando o hábito está estabelecido e a tolerância alcoólica desenvolvida.

Assim sendo, para avaliar eventuais influências do número diário de doses da droga e da presença de um intervalo de abstinência, sobre a tolerância alcoólica, utilizamos modelo experimental de alcoolismo em ratos, desenvolvido pela técnica de entubações gástricas periódicas para a administração do etanol.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 40 ratos machos albinos da raça Wistar, pesando entre 250 e 350 g, no início da experiência, provenientes do Biotério Central da Escola Paulista de Medicina. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com livre acesso a água e comida, durante toda a experiência. A administração da solução de etanol foi feita por entubação gástrica através de sonda (sonda plástica CPL nº 6), com auxílio de seringa de 10 ml. Os animais receberam a droga com intervalos regulares de tempo, sendo agrupados conforme a frequência com que receberam a solução alcoólica: grupo 1D — uma dose ao dia, intervalos de 24 hs; grupo 2D — duas doses ao dia, intervalos de 12 hs; grupo 3D — três doses ao dia, intervalos de 8 hs. O volume da solução de etanol administrado, em cada entubação, foi de 20 ml/kg de peso corpóreo e mantido constante durante toda a fase de intoxicação. Cada animal recebeu um total de 21 doses, sendo a dose inicial de 3 g/kg de peso corpóreo, preparada volumetricamente a 15%. Desde que essa dose não fosse suficiente para produzir sinais severos de intoxicação alcoólica, a segunda dose era acrescida de 0,5 g de etanol/kg de peso corpóreo. Esse acréscimo era eventualmente feito nas entubações subseqüentes até atingir dose suficiente para produzir tais sinais. Alcançada essa dose, ela era então mantida até que falhasse em produzir os sinais de intoxicação, quando então era novamente aumentada de 0,5 g de etanol/kg de peso corpóreo. O animal era considerado intoxicado quando apresentava perda do reflexo de endireitamento ou coma alcoólico, observado 30 minutos após a administração do etanol. Seus pesos corpóreos foram avaliados diariamente e a quantidade de etanol administrada era ajustada conforme as variações ponderais encontradas.

Com o objetivo de estudar as influências de um ciclo prévio de intoxicação sobre o reaparecimento da tolerância alcoólica, os animais do grupo 3D, que receberam a droga com intervalos de 8 hs, foram submetidos a um segundo ciclo de intoxicação de 21 doses, iniciado 15 dias após o término do primeiro ciclo. Durante esse intervalo livre, os animais foram mantidos em gaiolas individuais com livre acesso a água e comida, sem contato com álcool. A metodologia utilizada nesse segundo ciclo para intoxicação foi idêntica à empregada no primeiro ciclo.

RESULTADOS

Nenhum dos animais apresentou sinais de intoxicação alcoólica 30 minutos após a primeira entubação gástrica (3 g de etanol/kg de peso corpóreo), havendo a necessidade de aumentar a dose de cada animal na entubação subseqüente. No final das 7 primeiras doses (designada primeira fase de intoxicação) todos os animais haviam atingido seus respectivos limiares de intoxicação, avaliados em termos de quantidade mínima de etanol necessária, por dose, para promover o aparecimento dos sinais de intoxicação alcoólica. Nas 14 entubações gástricas subseqüentes, para promover o reaparecimento dos sinais de intoxicação, houve necessidade de aumentar progressivamente a dose de etanol de cada animal.

A dose média inicial de etanol necessária para determinar o aparecimento dos sinais de intoxicação (limiar intoxicante) foi estatisticamente maior no grupo 1D (uma dose/dia) quando comparado com os valores do grupo 2D e 3D, não tendo havido diferenças significantes entre esses dois últimos grupos. A média do consumo da droga durante as 7 penúltimas doses (segunda fase de intoxicação) de cada ciclo foi estatisticamente diferente entre os três grupos (Tabela 1). Os maiores valores surgiram no grupo 3D. Essas diferenças, embora tendendo ser menos acentuadas, foram observadas também nas 7 últimas doses. A quantidade média de etanol necessária para atingir o limiar de intoxicação alcoólica entre os animais do grupo 3D, durante o segundo ciclo de intoxicação, foi estatisticamente maior que a quantidade necessária para atingir o mesmo limiar durante o primeiro ciclo (Tabela 1). O consumo da droga durante a última fase de intoxicação (7 últimas doses) do segundo ciclo foi semelhante ao apresentado pelos mesmos animais durante a última fase do primeiro ciclo.

Animais	Fase		
	1ª (limiar de intoxicação) (n = 10)	2ª (7 penúltimas doses) (n = 70)	3ª (7 últimas doses) (n = 70)
Grupo 1D	4,22 ± 0,050	5,71 ± 0,0178	6,58 ± 0,328
Grupo 2D	3,90 ± 0,172a	4,82 ± 0,250a	5,89 ± 0,194a
Grupo 3D	4,00 ± 0,183a	4,43 ± 0,152a, b	5,41 ± 0,074a, b
Grupo 3D*	4,72 ± 0,116c	4,80 ± 0,076c	5,54 ± 0,072c

Tabela 1 — Quantidade média de etanol (g/kg de peso/dose) necessária para promover a perda do reflexo de endireitamento e/ou coma, durante três fases de cada ciclo de intoxicação de 21 doses, em quatro grupos de animais. Legenda — Grupos: 1D = 1 dose ao dia, 2D = 2 doses ao dia, 3D = 3 doses ao dia, 3D* = 3 doses ao dia durante a repetição do ciclo de intoxicação. Limiar de intoxicação = quantidade de etanol, em g/kg de peso corpóreo, necessária para promover pela primeira vez, durante o ciclo de intoxicação, a perda do reflexo de endireitamento e/ou coma. a = $p < 0,01$ x Grupo 1D, b = $p < 0,01$ x Grupo 2D, c = $p < 0,01$ x Grupo 3D (teste t de Student).

COMENTARIOS

A variação da tolerância ao etanol após o uso crônico da droga não parece dever-se à diminuição da absorção ao nível do trato gastrointestinal, pois tem-se observado que após a administração crônica, a absorção dessa droga é normal ou mesmo aumentada^{24,27}, também não parece dever-se ao aumento no grau de excreção, uma vez que esse é um processo de difusão passiva^{3,10,29}. Por outro lado, não parece provável que o processo de tolerância se deva a eventual redução do acesso da droga ao tecido cerebral, pois tem sido demonstrado, após a administração de uma mesma dose de álcool, iguais concentrações de etanol tanto no cérebro de animais que tiveram aumento de tolerância como naqueles que não tiveram tal aumento¹⁵. O fenômeno de tolerância comportamental provavelmente se deva a aumento da metabolização do etanol, designado tolerância metabólica, e/ou a adaptação do sistema nervoso central à droga, tolerância funcional. O aumento do metabolismo do álcool, após um período crônico de administração da droga, tem sido demonstrado tanto em alcoólatras^{7,12} como ratos^{6,18,19,23,26}, podendo haver diminuição da taxa metabólica se houver certo grau de insuficiência hepática²¹.

Em nosso estudo foi observado que a quantidade de droga por animal, necessária para promover o aparecimento dos sinais de intoxicação, variou na dependência do intervalo de tempo livre entre as doses, de tal sorte que os animais que tiveram intervalos livres maiores foram menos sensíveis ao aparecimento desses efeitos comportamentais. Estudos recentes^{1,9,20,21,31,32} têm atribuído à tolerância alcoólica um mecanismo de adaptação do tipo aprendido,

portanto ambiental, e dependente do treinamento. Nossos resultados poderiam ser interpretados assumindo que os animais que tiveram intervalos livres maiores, conseqüentemente isentos das ações depressoras do etanol por mais tempo, teriam possibilidade para o treinamento espontâneo. No entanto, não nos parece compreensível o aprendizado sobre o efeito intoxicante da droga que ainda não se manifestara comportamentalmente nas doses prévias. Outros autores têm criticado severamente a metodologia aplicada nos estudos que atribuem a tolerância ao etanol ao processo de aprendizado^{15,16}. Tem-se sugerido que o aprendizado possa acelerar a tolerância mas, não seria necessário para o desenvolvimento dela^{2,4,5,11,14}. Outra hipótese envolveria a tolerância ambiental dependente, aquele tipo de tolerância no qual o aprendizado predomina, e a tolerância ambiental independente, aquele tipo no qual o aprendizado exerce influência mínima²³.

A idéia de que a tolerância ao etanol só se desenvolveria após longos períodos de exposição à droga^{7,8,28}, baseada em observações clínicas, não encontra apoio nos trabalhos experimentais, tanto em animais, como no homem^{7,16,22,30}. Um dos primeiros experimentos que mostrou a ocorrência de adaptações do organismo ao etanol foi realizado no início do século por Mellanby (citado por Kalant et al.¹¹, 1971), tendo sido verificado em cães que, quando a alcoolemia atingia determinado nível, os sinais de intoxicação tornavam-se manifestos, entretanto, quando a alcoolemia retornava ao mesmo nível o animal parecia normal, ficando assim constatado que adaptações orgânicas podem ocorrer mesmo diante de uma dose única da droga. Tem sido sugerido¹¹ que a repetida exposição ao etanol determina certa diminuição nessas adaptações, no entanto, muito pouco ainda se conhece sobre os fatores que influenciam a aquisição da tolerância após um período de repetidas exposições. Nosso estudo mostrou que a tolerância adquirida ao final de 21 doses sofre influência do intervalo livre entre as doses. Intervalos livres maiores, como uma dose ao dia, possibilitaram menor sensibilidade ao etanol durante as três fases de intoxicação. Esses dados sugerem que o máximo grau de tolerância e a velocidade de aquisição pode exigir um período de tempo adequado entre as doses, para se manifestar. Alguns estudos sugerem que a tolerância adquirida não ocorre de modo irreversível¹³. Nossos estudos sugerem resíduos de tolerância após intervalo de 15 dias de abstinência. Por outro lado, acrescentam que a presença desse intervalo não determinou menor sensibilidade à droga ao final de um segundo ciclo de intoxicação de 21 doses.

RESUMO

Os autores apresentam os resultados de estudo sobre as influências do número diário de doses intoxicantes da droga e da presença de intervalo de abstinência, sobre a tolerância alcoólica em ratos submetidos a ciclos de 21 doses. Observou-se que o aumento da tolerância foi mais acentuado nos animais que receberam menor número diário de doses, e que certo grau de tolerância pode ser detectado após um intervalo de abstinência de 15 dias.

SUMMARY

Occurrence of the alcoholic tolerance phenomenon and their relationships with daily frequency of ethanol doses and with the presence of an withdrawal interval, in an experimental model of alcoholism in rats.

In this paper we present the effects of the number of daily toxic doses of alcohol and of the duration of withdrawal period on alcohol tolerance in rats submitted to cycles of 21 doses each. It was observed that alcohol tolerance was increased in animals which received less number of alcohol doses by day and that some degree of tolerance can be detected even after a withdrawal interval of 15 days.

REFERÊNCIAS

1. ALKANA, R.L.; FINN, D.A. & MALCOLM, R.D. — The importance of experience in the development of tolerance to ethanol hypothermia. *Life Sci.* 32:2685, 1983.
2. CICERO, T.J. — Tolerance to and physical dependence on alcohol: behavioral and neurobiological mechanism. In: M.A. Lipton et al. (eds.): *Psychopharmacology, a Generation of Progress*. Raven Press, New York, 1978, pg. 1613.
3. CICERO, T.J.; SNIDER, S.R.; PEREZ, V.J. & SWANSON, L.W. — Physical dependence on and tolerance to alcohol in the rat. *Physiol. Behav.* 6:191, 1971.
4. CORFIELD-SUMNER, P.K. & STOLERMAN, I.P. — Behavioral tolerance. In: D.E. Blackman & D.J. Sanger (eds.): *Contemporary Research in Behavioral Pharmacology*. Plenum Press, New York, 1978, pg. 401.
5. GALLAHER, E.J.; PARSONS, L.M. & GOLDSTEIN, D.B. — The rapid onset of tolerance to ataxic effects of ethanol in mice. *Psychopharmacology* 78: 67, 1982.
6. HAWKINS, R.D.; KALANT, H. & KHANNA, J.M. — Effects of chronic intake of ethanol on rate of ethanol metabolism. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 44:241, 1966.
7. ISBELL, H.; FRASER, H.F.; WIKLER, A.; BELLEVILLE, R.E. & EISENMAN, A.J. — An experimental study of the etiology of «rum fits» and delirium tremens. *Quart. J. Stud. Alcohol* 16:1, 1955.
8. JELLINEK, E.M. — *The Disease Concept of Alcoholism*. Hill House Press, New Haven, 1960.
9. JORGENSEN, H.A. & HOLE, K. — Learned tolerance to ethanol in the spinal cord. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 20:789, 1984.
10. KALANT, H. — Absorption, distribution and elimination of alcohols: effect on biological membranes. In: B. Kissin & M.M. Begleiter (eds.): *The biology of alcoholism*. Plenum Press; New York, 1971.
11. KALANT, H.; LeBLANC, A.E. & GIBBINS, R.J. — Tolerance to, and dependence on, some non-opiate psychotropic drugs. *Pharmacol. Rev.* 23:135, 1971.
12. KATER, R.M.H.; CARULLI, N. & IBER, F.L. — Differences in the rate of ethanol metabolism in recently drinking alcoholism and non-drinking subjects. *Amer. J. clin. Nutr.* 22:1608, 1969.
13. KHANNA, J.M.; LÉ, A.D. & LeBLANC, A.E. — Reversal of tolerance to ethanol: a possible consequence of ethanol brain damage. *Acta psychiatr. scand.*, suppl. 286: 129, 1980.
14. LeBLANC, A.E. & CAPPELL, H. — Tolerance as adaptation with behavior and parallels to other adaptive processes. In: K. Blun (ed.): *Alcohol and Opiates, Neurochemical and Behavioral Mechanisms*. Academic Press, New York, 1977, pg. 65.
15. LeBLANC, A.E.; GIBBINS, R.J. & KALANT, H. — Behavioural augmentation of tolerance to ethanol in the rat. *Psychopharmacologia* 30:117, 1973.
16. LeBLANC, A.E.; KALANT, H. & GIBBINS, R.J. — Acquisition and loss of tolerance to ethanol by rat. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 168:244, 1969.

17. LeBLANC, A.E.; KALANT H. & GIBBINS, R.J. — Acquisition and loss of behaviourally augmented tolerance to ethanol in the rat. *Psychopharmacology* 48: 153, 1976.
18. LIEBER, C.S. & DeCARLI, L.M. — Hepatic microsomal ethanol-oxidizing system: in vitro characteristics and adaptive properties in vivo. *J. Biol. Chem.* 245: 2505, 1970.
19. LIEBER, C.S. & DeCARLI, L.M. — Ethanol dependence and tolerance: a nutritionally controlled experimental model in the rat. *Res. Comm. chem. path. Pharm.* 6:983, 1973.
20. MANN, R.E. & VOGEL-SPROTT, M. — Control of alcohol tolerance by reinforcement in nonalcoholics. *Psychopharmacology* 75:315, 1981.
21. MANSFIELD, J.G.; BENEDICT, R.S. & WOODS, S.C. — Response specificity of behaviourally augmented tolerance to ethanol supports a learning interpretation. *Psychopharmacology* 79:94, 1983.
22. MENDELSON, J.H. — Experimentally induced chronic intoxication and withdrawal in alcoholics. *Quart. J. Stud. Alcohol*, suppl. 2:1, 1964.
23. MISRA, P.S.; LEFÈVRE, A.; ISHII, H.; RUBIN, E. & LIEBER, C.S. — Increase of ethanol meprobamate and pentobarbital metabolism after chronic ethanol administration in man and rats. *Amer. J. Med.* 51:346, 1971.
24. NEWMAN, H.W. — *Acute Alcohol Intoxication*. Stanford Univ. Press, Stanford, 1941.
25. TABAKOFF, B.; MELCHIOR, C.L. & HOFFMAN, P. — Factors in alcohol tolerance. *Science* 224:523, 1984.
26. TOBON, F. & MEZEI, E. — Effect of ethanol administration on hepatic ethanol and drugs-metabolizing enzymes and on rates of ethanol degradation. *J. Lab. clin. Med.* 77:110, 1971.
27. TROSHINA, A.E. — On the mechanism of habituation of the organism to alcohol. *Quart. J. Stud. Alcohol* 20:783, 1959.
28. VICTOR, A. & ADAMS, R.D. — The effect of alcohol on the nervous system. In H.H. Meritt & C.C. Hare (eds.): *Metabolism and Toxic Diseases of the Nervous System*. Williams & Williams, Baltimore, 1953.
29. WALLGREN, H. — Absorption, diffusion, distribution and elimination of ethanol: effect on biological membranes. In J. Trémolières (ed.): *International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. Alcohols and Derivates*. Pergamon Press, New York, 1970, vol. 1, pg. 161.
30. WALLGREN, H. & LINDBOHRM, R. — Adaptation to ethanol in rats with special reference to brain tissue respiration. *Biochem. Pharmacol.* 8:423, 1961.
31. WENGER, J.R.; BERLIN, V. & WOODS, S.C. — Learned tolerance to the behaviourally disruptive effects of ethanol. *Behav. Neurol. Biol.* 28:418, 1980.
32. WENGER, J.R.; TIFFANY, T.M.; BOMBARDIER, C.; NICHOLLS, K. & WOODS, S.C. — Ethanol tolerance in the rat is learned. *Science* 213:575, 1981.

Laboratório de Neurologia Experimental, Disciplina de Neurologia Clínica, Escola Paulista de Medicina — Caixa Postal 20265 — 01000, São Paulo, SP — Brasil.