UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas

**Influência do gênero e da variação dos hormônios
femininos (estrógeno e progesterona) na
farmacocinética do etanol**

CRISTIANA LESLIE CORRÊA

***Tese para obtenção do grau de
DOUTOR***

Orientador:

Prof. Tit. Seizi Oga

**São Paulo
2001**

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Corrêa, Cristiana Leslie
C824i Influência do gênero e da variação dos hormônios femininos
 (estrógeno e progesterona) na farmacocinética do etanol /
Cristiana Leslie Corrêa. -- São Paulo, 2001.
 107p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises
Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Oga, Seizi

1. Farmacocinética 2. Etanol : Toxicologia 3. Hormônios
femininos : Fisiologia humana I. T. II. Oga, Seizi, orientador.

615.7f CDD

CRISTIANA LESLIE CORRÊA

**Influência do gênero e da variação dos hormônios femininos
(estrógeno e progesterona) na farmacocinética do etanol**

Comissão Julgadora

Tese para obtenção do grau de DOUTOR

**Prof. Tit. Seizi Oga
Orientador / Presidente**

Profa. Dra. Vera Lúcia Lanchote

Profa. Dra. Rosemary Custódio Pedroso

Profa. Dra. Sílvia de Oliveira Santos Cazenave

Prof. Dr. Ricardo Martins de Oliveira Filho

São Paulo, 24 de setembro de 2001.

A DEUS

Pelo privilégio da vida

Aos meus pais, **Antonio e Laura** (*in memoriam*),
Por terem me indicado os caminhos,

Ao Reinaldo,
Pelo exemplo de força,
perseverança e amor ao trabalho,

TODO O MEU AMOR E GRATIDÃO

Em especial

Ao Prof. Seizi Oga

Pela dedicada orientação, valiosos
ensinamentos e confiança,

A Profa. Rosemary Custódio Pedroso,

Que como uma mãe, me acolheu nos momentos
difíceis e me deu força para lutar pelos meus ideais.

AGRADECIMENTOS

A coordenadora do programa de pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, Profa. Dra. Silvia Berlanga M. Barros e à vice coordenadora, Profa. Dra. Mirian M. Passarelli, pela oportunidade e constante apoio;

Aos professores do programa de pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, pelos ensinamentos recebidos;

Ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos para a área da Saúde da PUCCAMP, pela avaliação deste projeto de pesquisa;

Aos voluntários que participaram deste trabalho, pela valiosa colaboração;

À UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas, Indaiatuba, S.P., pela imensa colaboração e patrocínio na realização dos exames bioquímicos e hormonais dos voluntários;

À minha amiga Fernanda Bozola dos Santos, que tanto ajudou na realização deste trabalho de pesquisa, toda minha gratidão;

Aos professores Dr. André Malbergier, Dra. Irene Videira de Lima, Dra. Rosemary Custódio Pedroso e Dra. Vera Lúcia Lanchote, pelas sugestões dadas no exame de qualificação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida;

À Maria Auxiliadora A. Corrêa, pela preciosa colaboração durante o trabalho com os voluntários;

Ao grande amigo Dr. Herling G. A. Alonzo, pela leitura crítica, sugestões, amizade e apoio constante;

À Dra. Silvia O. S. Cazenave, pelas valiosas discussões e sugestões apresentadas;

A todos os amigos e colegas da pós-graduação, pelos bons momentos que tivemos juntos durante o curso;

Aos funcionários do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (USP), não somente pelo auxílio técnico prestado como também pela amizade e apoio;

À Leila Aparecida Bonadio e Adriana de Almeida Barreiros, pela normalização das referências bibliográficas;

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho de pesquisa;

Os meus sinceros agradecimentos.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	6
2.1. DISPOSIÇÃO CINÉTICA DO ETANOL.....	6
2.2. FATORES INTERFERENTES	7
2.2.1. <i>Diferenças relacionadas ao gênero</i>	8
2.2.1.1. Influência do ciclo menstrual.....	12
2.2.1.2. Influência do uso de anticoncepcionais orais.....	17
2.3. MODELOS FARMACOCINÉTICOS APLICADOS AO ETANOL	18
3. OBJETIVO E PLANO DE TRABALHO	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1. EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS	26
4.2. MATERIAL PARA COLETA DAS AMOSTRAS	26
4.3. BEBIDA UTILIZADA NO EXPERIMENTO	27
4.4. REAGENTES E OUTROS MATERIAIS	27
4.5. POPULAÇÃO ESTUDADA.....	28
4.5.1. <i>Seleção dos voluntários</i>	28
4.5.2. <i>Crítérios de exclusão</i>	30
4.5.3. <i>Administração de etanol e coleta das amostras</i>	32

4.6. DETERMINAÇÃO DE ETANOL EM SANGUE POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA E SEPARAÇÃO POR <i>HEAD SPACE</i>	33
4.7. DETERMINAÇÃO DE ETANOL NAS AMOSTRAS DE SANGUE PROVENIENTES DOS VOLUNTÁRIOS	36
4.8. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS.....	36
4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
4.9.1. <i>Perfil de concentração sanguínea de etanol em função do tempo</i>	38
4.9.2. <i>Parâmetros farmacocinéticos</i>	39
5. RESULTADOS	42
5.1. DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO.....	42
5.2. DETERMINAÇÃO DE ETANOL NAS AMOSTRAS DE SANGUE PROVENIENTES DOS VOLUNTÁRIOS.	47
5.3. PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS.....	52
5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
5.4.1. <i>Perfil de concentração sanguínea de etanol em função do tempo</i>	56
5.4.2. <i>Parâmetros farmacocinéticos</i>	60
6. DISCUSSÃO.....	65
7. CONCLUSÕES.....	81
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
ANEXOS.....	94

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Perfil da concentração sangüínea de estradiol (ng/ml x 1000) e progesterona (ng/ml) segundo as fases do ciclo menstrual, quando ocorre ovulação. O dia 1 corresponde ao primeiro dia da menstruação.14
- FIGURA 2 -** Fluxograma da técnica de separação por *head space* para quantificação de etanol em amostras de sangue por cromatografia gasosa.35
- FIGURA 3.** Gráfico de temperatura basal de duas voluntárias, em função dos dias do ciclo menstrual, demonstrando período anovulatório.45
- FIGURA 4.** Representação gráfica (box-plot) da distribuição dos parâmetros relacionados à absorção ($C_{\text{máx}}$ e $T_{\text{máx}}$), encontrada em cada grupo de estudo.53
- FIGURA 5.** Representação gráfica (box-plot) da distribuição dos parâmetros relacionados à eliminação (β_{60} , R e depuração total), encontrada em cada grupo de estudo.54
- FIGURA 6.** Representação gráfica (box-plot) da distribuição relacionados à distribuição e biodisponibilidade do etanol em cada grupo de estudo.55
- FIGURA 7.** Concentração sangüínea de etanol em voluntárias nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual, segundo o horário de coleta, após ingestão de uma dose de 0,3 g/kg de etanol, na forma de uísque. Cada ponto representa a média e o desvio padrão de 10 determinações.56
- FIGURA 8.** Diagrama de dispersão (*scattergram*) com as diferenças individuais na concentração sangüínea de etanol na fases pré-folicular e lútea (n=10).58
- FIGURA 9.** Concentração sangüínea de etanol em função do tempo, para o grupo dos homens (n=14), mulheres com (n=12) e sem anticoncepcional oral (n=10). Cada ponto representa a média e o desvio padrão.59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Descrição dos parâmetros farmacocinéticos utilizados neste estudo.....	37
TABELA 2. Valores descritivos dos parâmetros obtidos (idade, peso e altura) e calculados (IMC e TBW) do grupo das mulheres sem uso de AO, mulheres com uso de AO e homens.....	42
TABELA 3. Resultados dos exames bioquímicos realizados nos voluntários participantes do estudo.....	43
TABELA 4. Concentração de hormônios em amostras de sangue de mulheres sem uso de AO, coletadas no período pré-folicular e lúteo do ciclo menstrual.	44
TABELA 5 - Concentração sangüínea de etanol (g/l) em voluntárias nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual, segundo horário de coleta, após administração oral de etanol, na forma de uísque, na dose de 0,3g/kg.	49
TABELA 6 - Concentração sangüínea de etanol (g/l) em voluntárias usuárias de anticoncepcional oral, segundo horário de coleta, após administração oral de etanol, na forma de uísque, na dose de 0,3g/kg.	50
TABELA 7 - Concentração sangüínea de etanol (g/l) em voluntários do sexo masculino, segundo horário de coleta, após administração oral de etanol, na forma de uísque, na dose de 0,3g/kg.....	51
TABELA 8. Valores descritivos dos parâmetros farmacocinéticos do etanol obtidos no presente estudo.....	52
TABELA 9. Análise descritiva dos parâmetros farmacocinéticos do grupo de mulheres com e sem uso de anticoncepcionais orais e comparação dos resultados pelo teste de Mann-Whitney.	61
TABELA 10. Número de participantes envolvidos em estudos que abordam a farmacocinética do etanol.....	66

RESUMO

O uso de álcool entre mulheres é uma questão atual e preocupante, face a maior vulnerabilidade destas aos danos hepáticos, cerebrais, entre outros, quando comparadas aos homens com padrões semelhantes de consumo. Sendo assim, investigaram-se as possíveis variações na farmacocinética do etanol em mulheres, considerando duas fases do ciclo menstrual (pré-folicular e lútea), bem como o uso de anticoncepcionais orais (AO). Participaram voluntários dos sexos feminino (n=22) e masculino (n=14), administrando-lhes 0,3 g/kg de etanol, na forma de uísque. Os resultados indicaram: a) os parâmetros farmacocinéticos do etanol não variam em função do ciclo menstrual (fase pré-folicular e lútea); b) as mulheres que tomavam AO levam menos tempo para atingir a concentração máxima e eliminam o etanol mais rapidamente do que as que não faziam uso; c) não houve diferença nos parâmetros farmacocinéticos entre o grupo de homens e o de mulheres que utilizavam AO, porém os homens apresentam maior velocidade de eliminação do que as mulheres que não faziam uso e d) os parâmetros farmacocinéticos relacionados com a biodisponibilidade (área sob a curva) e com o volume de distribuição não apresentaram diferenças entre os grupos analisados.

ABSTRACT

After drinking equivalent amounts of alcohol, women appear to be more vulnerable than men to many adverse consequences of alcohol use, including liver and brain damage. This study investigated the influence of menstrual cycle and female sex steroids levels on ethanol pharmacokinetics, as a possible mechanism for these effects. Twenty-two female and 14 male volunteers were given a moderate dose of ethanol (0.3 g/kg) in the morning after an overnight fast. The results indicated: a) no evidence that the tested menstrual cycle phases (pre-follicular and luteal) significantly influence ethanol pharmacokinetics; b) the time required to reach peak BAC was shorter and the ethanol elimination rate was increased for women taking oral contraceptives (OC) as compared to women not taking them; c) there is no difference on ethanol pharmacokinetics between men and women taking OC, but men showed increased ethanol elimination rate compared to women not taking OC; d) no gender-related differences relating to bioavailability of ethanol were found.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O consumo de etanol pelo ser humano tem ocorrido desde a antigüidade, provavelmente a partir do momento em que as primeiras bebidas alcoólicas foram produzidas acidentalmente, por fermentação natural (HOBBS et al., 1996).

Esse consumo apresenta grande variabilidade em função da época e da população estudada, sendo nos nossos dias considerado um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, principalmente em virtude das inúmeras conseqüências negativas que o uso abusivo pode acarretar (HOCHGRAF, 1995).

Estudos epidemiológicos indicam que a prevalência do uso de álcool é maior entre homens do que entre mulheres, porém existem evidências de que o consumo entre mulheres esteja crescendo cada vez mais, ao passo que, em homens, permanece estável (NACIONAL Institute, 1990; DAWSON & ARCHER, 1992; GRANT, 1997; McGANN & SPANGLER, 1997; ELY et al., 1999; NACIONAL Institute, 1999). Além disso, embora haja evidências de que os homens possuam maior probabilidade de se tornarem dependentes, sabe-se que as mulheres apresentam progressão mais rápida do alcoolismo, com morbidade 1,5 a 2 vezes maior do que os homens (DAWSON & ARCHER, 1992; HOCHGRAF, 1995; NACIONAL Institute, 1999). Estudo realizado no Brasil demonstrou que as mulheres alcoolistas começam a beber e aumentam seu consumo alcoólico mais tarde que os homens, porém buscam o tratamento com a mesma idade, quando já

apresentam algum tipo de patologia associada ao consumo de bebidas alcoólicas (HOCHGRAF, 1995; HOCHGRAF et al., 1995).

Sendo o uso de álcool entre mulheres uma questão atual e preocupante, dadas as evidências de aumento da prevalência de uso, da incidência de alcoolismo precoce, com um padrão de ingestão semelhante ao de homens e maior gravidade e morbidade na evolução da doença (ELY et al., 1999; GREEN et al., 1999; TUNG et al., 2000), torna-se importante entender e avaliar os principais fatores de risco envolvidos (ELY et al., 1999).

Pouco se conhece sobre o mecanismo que delinea as diferenças entre homens e mulheres, sendo o aspecto fisiológico e, mais especificamente, a farmacocinética do etanol, o fator mais relevante de investigação (HOCHGRAF, 1995; GREEN et al., 1999, MUMENTHALER et al., 1999b).

Algumas das diferenças na farmacocinética do etanol entre os sexos parecem incluir maior biodisponibilidade e maior velocidade de eliminação do etanol em mulheres (FREZZA et al., 1990; AMMON et al., 1996, LUCEY et al., 1999, MUMENTHALER et al., 1999a; MUMENTHALER et al., 1999b; LIEBER, 2000; THOMASSON, 2000). Uma das possíveis explicações para estas diferenças reside no fato de a resposta fisiológica da mulher poder variar durante o ciclo menstrual, em função das mudanças rítmicas nas taxas hormonais (COLE-HARDING & WILSON, 1987; LAMMERS et al., 1995; GILL, 1997, HADDAD et al., 1998, MUMENTHALER et al., 1999a, MUMENTHALER et al., 1999b). Porém, dados experimentais

envolvendo humanos ainda são inconsistentes e controversos, principalmente devido à diversidade de protocolos experimentais utilizados (MUMENTHALER et al., 1999a).

Uma vez que o conhecimento das variáveis que influenciam diretamente a cinética do etanol, e consequentemente sua toxicidade, é de extrema importância, o propósito deste estudo foi investigar as possíveis variações na farmacocinética do etanol em mulheres, em função das principais alterações hormonais que ocorrem durante o ciclo menstrual. Além disso, é importante avaliar a interferência dos anticoncepcionais orais na cinética do etanol pois, elevado número de mulheres em idade fértil faz uso desses medicamentos, concomitantemente ao consumo de bebidas alcoólicas.

Revisão da Literatura

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Disposição cinética do etanol

O nível sangüíneo de etanol depende basicamente da dose ingerida, da velocidade de absorção no trato digestivo e da capacidade do organismo de eliminá-lo através dos processos de biotransformação e excreção. Esses fatores determinam a biodisponibilidade do etanol, que está diretamente relacionada com seus efeitos (GREEN et al., 1999; MUMENTHALER et al., 1999a).

O etanol é rapidamente absorvido através do estômago e do intestino delgado, principalmente por difusão simples (HOBBS et al., 1996). A concentração plasmática máxima é atingida entre 30 a 90 minutos após a ingestão, onde vários fatores podem influenciar a absorção, sendo o tempo de esvaziamento gástrico e o início da absorção intestinal considerados os principais fatores determinantes da variação na velocidade de absorção (HOBBS et al., 1996; MUMENTHALER et al, 1999b).

Por suas propriedades hidrofílicas, o etanol distribui-se eficientemente por todos os tecidos e líquidos corporais, proporcionalmente aos seus conteúdos aquosos (BASELT, 1996; MUMENTHALER et al.,1999b).

Entre 90 a 98% do etanol que entra no organismo são completamente oxidados, principalmente no fígado, sob ações de

álcool desidrogenase (ADH), catalase e sistema de oxidação microssômica do etanol (MEOS) (BASELT, 1996; PARKINSON, 1996; HOBBS et al., 1996; MUMENTHALER et al., 1999b).

Normalmente, cerca de 2% do álcool ingerido é excretado inalterado, principalmente através dos rins e pulmões, sendo que em circunstâncias especiais, tais como o consumo de altas doses, este valor pode elevar-se até para 10% (HOBBS et al., 1996).

O entendimento de todas essas etapas é de extrema importância na toxicologia, visto que os conhecimentos de interação entre concentração em fluidos biológicos, dose ingerida e sinais e sintomas são sempre requeridos na avaliação de casos clínicos (BASELT, 1996).

2.2. Fatores interferentes

Diversos fatores contribuem para alterar a cinética do etanol. Estas fontes de variabilidade incluem sexo, idade, composição corpórea, constituição genética, estados patológicos, exposição ocupacional a agentes químicos, usuários crônicos de tabaco e álcool, terapias medicamentosas, gravidez, e possivelmente a fase do ciclo menstrual, entre outras (FLETCHER et al., 1994; OZDEMIR et al., 1996; ECKARDT et al., 1998; LUCEY et al., 1999; LI et al., 2000). Os fatores genéticos apresentam grande importância neste contexto, principalmente quando se considera que o polimorfismo genético das

enzimas álcool desidrogenase (ADH2 – ADH2*1, ADH2*2 e ADH2*3; e ADH3 – ADH3*1 e ADH3*2) e aldeído desidrogenase (ALDH-1 e ALDH-2) são determinantes nos processos de biotransformação e excreção (THOMASSON et al., 1995; JONES, 1996).

Outro ponto de grande destaque é aquele relacionado ao fator sexo, visto a maior vulnerabilidade das mulheres ao dano hepático, quando comparadas aos homens com padrões semelhantes de consumo de etanol (FREZZA et al., 1990; ELY et al., 1999; GREEN et al., 1999). Além disso, sugere-se que a ingestão diária de 40 a 60g de etanol seja requerida para produzir um aumento estatisticamente significativo na incidência de cirrose alcoólica em homens, enquanto 20g já seriam suficientes para mulheres (LIEBER, 2000).

2.2.1. Diferenças relacionadas ao gênero

As diferenças mais significativas entre o sexo masculino e feminino na cinética do etanol parecem incluir sua maior biodisponibilidade e velocidade de eliminação em mulheres (MISHRA et al., 1989; BRESLIN et al., 1997; CRIPPENS et al., 1999; MUMENTHALER et al., 1999b; THOMASSON, 2000; BARAONA et al., 2001).

As mulheres geralmente pesam menos que os homens e apresentam alta porcentagem de gordura no organismo. Elas têm,

portanto, proporcionalmente menos água no organismo do que os homens de peso corpóreo semelhante (FLETCHER et al., 1994; COWAN et al, 1996; MUMENTHALER et al., 1999b). Pelo fato do etanol apresentar maior distribuição na porção aquosa do organismo, mulheres geralmente alcançam picos mais elevados de concentração sangüínea, por causa do menor volume de distribuição, após consumo de doses equivalentes de álcool, mesmo quando estas são ajustadas ao peso corpóreo (COLE-HARDING & WILSON, 1987; FREZZA et al., 1990; BRESLIN et al., 1997; ECKARDT et al., 1998; DAVIES & BOWEN, 1999; GREEN et al., 1999; MUMENTHALER et al., 1999a; MUMENTHALER et al, 1999b; MUMENTHALER et al., 2000; THOMASSON, 2000).

Os picos mais elevados de concentração sangüínea em mulheres também podem ser reflexo das taxas mais baixas de atividade da álcool desidrogenase (ADH) gástrica no metabolismo de primeira passagem (SEITZ et al., 1993; FLETCHER et al., 1994; AMMON et al., 1996; GREEN et al., 1999; MUMENTHALER et al, 1999a; MUMENTHALER et al., 1999b; LIEBER, 2000). Porém, esses dados ainda permanecem controversos (MUMENTHALER, 1999a ; LUCEY et al., 2000). Segundo FREZZA e cols., as mulheres apresentam menor atividade da isoenzima álcool desidrogenase - ADH (Classe III) no estômago (baixo metabolismo de primeira passagem gástrico), e conseqüentemente maior biodisponibilidade do etanol. Sendo assim, a oxidação do etanol no estômago pode explicar

em parte as diferenças relacionadas aos níveis sangüíneos alcançados por homens e mulheres, após ingestão de doses proporcionais de etanol, contribuindo desta forma para a maior vulnerabilidade das mulheres aos efeitos do etanol, especialmente após o uso crônico (FREZZA et al., 1990; LIEBER, 2000).

O volume de distribuição do etanol (V_d) parece ser 12% maior em homens, comparado com as mulheres, e a área sob a curva (ASC) que mede a biodisponibilidade do fármaco é 42% maior em mulheres em relação aos homens (MUMENTHALER et al., 2000). BARAONA et al. (2001) apresentaram resultados de área sob a curva 47% maior em mulheres após administração oral de etanol, mas não após administração por via intravenosa.

LI et al. (2000) consideram que o tamanho do fígado é um fator determinante nas diferenças étnicas e entre os sexos na velocidade de eliminação do etanol. Homens geralmente apresentam peso hepático médio maior do que as mulheres.

Dentre os parâmetros farmacocinéticos de eliminação, a velocidade de eliminação do etanol, conhecida como β_{60} ou inclinação da reta (*slope*), medido na fase linear de eliminação (g/L/h), é a mais utilizada na comparação entre o sexo masculino e feminino, pois não sofre influência direta da quantidade total de água do organismo. MUMENTHALER et al. (1999b) publicaram uma revisão onde de 13 estudos avaliados, 9 concluíram que as mulheres atingiam velocidade de eliminação (β_{60}) maior do que os homens, enquanto 4

não encontraram diferença significativa entre eles. Estudo recente, realizado sob condições controladas (fatores ambientais e genéticos, como caracterização do genótipo ADH2), concluiu que as mulheres apresentaram velocidade de eliminação maior do que os homens e que este fato pode estar diretamente relacionado com a grande vulnerabilidade destas à toxicidade do etanol. A ocorrência de danos hepáticos teria como uma das causas a formação transitória de altas concentrações de acetaldeído no fígado (THOMASSON, 2000).

Evidências sugerem que homens e mulheres eliminam aproximadamente a mesma quantidade de álcool por hora, porém as mulheres alcançam depuração significativamente maior de álcool por massa corpórea quando comparada com os homens, alcançando maior velocidade de eliminação em g/L/h. Assim, as mulheres eliminam mais álcool por volume de sangue por hora do que os homens (MUMENTHALER et al., 1999b). Uma das possíveis explicações está associada ao fato de os picos elevados de concentração sanguínea de etanol poderem acelerar a biotransformação por indução do sistema CYP2E1 (MUMENTHALER et al., 1999b). Têm-se também que as taxas mais lentas de desaparecimento de etanol em homens podem refletir a inibição da biotransformação do etanol pelo hormônio reprodutivo masculino – diidrotestosterona (COLE-HARDING & WILSON, 1987; VAUBOURDOLLE et al., 1991; MUMENTHALER et al., 1999a; MUMENTHALER et al., 1999b).

2.2.1.1. Influência do ciclo menstrual

a) Ciclo menstrual

As mulheres na idade reprodutiva exibem mudanças rítmicas na produção dos hormônios. Este padrão de variação, comumente conhecido como ciclo menstrual, geralmente tem duração de 28 dias. A duração do ciclo é regulada por uma interação complexa entre diversos hormônios e mensageiros químicos produzidos no cérebro, órgãos reprodutivos e outros tecidos. Os hormônios de maior interesse no tópico estudado são os esteróides, que são sintetizados no organismo a partir da dieta (GUYTON, 1989; MUMENTHALER et al, 1999b).

Os principais hormônios esteróides femininos, estrógeno e progesterona, são produzidos mormente nos ovários. Entre outras funções, o estrógeno estimula a proliferação celular e o crescimento dos tecidos dos órgãos sexuais e a progesterona promove alterações secretoras no endométrio, preparando assim o útero para a implantação do óvulo fecundado, facilitando a gravidez e a lactação (GUYTON, 1989).

O ciclo menstrual se inicia com a menstruação e compreende 5 fases:

- *Fase menstrual ou pré folicular* (dia 1 a 6). O fluxo menstrual ocorre quando o óvulo não é fecundado. Os níveis de progesterona e estrógeno são baixos.
- *Fase folicular* (dia 7 a 12). O ovário secreta pequenas, mas crescentes quantidades de estrógeno, estimulando o desenvolvimento de células epiteliais e do estroma no útero. Cada folículo nutre um óvulo em desenvolvimento e contribui para a secreção de estrógeno. Somente um folículo atinge a maturidade.
- *Fase ovulatória* (dia 13 a 15). Ocorre ruptura do folículo maduro, liberando o óvulo. A fecundação pode se dar nesse período.
- *Fase lútea* (dia 16 a 23). O folículo vazio se torna uma estrutura chamada corpo lúteo, que secreta grandes quantidades de estrógeno e progesterona. Estes hormônios preparam o revestimento uterino para a implantação do óvulo fecundado.
- *Fase pré-menstrual* (dia 24 a 28). Se o óvulo não foi fertilizado, o corpo lúteo se degenera e para de secretar os hormônios estrógeno e progesterona. A diminuição dos níveis hormonais resulta em descamação das células de revestimento uterino, que culmina com a menstruação.

A figura 1 mostra as alterações hormonais que ocorrem durante o ciclo menstrual, conforme descrito acima (MUMENTHALER et al., 1999b).

FIGURA 1. Perfil da concentração sanguínea de estradiol (ng/mL x 1000) e progesterona (ng/mL) segundo as fases do ciclo menstrual, quando ocorre ovulação. O dia 1 corresponde ao primeiro dia da menstruação.

b) Alterações nos parâmetros farmacocinéticos

Sugere-se que a resposta fisiológica da mulher ao etanol varia devido às mudanças nos níveis hormonais durante o ciclo menstrual, uma vez que o estrógeno e a progesterona podem influenciar o sistema enzimático hepático, que é o principal sítio de biotransformação do etanol (MUMENTHALER et al., 1999a). Contudo, os resultados descritos na literatura sobre a influência do ciclo

menstrual na cinética do etanol são controversos, principalmente devido à diversidade de protocolos experimentais e à variedade de parâmetros farmacocinéticos apresentados (LAMMERS et al., 1995; MUMENTHALER et al., 1999a; MUMENTHALER et al., 1999b).

O estabelecimento de alguns critérios são fundamentais para assegurar a validade destes estudos (LAMMERS et al., 1995). Primeiramente, o modelo do estudo deve ser aquele que utiliza os mesmos indivíduos, em fases diferentes do mesmo ciclo menstrual (*within-subjects design* – WSD) e preferencialmente aqueles com ciclos regulares. Pelo fato do número de indivíduos ser inevitavelmente pequeno neste tipo de experimento, o uso deste modelo constitui importante critério para se obterem resultados mais consistentes. Em segundo lugar, é importante a definição das fases a serem testadas durante o ciclo menstrual. Se as variações na cinética do etanol estão relacionadas com alterações nos níveis de estrógeno e progesterona, deve-se escolher períodos caracterizados por variações significantes nestes hormônios sexuais (Ex. fase menstrual ou pré-folicular (dias 1 a 6) e fase lútea (dias 16 a 23)). Por último, a ocorrência da ovulação deve ser laboratorialmente verificada, através de dosagens hormonais, uma vez que 25% das mulheres com ciclos regulares na faixa etária de 20 a 39 anos, tem pelo menos um ciclo anovulatório a cada 3 meses. Essa preocupação está relacionada ao fato de que quando não ocorre ovulação, os níveis de estrógeno e

progesterona mantêm-se baixos durante todo o ciclo (LAMMERS et al., 1995; GILL, 1997; MUMENTHALER et al., 1999a;).

Trabalhos de revisão, publicados recentemente sobre este assunto, identificaram diversas limitações metodológicas nas investigações (LAMMERS et al., 1995; GILL, 1997; MUMENTHALER et al., 1999b).

LAMMERS et al. (1995) avaliaram 11 trabalhos e julgaram que somente dois apresentavam-se como metodologicamente válidos. Estes estudos encontraram variação na velocidade de eliminação do etanol, que foi 14% maior durante a fase lútea quando comparada com a de outras fases do ciclo. A velocidade de absorção e o pico de concentração sanguínea não revelaram variação estatisticamente significativa. MUMENTHALER et al. (1999b) revisaram 18 trabalhos, dos quais somente cinco apresentavam algum tipo de influência do ciclo menstrual na cinética do etanol.

Estudo realizado recentemente, envolvendo 24 voluntárias e apresentando metodologia validada, não encontrou diferenças estatisticamente significantes nas 2 fases do ciclo testadas: fase menstrual e lútea (MUMENTHALER et al., 1999a; MUMENTHALER et al., 1999b). Mesmo resultado obtiveram pesquisadores que trabalharam com protocolo de estudo semelhante ao anterior, porém com número menor (n=9) de voluntários (HADDAD et al., 1998).

Estes resultados contradizem achados anteriores que afirmavam que os resultados de pico de concentração sanguínea

(JONES & JONES, 1976), área sob a curva (biodisponibilidade - ASC) (STUKKER et al., 1987a) e a eliminação (STUKKER et al., 1987b) eram afetados pelo ciclo menstrual. Algumas justificativas para os parâmetros de biodisponibilidade estarem aumentados na fase lútea envolviam a retenção de fluidos e a redução no trânsito gastrointestinal no período pré-menstrual (HADDAD et al., 1998).

2.2.1.2. Influência do uso de anticoncepcionais orais

Diversos outros autores (HAY et al., 1984; JONES & JONES, 1984; MUMENTHALER et al., 1999b) igualmente investigaram o uso de anticoncepcionais orais (AO) e sua relação com a cinética do etanol.

JONES & JONES (1984) observaram que as mulheres que tomavam AO oxidavam o etanol mais lentamente do que aquelas que não os utilizavam. Além disso, não foi verificada correlação entre a dose, tempo de uso e tipo de AO com a velocidade de absorção, pico de concentração sanguínea e razão de eliminação.

Revisão realizada sobre o uso de AO e cinética do etanol mostrou que de oito trabalhos publicados, três apresentaram picos menores de concentração sanguínea e taxa de eliminação mais lenta em mulheres que utilizavam AO. Ao contrário, cinco artigos relataram ausência de efeito do uso de AO sobre a absorção do etanol, pico de

concentração sangüínea e/ou taxa de eliminação (MUMENTHALER et al., 1999b). Contudo, uma destas investigações encontrou picos elevados de concentração de acetaldeído em mulheres que utilizavam AO (JEAVONS & ZEINER, 1984; MUMENTHALER et al., 1999b).

Experimentalmente, observa-se que níveis elevados de estrógeno aumentam a atividade da enzima álcool desidrogenase hepática (ADH), ao passo que níveis baixos deste hormônio (ex. ovariectomia) tendem a diminuir a atividade da ADH hepática. Como até o presente momento, os resultados dos estudos envolvendo uso de anticoncepcionais orais e cinética de etanol são controversos e ambíguos, sugere-se o desenvolvimento de trabalhos adicionais nesta linha de pesquisa (MUMENTHALER et al., 1999b).

2.3. Modelos farmacocinéticos aplicados ao etanol

O modelo farmacocinético desenvolvido por *Widmark* é o mais utilizado pelos toxicologistas forenses, principalmente quando se deseja calcular a quantidade de etanol ingerida a partir de um único valor de concentração sangüínea (JONES & POUNDER, 1998).

Widmark propôs a seguinte equação para representar a cinética de eliminação do etanol no sangue:

$$C_t = C_0 - \beta t$$

Onde: C_t representa a concentração sangüínea de etanol em determinado tempo (t) da curva, na região de pós-absorção; C_0 representa a concentração sangüínea de etanol extrapolada ao tempo do início da ingestão; β é a velocidade de eliminação do etanol no sangue; e t o tempo em minutos.

A velocidade de eliminação do etanol no sangue (β) é calculada através da inclinação (*slope*) da equação da reta, obtida da região retilínea da curva de concentração sangüínea de etanol em função do tempo, quando esta começa a decair numa velocidade constante por unidade de tempo, seguindo uma cinética de ordem zero. Quando a concentração sangüínea decai para valores abaixo de 0,10 g/L, a eliminação do álcool passa a seguir uma cinética de primeira ordem, representada por uma fase de eliminação curvilínea, sendo esta excluída do cálculo do parâmetro β .

Extrapolando a fase retilínea de eliminação no tempo de início da ingestão do álcool, obtêm-se o ponto de intercepção com o eixo y (C_0), que corresponde à concentração sangüínea de etanol teórica no tempo zero, como se toda a dose ingerida tivesse sido absorvida e distribuída, sem ser biotransformada em nenhum momento deste processo. O volume aparente de distribuição (V_d) do etanol é obtido através da razão entre dose (g/kg) e C_0 e é conhecido como fator r ou ρ de Widmark (GULLBERG & JONES, 1994; JONES & POUNDER, 1998; JONES, 2000).

Outro modelo farmacocinético utilizado para o etanol é o de cinética de saturação ou cinética enzimática, conhecido por equação de *Michaelis-Menten (M-M)*, que considera toda a curva de eliminação no cálculo dos parâmetros cinéticos. A velocidade de decréscimo na concentração, em função do tempo (dC/dT), depende de três parâmetros: $V_{\text{máx}}$ – velocidade máxima da reação enzimática; K_m – Constante de *Michaelis* ou a concentração do etanol na metade da velocidade máxima; C – concentração sanguínea inicial de etanol (JONES & POUNDER, 1998; JONES, 2000; MUMENTHALER et al., 2000), conforme equação abaixo:

$$\frac{dC}{dT} = \frac{V_{\text{máx}} \cdot C}{K_m + C}$$

Porém, alguns autores aconselham que este modelo deva ser utilizado somente quando as concentrações de etanol forem bem baixas, uma vez que não há saturação dos sítios enzimáticos (LUCEY et al., 1999).

MUMENTHALER et al. (2000) também sugerem que a utilização da cinética de eliminação de ordem zero seja feita quando se analisa somente uma porção da curva descendente da concentração em função do tempo. Para descrever a cinética do

etanol durante toda a curva, um modelo não linear mais sofisticado é requerido (WEDEL et al., 1991; LEVITT & LEVITT, 1998; MUMENTHALER et al, 2000).

Objetivo

3. OBJETIVO E PLANO DE TRABALHO

Investigar as possíveis diferenças existentes na farmacocinética do etanol em mulheres, considerando duas fases do ciclo menstrual (fase pré-folicular e lútea), bem como o uso de anticoncepcionais orais. Comparar esses resultados com os obtidos no estudo farmacocinético envolvendo homens.

Para se atingir o objetivo proposto, foi elaborado o seguinte plano de trabalho:

- Padronização e revalidação do método para determinação do etanol em amostras de sangue por cromatografia em fase gasosa e separação por *head space*;
- Seleção dos voluntários para o estudo, utilizando critérios de inclusão e exclusão baseados na toxicocinética e dinâmica do etanol, entre outros;
- Avaliação das funções renal e hepática através de exames bioquímicos;

- Acompanhamento e orientação das voluntárias que não faziam uso de anticoncepcionais orais por período mínimo de 5 meses, quanto à frequência e duração do ciclo menstrual, além do controle diário da temperatura basal;
- Planejamento, orientação e execução das coletas de amostras de sangue dos voluntários selecionados;
- Determinação laboratorial dos hormônios femininos para verificação da ovulação e confirmação da fase do ciclo menstrual;
- Determinação do etanol por cromatografia gasosa/*head space*, em amostras de sangue provenientes dos voluntários participantes do experimento;
- Cálculo dos parâmetros farmacocinéticos do etanol;
- Análise estatística e comparação dos resultados entre os grupos do estudo: mulheres que não utilizavam anticoncepcionais orais, mulheres que utilizavam anticoncepcionais orais e homens.

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Equipamentos e acessórios

- Cromatógrafo a gás modelo 6890 com injetor split / splitless e detector de ionização de chama, acoplado ao Chem Station Rev. A. 04.02 (Hewlett-Packard, Wilmington, EUA);
- Coluna capilar de sílica fundida Poraplot Q[®], com 10 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro interno (Chrompack, Holanda);
- Estufas com controle de temperatura (20 a 150°C)(Ética Equipamentos Científicos, São Paulo, Brasil);
- Gases especiais para a cromatografia em fase gasosa: hélio, nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (Air Liquide);
- Microseringa gas-tight 250 uL (Hamilton Company);

4.2. Material para coleta das amostras

- Coletor tipo “scalp” para uso com “Vacutainer” 21G 3/4 (Becton Dickinson);
- Seringas descartáveis de 10 mL (Becton Dickinson);
- Agulhas descartáveis 25x8 – 21G1 (Becton Dickinson);
- Catéter intravenoso Insyte 20 GAX1.16IN (Becton Dickinson);
- Torneira descartável de três vias (Mark Med);

- Tubos tipo “vacutainer” de 5 ml com NaF – código V20065 (Labnew Indústria e Comércio Ltda);
- Tubos tipo “vacutainer” de 10 ml – código V20030 (Labnew Indústria e Comércio Ltda);

4.3. Bebida utilizada no experimento

As amostras de uísque utilizadas no experimento (*Passport Scotch®*), pertencentes ao mesmo lote, foram submetidas à análise para determinação da concentração de etanol. A concentração média de etanol e o desvio padrão obtidos foram $29,76 \pm 2,06$ g/100 ml da bebida.

4.4. Reagentes e outros materiais

- Solução de etanol a 4 % v/v e a 9,6 % v/v (Sigma);
- Soluções a 15 g/L de acetaldeído, acetona, etanol, isopropanol, metanol e n-propanol (p.a. Merck).
- Sulfato de sódio anidro (Merck)
- Fluoreto de sódio, pa. (Merck)
- Frascos de vidro, capacidade para 10 mL (Hewlett-Packard);
- Tampas de borracha, lacre de alumínio e lacrador (Hewlett-Packard)
- Calibradores e controles para o TDX Flx® (Abbott Diagnósticos)

4.5. População estudada

4.5.1. Seleção dos voluntários

Voluntários saudáveis, do sexo masculino e feminino, raça branca, com idade variável entre 21 e 35 anos, foram selecionados após recrutamento através de cartazes, que foram afixados principalmente nas universidades: Universidade de São Paulo (USP), Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUCCAMP), Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP) e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), através de divulgação oral na comunidade científica e contato direto com colegas de turma e estudantes do curso de pós-graduação em Toxicologia e Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF)-USP e outros. No cartaz constaram as principais características dos voluntários, como idade e sexo, endereço para contato, além da descrição sucinta do estudo. O modelo utilizado segue em anexo (ANEXO 1).

Os voluntários foram informados, antes do início do estudo, quanto às razões do mesmo. Também foi providenciada a descrição do trabalho por escrito, incluindo o nome, telefone e endereço para contato com o pesquisador. A participação neste estudo foi voluntária, sendo que o indivíduo poderia se retirar da pesquisa a qualquer momento. O desligamento dos voluntários poderia ocorrer no caso de não cumprimento das regras do protocolo, gravidez, doenças, efeitos adversos ou colaterais pelo uso de álcool e incompatibilidade de horários.

Todos os voluntários receberam um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 2), previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Médicas da Pontifícia Universidade Católica de Campinas em 05/10/1999 (ANEXO 3). Também foi aplicado um questionário de avaliação clínica (ANEXO 4), para verificar questões relacionadas ao uso de etanol e à saúde do voluntário.

Os voluntários selecionados foram divididos em três grupos: mulheres que não utilizavam anticoncepcionais orais (AO), mulheres que utilizavam AO e homens, dos quais foram coletados dados referentes à idade, peso e altura.

Estes parâmetros foram utilizados posteriormente para o cálculo do índice de massa corpórea (IMC) e da quantidade total de água no organismo (TBW – Total Body Water) (WATSON et al., 1980), uma vez que estas são características importantes a serem avaliadas na população selecionada para o estudo de cinética do etanol. As equações utilizadas estão descritas abaixo:

$$\text{IMC (kg/m}^2\text{)} = \text{peso} / \text{altura}^2$$

$$\text{TBW mulheres (L)} = -2,097 + 0,1069 \cdot \text{altura (cm)} + 0,2466 \cdot \text{peso (kg)}$$

$$\text{TBW homens (L)} = 2,447 - 0,09516 \cdot \text{idade (anos)} + 0,1074 \cdot \text{altura (cm)} + 0,3362 \cdot \text{peso (kg)}$$

4.5.2. Critérios de exclusão

Todos os voluntários selecionados realizaram avaliação das funções renal e hepática através dos exames bioquímicos: aspartato-aminotransferase (AST), alanina-aminotransferase (ALT), creatinina e uréia, servindo os resultados alterados como critério de exclusão. Além disto, outros fatores utilizados para exclusão foram:

- Índice de Massa Corpórea (IMC) inferior a 19 e superior a 24, para o sexo feminino, e inferior a 19 e superior a 28 para o sexo masculino;
- Uso de medicamentos;
- Uso abusivo de etanol ou farmacodependência (alcoolismo);
- Presença de doenças hepáticas e renais (de acordo com informação do próprio voluntário e confirmadas por exames laboratoriais);
- Presença de doenças psiquiátricas e neurológicas (de acordo com informação do próprio voluntário);
- Evidência de alta sensibilidade ao etanol como, por exemplo, por deficiência da enzima aldeído desidrogenase (ALDH), muito freqüente entre pessoas da raça amarela;
- Falta de disposição para seguir o protocolo da pesquisa;
- Gravidez ou intenção de engravidar no período;
- Mulheres em fase de amamentação;
- Mulheres que apresentavam ciclo menstrual irregular ou anovulatório, considerando aquelas que não estavam sob prescrição de anticoncepcionais orais.

Sendo assim, todas as voluntárias foram orientadas a fazer uso de métodos contraceptivos mecânicos (ex. preservativo), pelo menos 1 mês antes e durante o experimento e, antes do início do mesmo, foi realizada a determinação da β hCG sangüínea, para garantir que a voluntária não estava grávida durante o estudo.

Para verificação da ovulação, no caso do grupo de voluntárias que não utilizavam AO, utilizou-se o gráfico da temperatura basal, realizado no mês do estudo, e os dados dos exames hormonais feitos nos dias do experimento. Os hormônios dosados foram: estrógeno e progesterona, pelo método de radioimunoensaio (Equipamento ACS 180®), e hormônio folículo-estimulante (FSH) (Equipamento Hemolight 2000®) e luteinizante (LH) (Equipamento Kryptor®), por imunofluorimetria. Um aumento nos níveis plasmáticos de progesterona na fase lútea, da ordem de 1 ng/dL, indica que ocorreu ovulação naquele ciclo menstrual. Além disso, através da tabela da temperatura basal, verifica-se que, se houve ovulação, há um ligeiro aumento na temperatura basal neste período.

A determinação da concentração dos hormônios: estrógeno, progesterona, LH e FSH, e a posterior análise estatística destes dados, também serviu para confirmar a fase do ciclo menstrual que estava sendo testada.

4.5.3. Administração de etanol e coleta das amostras

A coleta das amostras de sangue das voluntárias que não utilizavam AO foi realizada em 2 dias escolhidos, de acordo com o ciclo menstrual. A primeira coleta foi realizada entre os dias 3 e 7 após o primeiro dia de menstruação (fase menstrual ou pré-folicular) e a segunda 7 ± 2 dias antes da data aproximada da próxima menstruação (fase lútea). Como parte inicial do experimento, as voluntárias foram orientadas a fazer o controle diário da temperatura basal e anotações sobre o período do ciclo e do fluxo menstrual durante pelo menos 5 meses (ANEXO 5). Semanalmente, estas voluntárias foram procuradas pelo pesquisador para acompanhamento do processo de coleta de dados e para auxiliar nas dúvidas que surgissem durante o período.

As voluntárias pertencentes ao grupo de mulheres que utilizavam AO participaram do experimento em qualquer dia do ciclo, com exceção dos dias em que não estavam tomando o AO, conforme as instruções do medicamento.

No caso dos homens, a coleta foi realizada de acordo com a disponibilidade do voluntário.

Administrou-se o etanol na forma de uísque gelado, na dose de 0,30 g/kg. Esta dose foi ingerida num prazo máximo de 10 minutos. Os voluntários estavam em jejum, por pelo menos 6 horas, antes do início do experimento e em abstenção de bebidas alcoólicas por 30 horas.

Os voluntários tiveram um almoço padronizado e um lanche da tarde, visto que o experimento durou aproximadamente de 6 a 7 horas.

O sangue foi coletado de 15 em 15 minutos na primeira hora, de ½ em ½ hora, na segunda hora e durante as 4 horas seguintes de 1 em 1 hora. Anteriormente à administração de etanol, foi coletada a primeira amostra de sangue que serviu como referência branco para cada indivíduo. Além disso, coletaram-se 10 mL de sangue para a realização das análises bioquímicas e hormonais. A coleta foi feita com o auxílio de scalp ou catéter intravenoso e seringas descartáveis e o sangue armazenado em frascos do tipo Vacutainer, contendo fluoreto de sódio a 1% como anticoagulante e conservante. A anti-sepsia do local onde coletou-se o sangue foi feita com água e sabão. No intervalo de tempo entre coleta e análise, as amostras foram mantidas em geladeira à temperatura de 4°C, por um período máximo de 5 dias.

4.6. Determinação de etanol em sangue por cromatografia em fase gasosa e separação por *head space*

A técnica utilizada para separação do etanol da matriz biológica consiste na adição de 1,0 mL de amostra (sangue) e 1,0 mL de padrão interno (n-propanol 0,8 g/L) em um frasco de vidro com capacidade para 10 mL, contendo 2,0 g de sulfato de sódio anidro. Este frasco é fechado com tampa de borracha, lacrado com um anel de alumínio e a seguir

colocado por 30 minutos em estufa previamente aquecida a 70°C. A camada superior é homogeneizada através de 3 operações de tomada e devolução do vapor, usando a própria seringa de injeção no cromatógrafo, a qual foi mantida ligeiramente aquecida com auxílio de uma segunda estufa para evitar condensação de vapores. Após este procedimento, retiram-se, por punção através da tampa, 250 µL da camada de vapor, injetando-a no cromatógrafo gasoso. O fluxograma da técnica de separação por *head space* está apresentada na figura 2.

A determinação de etanol foi feita segundo metodologia analítica descrita por CORRÊA (1997) e CORRÊA & PEDROSO (1997b), com as seguintes modificações: temperatura da coluna igual a 130°C, relação de split 1/10 e uso de hidrogênio como gás de arraste com fluxo de 3,0 mL/min. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram 0,01 e 0,06 g/L, respectivamente.

FIGURA 2 - Fluxograma da técnica de separação por *head space* para quantificação de etanol em amostras de sangue por cromatografia gasosa.

4.7. Determinação de etanol nas amostras de sangue provenientes dos voluntários

Após revalidação da metodologia, com amostras de sangue de referência branco, amostras de sangue adicionadas de etanol e calibradores e controles para o TDX Flx[®], procedeu-se a análise das amostras de sangue dos voluntários. As amostras de sangue obtidas segundo o procedimento 4.5.3, perfazendo um total de 360 coletas, foram analisadas, em duplicata, para determinação quantitativa de etanol, conforme descrito em 4.6.

4.8. Determinação dos parâmetros farmacocinéticos

Os parâmetros farmacocinéticos foram estimados pelo método clássico, pela equação de Widmark e utilizando um programa de análise de dados farmacocinéticos não-compartimental conhecido por *PK Solutions 2.0* (Summit Research Services), a partir da curva de decaimento exponencial da concentração sangüínea de etanol em função do tempo. As medidas clássicas analisadas foram concentração máxima ($C_{máx.}$), tempo para atingir a concentração máxima ($T_{máx.}$), velocidade de absorção (V_{ab}), velocidade de eliminação (β_{60}) (área de saturação), quantidade total de etanol eliminada (b_{60}) (área de saturação), razão de eliminação (R) (área de saturação), área sob a curva (ASC), volume aparente de distribuição (V_d ou

ρ), meia-vida de eliminação ($t_{1/2\beta}$) e *clearance* ou depuração total (Cl_{total}), conforme pode ser visto na Tabela 1.

TABELA 1. Descrição dos parâmetros farmacocinéticos utilizados neste estudo.

Parâmetro	Descrição	Equação
$C_{m\acute{a}x.}$ (g/L)	Concentração máxima	Dado obtido
$T_{m\acute{a}x.}$ (h)	Tempo para atingir a concentração máxima	Dado obtido
V_{ab} (g/L.h)	Velocidade de absorção	$C_{m\acute{a}x.} / T_{m\acute{a}x.}$
β_{60} (g/L.h)	Velocidade de eliminação	Inclinação da curva de regressão linear obtida da porção de eliminação da curva: concentração sangüínea de etanol (g/L) x tempo (h)
b_{60} (g/h)	Quantidade total de etanol eliminada	$\beta_{60} \cdot TBW^* / 0,80^{**}$
R (g/kg.h)	Razão de eliminação	$b_{60} / \text{peso corpóreo}$
ASC_T (g.h/L)	Área sob a curva (0- ∞)	Método de integração trapezoidal
ρ (L/Kg)	Volume aparente de distribuição segundo Widmark	$\text{Dose administrada (g/kg)} / C_o$ (ponto onde a curva intercepta Y)
V_d (L/kg)	Volume aparente de distribuição	Cl_T / β
$t_{1/2\beta}$ (h)	Meia-vida de eliminação	$0.693/\beta$
Cl_{total} (L/h.kg)	Depuração total	Dose / ASC_T

* TBW (Total Body Water) (WATSON et al., 1980);

** Proporção de água no sangue total.

4.9. Análise estatística

Realizaram-se análises descritivas dos dados através de medidas de posição e dispersão (média, desvio-padrão e mediana).

O nível de significância adotado para todas as avaliações foi de 5% ($p < 0,05$). Utilizou-se o SAS[®] System for Windows, versão 6.12, Microcal Origin[®], versão 5.0 e Instat[®], versão 3.05.

4.9.1. Perfil de concentração sangüínea de etanol em função do tempo

No estudo da variação da concentração sangüínea de etanol em função do tempo foi utilizada a análise de variância ANOVA com medidas repetidas. Este teste, utilizado para grupo de 3 ou mais amostras relacionadas ou independentes, tem por objetivo identificar se há diferença entre as médias populacionais devido a várias causas que atuam simultaneamente sobre os elementos da população. Para a análise da concentração de etanol, primeiramente, foram comparadas as duas fases avaliadas no grupo das mulheres, utilizando dois fatores, ambos com medidas repetidas: fase (pré-folicular e lútea) e tempo após ingestão (0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,50; 2; 3; 4; 5 horas). Posteriormente e similarmente, foram comparados os valores médios de concentração sangüínea dos três grupos (mulheres, mulheres sob prescrição de anticoncepcional e homens) e o tempo após ingestão.

4.9.2. Parâmetros farmacocinéticos

Para comparação do grupo das mulheres nas fases pré-folicular e lútea foi utilizado o teste de Wilcoxon, que avalia os casos de duas amostras relacionadas, ou seja, uma única mulher com duas amostras diferentes, onde atribui-se maior ponderação a um par que acusa grande diferença entre as condições, do que a um par em que esta diferença seja pequena. Normalmente testa-se a hipótese de que duas populações relacionadas tenham a mesma distribuição de probabilidade. No caso, é pressuposto que os parâmetros farmacocinéticos obtidos nas fases pré-folicular e lútea não apresentem diferenças estatisticamente significantes.

Na comparação dos parâmetros farmacocinéticos entre o grupo das mulheres e mulheres sob prescrição de anticoncepcionais, o teste de Mann-Whitney foi aplicado na comparação das variáveis contínuas entre 2 grupos independentes (caso de duas amostras independentes). Este teste não paramétrico é utilizado para comprovar se dois grupos independentes foram ou não extraídos na mesma população, ou seja, se apresentam ou não diferenças estatisticamente significantes. Estes resultados foram confirmados pelo teste t não pareado.

Na comparação de 3 grupos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Este teste é utilizado para casos de n amostras independentes, extremamente útil para decidir se estas n amostras provêm de

populações diferentes. Portanto, através deste teste comparou-se os parâmetros farmacocinéticos obtidos no grupo das mulheres com o grupo das mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais e com os homens.

Resultados

5. RESULTADOS

5.1. Descrição da população

Participaram do experimento dez voluntárias que não utilizavam anticoncepcional oral, por pelo menos 5 meses e doze voluntárias que utilizavam anticoncepcional oral, no mínimo há 3 meses, sem interrupção. O estudo incluiu também 14 voluntários do sexo masculino para servir como referência aos resultados encontrados entre o grupo de mulheres.

A Tabela 2 apresenta a média e o desvio padrão dos dados obtidos e calculados para cada grupo de estudo, como idade, peso, altura, índice de massa corpórea (IMC) e quantidade total de água no organismo (TBW).

TABELA 2. Valores descritivos dos parâmetros obtidos (idade, peso e altura) e calculados (IMC e TBW) do grupo das mulheres sem uso de AO, mulheres com uso de AO e homens.

Grupo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC* (kg/m ²)	TBW** (L)
Mulheres sem AO (n=10)	26,4 ± 5,06	55,5 ± 4,65	1,63 ± 0,03	20,86 ± 1,05	29,01 ± 1,47
Mulheres com AO (n=12)	28,83 ± 5,06	58,4 ± 5,73	1,65 ± 0,06	21,61 ± 1,40	29,90 ± 1,89
Homens (n=14)	30,13 ± 4,72	76,7 ± 13,2	1,76 ± 0,08	24,76 ± 2,35	44,24 ± 5,15

* IMC – Índice de massa corpórea;

** TBW – Quantidade total de água no organismo.

Na análise dos questionários de avaliação clínica, constatou-se que os voluntários participantes faziam somente uso social de etanol, ou seja, relataram consumir bebidas alcoólicas no máximo uma vez por semana, sendo que a maioria destes fazia uso esporádico. Não foram observados casos de alcoolismo entre pais e mães dos voluntários, sendo que somente 3 destes relataram apresentar tios etilistas na família.

Além disso, todos os voluntários selecionados apresentaram os resultados dos exames bioquímicos dentro dos valores de referência aceitos (Tabela 3).

TABELA 3. Resultados dos exames bioquímicos realizados nos voluntários participantes do estudo.

Exames bioquímicos	Média $\pm$ desvio padrão			Valores de referência
	Homens	Mulheres sem AO*	Mulheres com AO*	
Aspartato-aminotransferase (AST) (U/L)	21,78 $\pm$ 5,66	20,26 $\pm$ 6,26	18,29 $\pm$ 4,12	Até 46 U/L
Alanina-aminotransferase (ALT) (U/L)	16,84 $\pm$ 5,28	16,78 $\pm$ 5,97	13,19 $\pm$ 5,74	03 a 50 U/L
Creatinina (mg/dL)	1,10 $\pm$ 0,16	0,84 $\pm$ 0,16	0,84 $\pm$ 0,15	0,40 a 1,30 mg/dL
Uréia (mg/dL)	25,64 $\pm$ 5,17	28,88 $\pm$ 8,59	22,00 $\pm$ 3,13	10,0 a 50,0 mg/dL

*AO = anticoncepcional oral

Exames realizados pela UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas, Indaiatuba, S.P., com kits-diagnósticos Labtest®.

Em relação às dosagens hormonais, os resultados obtidos estão expressos na Tabela 4.

TABELA 4. Concentração de hormônios em amostras de sangue de mulheres sem uso de AO, coletadas no período pré-folicular e lúteo do ciclo menstrual.

Voluntário	Progesterona (ng/dL)		Estradiol (pmol/L)		FSH* (mIU/mL)		LH** (mIU/mL)	
	Pré-folicular	Lútea	Pré-folicular	Lútea	Pré-folicular	Lútea	Pré-folicular	Lútea
1	0,13	5,30	272,0	630,0	5,3	3,2	3,8	2,9
2	0,10	17,00	157,0	350,0	5,2	2,6	4,5	2,1
3	0,13	2,00	108,0	140,0	5,6	3,0	3,9	3,9
4	0,20	4,50	123,0	500,0	3,2	0,85	2,9	3,5
5	0,10	14,00	110,0	440,0	4,2	2,2	3,5	1,9
6	0,10	12,00	109,0	650,0	5,4	2,3	4,5	2,0
7	0,07	25,00	170,0	460,0	4,6	2,7	3,4	5,6
8	0,08	23,00	280,0	830,0	4,9	1,8	5,0	1,2
9	0,11	0,13	132,0	430,0	5,1	2,9	3,6	2,5
10	0,09	0,11	112,0	523,0	4,5	2,0	3,7	3,0

*Hormônio folículo-estimulante (FSH);

** Hormônio luteinizante (LH).

Os níveis de progesterona obtidos na fase lútea (2ª coleta) ($10,30 \pm 9,27$ ng/dL) foram significativamente maiores ($p=0,0071$, teste t pareado) do que os obtidos na fase pré-folicular (1ª coleta) ($0,11 \pm 0,037$ ng/dL). Para os dois últimos voluntários (9 e 10) não houve aumento da ordem de 1 ng/dL nos níveis de progesterona na fase lútea, comparada com

a fase pré-folicular, o que caracteriza hormonalmente período anovulatório. Com esta constatação, decidiu-se avaliar o gráfico de temperatura basal antes da exclusão de seus dados para os cálculos estatísticos de comparação entre a fase pré-folicular e lútea. O gráfico de temperatura basal também não demonstrou evidências de ovulação no período, pois a temperatura manteve-se praticamente constante durante todo o ciclo, conforme pode ser visto na figura 3, não havendo elevação desta no período ovulatório, como esperado.

FIGURA 3. Gráfico de temperatura basal de duas voluntárias, em função dos dias do ciclo menstrual, demonstrando período anovulatório.

Similarmente à progesterona, os níveis de estradiol na fase lútea ($495,3 \pm 185,83$ pmol/L) foram maiores ($p < 0,0001$) do que aqueles obtidos na fase pré-folicular ($157,3 \pm 66,03$ pmol/L). O hormônio folículo estimulante

(FSH) apresentou valores significativamente maiores ($p < 0,0001$) na fase pré-folicular ($4,80 \pm 0,71$ mIU/mL) quando comparado com a fase lútea ($2,36 \pm 0,69$ mIU/mL) e o hormônio luteinizante (LH) não apresentou diferenças estatisticamente significantes ($p = 0,0919$) entre as fases pré-folicular ($3,88 \pm 0,62$ mIU/mL) e lútea ($2,86 \pm 1,25$ mIU/mL).

Com base nestes resultados, verificou-se que as fases do ciclo menstrual escolhidas, pré-folicular e lútea, correspondiam com o perfil hormonal esperado.

Ainda em relação às mulheres que não utilizavam AO, a média de duração do ciclo menstrual na fase do experimento foi de $28,3 \pm 1,57$ dias, sendo a primeira coleta realizada no dia $5,5 \pm 0,85$ e a segunda no dia $21 \pm 1,05$ ($n=10$). A média de duração de três ciclos anteriores ao experimento para as dez voluntárias foi de $28,13 \pm 2,89$ dias ($n=30$).

No caso das mulheres que utilizavam AO, os medicamentos contraceptivos utilizados foram: Diane® (1), Diminut® (1), Femiane® (1), Femina® (2), Gynera® (1), Harmonet® (1), Mercilon® (2), Microdiol® (2) e Minulet® (1), cuja composição e laboratórios responsáveis se encontram em anexo (ANEXO 6).

5.2. Determinação de etanol nas amostras de sangue provenientes dos voluntários.

Foram realizadas 720 análises para determinação de etanol em amostras de sangue, coletadas de 22 voluntários do sexo feminino e 14 do masculino.

Os resultados de concentração sangüínea de etanol dos voluntários do sexo feminino nas duas fases do ciclo menstrual (pré-folicular e lútea), em função do horário de coleta, estão descritos na Tabela 5. O pico máximo de concentração ocorreu por volta de 0,75 e 1 hora para a fase pré-folicular e 0,5 e 0,75 hora, para a fase lútea. A maior concentração sangüínea obtida foi para a voluntária 6, na fase pré-folicular, igual a 0,64 g/L, sendo a média de concentração máxima obtida igual a 0,45 g/L, para as duas fases avaliadas.

No último horário de coleta (5 horas), os resultados de concentração sangüínea de todas as voluntárias estavam próximos ou abaixo do limite de detecção do método (0,01 g/L).

Os resultados de concentração sangüínea de etanol (g/L), em função do horário de coleta, para as mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais e para os homens estão descritos nas Tabelas 6 e 7.

No grupo das mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais, o pico máximo de concentração sangüínea ocorreu por volta de 0,25 e 0,5 hora, sendo o valor médio encontrado igual a 0,54 g/L, com valor máximo igual a 0,78 g/L para o voluntário 9. No último horário de coleta, somente 3

voluntários apresentaram concentração acima do limite de detecção do método.

Em relação aos homens, a média de concentração máxima obtida foi igual a 0,52 g/L, com valor máximo de 0,79 g/L (voluntário 9), no horário entre 0,25 e 0,5 hora após ingestão. Todos os resultados obtidos no último horário de coleta foram abaixo do limite de detecção do método.

TABELA 5 - Concentração sanguínea de etanol (g/L) em voluntárias nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual, segundo horário de coleta, após administração oral de etanol, na forma de uísque, na dose de 0,3g/kg.

Hora	Concentração de etanol (g/L) x 10 ⁻² (fase pré-folicular / fase lútea)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,25	28 / 24	35 / 30	36 / 54	12 / 15	41 / 55	64 / 30	33 / 60	08 / 22	36 / 45	38 / 38
0,50	43 / 39	34 / 43	40 / 53	22 / 26	36 / 51	56 / 41	47 / 49	22 / 26	39 / 49	42 / 37
0,75	47 / 33	42 / 44	38 / 44	38 / 31	42 / 45	46 / 37	48 / 43	27 / 29	44 / 52	43 / 34
1,0	41 / 32	35 / 44	38 / 41	40 / 41	35 / 41	42 / 36	51 / 41	29 / 29	47 / 37	38 / 33
1,5	39 / 26	36 / 43	34 / 35	41 / 40	30 / 36	39 / 30	43 / 36	32 / 26	40 / 32	29 / 28
2,0	30 / 20	30 / 38	29 / 26	35 / 31	21 / 30	29 / 24	36 / 30	25 / 20	28 / 21	22 / 20
3,0	15 / 09	17 / 25	16 / 19	18 / 18	06 / 17	18 / 13	27 / 18	14 / 13	16 / 14	17 / 14
4,0	06 / 07	08 / 13	09 / 11	09 / 10	04 / 11	09 / 08	14 / 10	06 / 08	10 / 10	10 / 06
5,0	* / *	* / 07	07 / 07	07 / 08	* / 09	* / *	08 / 09	* / *	* / *	* / *

* - Menor do que o limite de quantificação do método (0,06 g/L)

TABELA 6 - Concentração sanguínea de etanol (g/L) em voluntárias usuárias de anticoncepcional oral, segundo horário de coleta, após administração oral de etanol, na forma de uísque, na dose de 0,3g/kg.

Hora	Concentração de etanol (g/L) x 10 ⁻²											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,25	24	60	20	29	51	48	64	25	78	64	72	57
0,50	27	69	34	30	46	47	54	29	65	46	65	59
0,75	23	58	42	32	41	39	48	34	60	51	60	41
1,0	22	50	39	29	35	35	48	37	50	43	44	44
1,5	16	44	33	25	30	30	40	36	45	42	36	34
2,0	13	34	31	18	26	21	28	27	38	30	27	21
3,0	*	13	14	11	11	06	10	15	29	18	11	10
4,0	*	*	*	*	*	*	*	09	17	14	*	06
5,0	*	*	*	*	*	*	*	*	16	11	*	*

* - Menor do que o limite de quantificação do método (0,06 g/L)

TABELA 7 - Concentração sanguínea de etanol (g/L) em voluntários do sexo masculino, segundo horário de coleta, após administração oral de etanol, na forma de uísque, na dose de 0,3g/kg.

Hora	Concentração de etanol (g/L) x 10 ⁻²													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0,25	37	49	59	20	54	49	08	62	79	49	37	22	38	49
0,50	27	49	53	31	48	45	16	50	52	51	55	42	57	48
0,75	28	40	41	31	37	40	22	44	44	34	61	53	48	41
1,0	32	39	44	27	37	30	34	42	39	30	51	39	42	35
1,5	20	37	36	18	30	27	38	34	34	28	40	32	38	31
2,0	14	29	28	14	25	17	31	26	25	21	33	27	34	18
3,0	*	17	12	10	13	08	16	17	09	06	18	18	16	12
4,0	*	*	*	*	08	*	06	10	*	*	07	11	*	*
5,0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

* - Menor do que o limite de quantificação do método (0,06 g/L)

5.3. Parâmetros farmacocinéticos

Os parâmetros farmacocinéticos obtidos e calculados estão descritos nas Tabela 8 e representados graficamente na forma de distribuição por *box-plot* (figuras 4, 5 e 6).

TABELA 8. Valores descritivos dos parâmetros farmacocinéticos do etanol obtidos no presente estudo.

Parâmetro farmacocinético	Mulheres*			Homem* (n=14)
	Fase folicular (n=8)	Fase lútea (n=8)	Sob prescrição AO (n=12)	
C _{máx.} (g/L)	0,45±0,10	0,45±0,10	0,54±0,17	0,52±0,12
T _{máx.} (h)	0,88±0,44	0,59±0,35	0,46±0,26	0,48±0,35
V _{ab} (g/L.h)	0,76±0,75	1,19±0,90	1,47±1,01	1,50±0,85
β ₆₀ (g/L.h)	0,11±0,02	0,10±0,01	0,13±0,04	0,12±0,02
b ₆₀ (g/h)	4,05±0,61	3,50±0,40	4,83±1,54	6,75±1,18
R (g/kg.h)	0,07±0,01	0,06±0,01	0,08±0,02	0,09±0,01
ASC (g.h/L)	1,14±0,24	1,26±0,26	1,33±1,01	1,02±0,24
ρ (L/Kg)	0,59±0,06	0,65±0,12	0,59±0,15	0,61±0,08
V _d (L/kg)	0,49±0,28	0,60±0,28	0,35±0,15	0,33±0,12
t _½ (h)	1,22±0,66	1,73±0,88	1,03±0,68	0,76±0,37
Cl _{total} (L/h.kg)	0,27±0,05	0,25±0,05	0,29±0,13	0,31±0,09

(*média± desvio-padrão)

FIGURA 4. Representação gráfica (box-plot) da distribuição dos parâmetros relacionados à absorção ($C_{m\acute{a}x}$ e $T_{m\acute{a}x}$), encontrada em cada grupo de estudo [H – homens (n=14); MCAO – mulher com AO (n=12); MSAO1 – mulher sem AO – fase pré-folicular (n=10); MSAO2 – mulher sem AO – fase lútea (n=10)].

FIGURA 5. Representação gráfica (box-plot) da distribuição dos parâmetros relacionados à eliminação (β_{60} , R e depuração total), encontrada em cada grupo de estudo.

[H – homens (n=14); MCAO – mulher com AO (n=12); MSAC1 – mulher sem AO –fase pré-folicular (n=10); MSAC2 – mulher sem AO – fase lútea (n=10)]

FIGURA 6. Representação gráfica (box-plot) da distribuição relacionados à distribuição e biodisponibilidade do etanol em cada grupo de estudo [H – homens (n=14); MCAO – mulher com AO (n=12); MSAO1 – mulher sem AO –fase pré-folicular (n=10); MSAO2 – mulher sem AO – fase lútea (n=10)].

5.4. Análise Estatística

5.4.1. Perfil de concentração sangüínea de etanol em função do tempo

Os valores médios de concentração sangüínea de etanol em mulheres nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual, segundo tempo após ingestão, estão apresentados na figura 7.

FIGURA 7. Concentração sangüínea de etanol em voluntárias nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual, segundo o horário de coleta, após ingestão de uma dose de 0,3 g/kg de etanol, na forma de uísque. Cada ponto representa a média e o desvio padrão de 10 determinações.

Através da análise dos resultados de concentração sangüínea de etanol em função do tempo, nas fases pré-folicular e lútea, verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa quando se avaliou a fase ($p=0,9184$) e a interação da fase com o tempo ($p=0,4311$). Isto significa que avaliando o perfil geral de concentração versus tempo, as fases pré-folicular e lútea não apresentam diferenças, mesmo observando valores diferenciados de média e desvio padrão em alguns pontos da curva.

Isso pode ser confirmado pelo diagrama de dispersão apresentado na figura 8, que aponta as diferenças individuais na concentração sanguínea de etanol na fase pré-folicular e lútea, em cada ponto da curva de concentração versus tempo. Esta figura mostra que a diferença entre os valores apresentados, distribuem-se em torno do zero de forma bastante simétrica. Isto significa que se há diferenças, essas são pequenas e não seguem o mesmo padrão para todos os indivíduos, ou seja, a concentração sangüínea de etanol não é sempre maior ou menor em determinada fase do ciclo menstrual.

FIGURA 8. Diagrama de dispersão (*scattergram*) com as diferenças individuais na concentração sanguínea de etanol na fases pré-folicular e lútea (n=10).

Os valores médios de concentração sanguínea de etanol em função do tempo após ingestão, para o grupo das mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais, para o grupo dos homens e para o grupo de mulheres na fase pré-folicular, estão representados na figura 9. Como não houve evidência de diferença significativa entre as duas fases avaliadas no grupo das mulheres sem uso de AO, foram utilizados somente os valores da fase pré-folicular para esta comparação.

FIGURA 9. Concentração sanguínea de etanol em função do tempo, para o grupo dos homens (n=14), mulheres com (n=12) e sem anticoncepcional oral (n=10). Cada ponto representa a média e o desvio padrão.

Não houve evidência de diferença significativa entre o grupo dos homens, mulheres com anticoncepcional oral e mulheres sem anticoncepcional oral (fase pré-folicular) ($p=0,6891$), quando se comparou os valores de concentração sanguínea de etanol em função do tempo. A avaliação do perfil geral de concentração versus tempo, mesmo apresentando valores diferenciados de média e desvio padrão

em alguns pontos da curva, demonstra que não há diferença entre os grupos estudados.

5.4.2. Parâmetros farmacocinéticos

A comparação dos parâmetros farmacocinéticos nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual obtido do grupo de mulheres foi feita pelo teste de Wilcoxon, para amostras relacionadas. Neste momento foram utilizados os dados de oito voluntárias, e não das dez, uma vez que, hormonalmente, duas voluntárias demonstraram não ter ovulado no período do estudo, conforme descrito anteriormente (5.1). Para todos os parâmetros estudados, $C_{máx}$, $T_{máx}$, $V_{ab.}$, β_{60} , b_{60} , R , ASC , ρ , $t_{1/2}$ e Cl_{total} , os valores de p foram maiores que 0,05 (0,735; 0,064; 0,161; 0,053; 0,053; 0,053; 0,401; 0,263; 0,123; 0,401; respectivamente), demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados farmacocinéticos obtidos nas duas fases do ciclo menstrual.

Posteriormente a esta análise, foram comparados os parâmetros farmacocinéticos obtidos no grupo das mulheres, considerando as fases pré-folicular e lútea, com o das mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais. Pelo fato de não haver diferenças estatisticamente significantes entre as fases pré-folicular e lútea, os resultados obtidos foram agrupados para comparação, sendo também inclusos os resultados originados das duas mulheres que não

ovularam. Verificou-se que somente os parâmetros relacionados com a eliminação, como velocidade (β_{60}), razão (R) e quantidade total eliminada (b_{60}), e com o tempo para atingir a concentração máxima ($T_{\text{máx}}$), apresentaram diferenças estatisticamente significantes, conforme pode ser visto na Tabela 9.

TABELA 9. Análise descritiva dos parâmetros farmacocinéticos do grupo de mulheres com e sem uso de anticoncepcionais orais e comparação dos resultados pelo teste de Mann-Whitney.

Parâmetro	Média e Desvio Padrão		Valor de p
	Mulheres (n=20)	Mulheres com AO (n=12)	
$C_{\text{máx}}$ (g/L)	0,45 $\pm$ 0,09	0,53 $\pm$ 0,17	0,0657
$T_{\text{máx}}$ (h)	0,73 $\pm$ 0,39	0,46 $\pm$ 0,26*	0,0432
β_{60} (g/L.h)	0,10 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,04*	0,0068
b_{60} (g/h)	3,76 $\pm$ 0,55	4,83 $\pm$ 1,54*	0,0079
R (g/kg.h)	0,07 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02*	0,0240
ASC (g.h/L)	1,20 $\pm$ 0,24	1,33 $\pm$ 1,01	0,5713
ρ (L/kg)	0,62 $\pm$ 0,09	0,59 $\pm$ 0,15	0,4003
$t_{1/2}$ (h)	1,46 $\pm$ 0,73	1,03 $\pm$ 0,68	0,1113
Cl _{total} (L/h.kg)	0,26 $\pm$ 0,05	0,29 $\pm$ 0,13	0,2994

AO – Anticoncepcionais orais

* Significante, $p < 0,05$.

Segundo os resultados apresentados, nota-se que as mulheres sob prescrição de AO eliminam o etanol mais rapidamente do que as mulheres que não fazem uso, uma vez que os valores de p obtidos na

comparação destes parâmetros encontravam-se abaixo do nível de significância adotado ($p < 0,05$).

Na comparação final de todos os grupos do estudo: mulheres, mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais e homens, verificamos que os parâmetros $C_{\text{máx}}$, $T_{\text{máx}}$, V_{ab} , ASC_T , ρ (volume aparente de distribuição) e Cl_{total} não demonstraram diferenças significativas entre os grupos, conforme observa-se nos valores de p obtidos: 0,1115; 0,0574; 0,1137; 0,3723; 0,6524 e 0,2193, respectivamente.

A avaliação dos resultados de velocidade de eliminação (β_{60}) mostrou que existem diferenças entre os 3 grupos analisados ($p = 0,0053$), sendo que esta diferença está localizada principalmente entre o grupo das mulheres versus homens ($p = 0,0020$) e mulheres versus mulheres sob prescrição de AO ($p = 0,0068$), conforme discutido anteriormente. O valor de p obtido na comparação do grupo das mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais e homens foi igual a 0,4182. Analisando o parâmetro b_{60} (quantidade total de etanol eliminado), obteve-se valor de $p < 0,0001$, com todos os grupos apresentando diferenças entre si. Quanto à razão de eliminação (R), o valor de p foi igual a 0,0009, considerado altamente significativo. Esta diferença localiza-se principalmente entre o grupo das mulheres e homens ($p < 0,001$) e mulheres e mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais ($p = 0,0240$), mas não entre homens e mulheres usuárias de anticoncepcionais orais (0,3595), similar aos resultados de velocidade de eliminação. Finalmente, os resultados do $t_{1/2}$

demonstraram diferenças entre os grupos ($p=0,0090$), porém esta se localiza somente na comparação dos grupos: mulheres versus homens ($p=0,0026$).

Discussão

6. DISCUSSÃO

Pelo fato do consumo de etanol entre mulheres ser uma questão atual a preocupante, face a maior vulnerabilidade destas aos danos hepáticos, cerebrais, entre outros, quando comparadas aos homens com padrões semelhantes de consumo, e devido ao número mais restrito de estudos de cinética do etanol envolvendo o sexo feminino, surgiu o interesse na investigação da influência da variação dos hormônios femininos na farmacocinética do etanol.

O objetivo de exigir a participação de indivíduos que cumprissem com diversos requisitos foi criar um grupo homogêneo de estudo, restringindo assim alguns importantes fatores de variabilidade na cinética do etanol. Os homens também participaram do experimento, servindo como referência aos resultados encontrados nos grupos de mulheres.

Pela exigência deste tipo de estudo, geralmente o número de participantes acaba sendo pequeno (STUCKER et al, 1987a). Por exemplo, WANG et al. (1992) trabalharam com 15 voluntários, sendo 8 do sexo masculino e 7 do feminino, abordando o assunto: intoxicação aguda de etanol, composição corpórea e farmacocinética. Outros exemplos podem ser melhor visualizados na tabela 10. No presente estudo, os 36 voluntários, divididos em três grupos: mulheres sem anticoncepcionais orais (n=10), mulheres com prescrição de anticoncepcionais orais (n=12) e homens (n=14) foram os representantes de um grupo bem maior, quando do início do

mesmo, mas que ainda apresenta-se compatível com o observado na literatura.

TABELA 10. Número de participantes envolvidos em estudos que abordam a farmacocinética do etanol.

Estudo	Número de participantes (n)		Assunto abordado
	Homens	Mulheres	
BARAONA et al., 2001	22	23	Diferenças entre homens e mulheres na farmacocinética do etanol.
MUMENTHALER et al., 2000	-	24	Modelos farmacocinéticos de etanol em mulheres.
LUCEY et al., 1999	14	14	Influência da idade e gênero na concentração sanguínea de etanol.
HADDAD et al., 1998	-	9	Efeito do ciclo menstrual na cinética do etanol.
JONES & HAHN, 1997	4	3	Farmacocinética do etanol antes e após hemodiálise.
HAHN et al., 1997	-	6	Concentração de etanol x tempo após administração oral e intravenosa de etanol.
AMMON et al., 1996	6	6	Biodisponibilidade e metabolismo de primeira passagem do etanol: é gástrico, hepático ou depende do sexo?
FRASER et al., 1995	22	-	Variabilidade intra e inter individual na concentração de etanol, com e sem presença de alimento.
FREZZA et al., 1990	20	23	Elevadas concentrações sanguíneas de etanol em mulheres.

Além disso, pelo fato dos protocolos indicarem a coleta de diversas amostras em curtos intervalos de tempo, os experimentos que utilizam o sangue como amostra biológica, mesmo sendo este o parâmetro de referência, geralmente são mais trabalhosos, requerendo a participação de profissionais habilitados, e tendem a envolver menor número de participantes.

O grupo que despendeu maior trabalho foi o de voluntárias que não faziam uso de anticoncepcionais orais, uma vez que estas tiveram que realizar a leitura da temperatura basal todos os dias e anotar as características do ciclo menstrual, no mínimo durante 5 meses, e foram submetidas dois dias ao protocolo de estudo. Além disso, diversas voluntárias foram excluídas, pois apresentaram ciclos muito irregulares nos 3 meses anteriores ao experimento ou não estavam dispostas a cumprir o protocolo de estudo. Nenhuma das voluntárias apresentou mudança no peso corpóreo nos dois dias do experimento, similarmente aos resultados obtidos por MUMENTHALER et al. (1999a) que também não verificaram diferença estatisticamente significativa no parâmetro quantidade total de água no organismo (TBW - Total Body Water), assumindo então que a retenção de líquidos na fase lútea foi irrelevante. Como este parâmetro foi calculado a partir de equação que envolve peso e altura dos voluntários (WATSON et al., 1980), supõe-se que os resultados apresentados neste estudo também não sofreram variação, uma vez que peso e altura mantiveram-se constantes nos dois dias de coleta. HADDAD et al. (1998) também não encontraram

variação nestes parâmetros, mesmo utilizando equipamento (absortiômetro de raio X) para medir a quantidade total de água no organismo.

Visando fornecer resultados passíveis de comparação com outros experimentos, foram seguidos alguns critérios: primeiramente, utilizou-se os mesmos indivíduos nas duas fases do ciclo menstrual, seguindo o modelo experimental sugerido (*within-subject design*). Segundo, definiu-se para a coleta as fases pré-folicular e lútea, em virtude das variações existentes nos hormônios estrógeno e progesterona nestes períodos. E, por último, realizou-se dosagens hormonais para caracterizar se a voluntária ovulou ou não no período. Foi considerado o aumento da ordem de 1 ng/dL nos níveis de progesterona, na fase lútea, como indicativo da ovulação no período. Normalmente quando o período é anovulatório, os níveis de estrógeno e progesterona se mantêm baixos durante todo o ciclo. O não estabelecimento destes critérios foi alvo de críticas em diversos estudos que envolviam o ciclo menstrual e a cinética do etanol (LAMMERS et al., 1995; GILL, 1997; MUMENTHALER et al., 1999b).

No geral, os parâmetros hormonais dosados no grupo de mulheres sem AO estão dentro dos valores de normalidade para cada fase do ciclo, ou seja, concentrações maiores de estradiol e progesterona na fase lútea, concentrações baixas de hormônio luteinizante (LH) nas fases folicular e lútea, uma vez que este é aumentado somente na ovulação, e taxas um pouco mais elevadas do hormônio folículo-estimulante (FSH) na fase folicular, pela sua própria ação farmacológica. Resultados semelhantes

foram obtidos por SUTKER et al. (1987a) que também fizeram a dosagem hormonal no período ovulatório.

Analisando os dados de peso, índice de massa corpórea (BMI) e quantidade total de água no organismo (TBW) dos voluntários participantes no experimento, observou-se que o grupo das mulheres sem uso de anticoncepcionais orais e o grupo sob prescrição destes medicamentos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes com relação a esses parâmetros ($p=0,2173$; $p=0,2477$ e $p=0,2405$, respectivamente), demonstrando em parte a homogeneidade do grupo das mulheres. Quando se avalia o grupo dos homens, nota-se que estes realmente apresentam proporção maior de água no organismo (TBW), quando comparado com o grupo das mulheres, mesmo considerando maior peso corpóreo e maior índice de massa corpórea. Vale lembrar que o TBW foi calculado a partir de equação antropométrica (WATSON et al, 1980).

A escolha da dose de 0,3 g/kg foi feita, primeiramente, pela semelhança com outros estudos que envolviam a influência do fator sexo na cinética do etanol, visando facilitar posteriores comparações (FREZZA et al., 1990; FRASER et al., 1995; GARTNER et al., 1996; HADDAD et al., 1998; LUCEY et al., 1999). Em segundo lugar, essa dose proporcionaria concentrações não muito superiores ou próximas a 0,6 g/L (através de cálculos de estimativa da concentração sangüínea de etanol), implicando em sinais e sintomas leves da exposição ao etanol, que caracterizam estágio de euforia ou mesmo de sobriedade, dependendo da susceptibilidade individual (RUMACK et al, 2000). Por último, essas concentrações não seriam

suficientes para promover indução do sistema de oxidação microssômico do etanol (MEOS).

Grande parte dos estudos que administram álcool por via oral adotam o ajuste da dose em função do peso corpóreo como metodologia de escolha no cálculo da dose administrada. Revisão feita por BRESLIN & SOBELL (1999) descreve que, de 90 artigos publicados nos anos de 1994 e 1995, 84,4% utilizavam o cálculo de ajuste da dose de etanol por peso corpóreo (ex. g/kg), 1,1% pela quantidade total de água no organismo (TBW) e 14,4%, não utilizavam nenhum método de ajuste da dose, ou seja, forneciam quantidade fixa de etanol para todos os voluntários.

Como o álcool se distribui amplamente nos compartimentos aquosos do organismo, sugere-se que somente o peso corpóreo não seja suficiente para determinar a dose em função da quantidade de água no organismo, uma vez que a variabilidade individual é muito grande, principalmente quando se consideram os sexos masculino e feminino. Com isso, o ajuste da dose pela quantidade total de água no organismo (TBW) seria uma alternativa para minimizar as variabilidades individuais nos estudos de cinética do etanol (YORK & WELTE, 1994; DAVIES & BOWEN, 1999). Porém, a limitação ocorre na dificuldade de se obter esta medida, que necessita de equipamentos sofisticados para analisar a composição corpórea ou mesmo procedimentos que demandam tempo e profissionais altamente capacitados (WATSON et al, 1980; DAVIES & BOWEN, 1999). Sendo assim, uma das alternativas mais utilizadas, porém muitas vezes questionáveis, é a estimativa deste parâmetro através de equações

antropométricas, que utilizam dados de peso, altura, sexo e, algumas vezes idade, no cálculo de TBW (WATSON et al, 1980). WANG et al. (1992) examinaram as diferenças na farmacocinética do etanol relacionadas ao peso corpóreo, quantidade total de água no organismo (TBW) e índice de massa corpórea (IMC); sugeriram que este último seria uma outra alternativa no ajuste da dose de etanol, uma vez que apresentou boa correlação com o pico de concentração sangüínea, e necessita apenas das medidas de peso e altura para seu cálculo. Porém, segundo estes autores, outros estudos devem ser conduzidos no sentido de confirmar os resultados.

Após a avaliação destas colocações, optou-se por ajustar a dose por peso corpóreo, uma vez que todos os artigos publicados sobre cinética do etanol, sexo masculino e feminino e ciclo menstrual adotavam este mesmo critério.

Com relação ao método, a cromatografia gasosa com separação por *head space* é considerada de referência na análise do etanol, uma vez que permite a determinação simultânea de uma ampla faixa de analitos voláteis, além das vantagens em prolongar a vida útil da coluna e prevenir a contaminação do injetor (WATTS & McDONALDS, 1987; TAGLIARO & LUBLI, 1992; MACCHIA et al., 1995; CORRÊA & PEDROSO, 1997a; CORREA & PEDROSO, 1997b).

Os parâmetros farmacocinéticos foram estimados pelo método clássico e pela equação de Widmark, visto que a maioria dos estudos que abordam a cinética do etanol utilizam destes métodos para obter seus resultados, principalmente quando se diz respeito à velocidade de

eliminação (β_{60}) e ao volume aparente de distribuição (ρ) (JONES & JONSSON, 1994; HADDAD et al., 1998; LUCEY et al., 1999; MUMENTHALER et al., 1999a; MUMENTHALER et al., 2000).

O experimento foi realizado com os voluntários em jejum, tentando assim minimizar o efeito do metabolismo de primeira passagem do etanol (ADH gástrica), uma vez que, nesta condição, o etanol é rapidamente transferido para o intestino e prontamente absorvido (JONES, 2000). A presença de alimentos no estômago é responsável em parte pelo atraso no esvaziamento gástrico, favorecendo a maior atividade da ADH gástrica (HADDAD et al., 1998; GENTRY, 2000). Além disso, a variabilidade intra e interindividual dos parâmetros farmacocinéticos do etanol é bem maior quando este é administrado após a ingestão de alimentos (FRASER et al., 1995).

Nas condições padronizadas, os resultados do presente estudo não confirmam a hipótese de que a cinética do etanol difere nas duas fases do ciclo menstrual. Estes resultados contradizem estudos anteriores que afirmam que o pico de concentração sangüínea ($C_{\text{máx}}$), área sob a curva (ASC) e a eliminação são afetados pelas alterações hormonais que ocorrem nessas fases do ciclo menstrual (JONES & JONES, 1976; STUCKER et al., 1987a; STUCKER et al., 1987b), porém reforçam relatos recentes de que ainda é prematuro afirmar que o ciclo menstrual influencia diretamente a farmacocinética do etanol (JONES & JONES, 1984; BRICK et al., 1986; COLE-HARDING & WILSON, 1987; HADDAD et al., 1998; MUMENTHALER et al., 1999).

Tanto a avaliação da curva de concentração sanguínea de etanol em função do tempo (figura 7), quanto a avaliação dos parâmetros farmacocinéticos não confirmam a hipótese de que a cinética do etanol difere nas duas fases do ciclo menstrual, concordando com o trabalho publicado por MUMENTHALER et al. (1999a) que também utilizaram os mesmos indivíduos nas duas fases do ciclo menstrual, determinação da ovulação por medidas hormonais e escolha de duas fases com variação significativa nos níveis hormonais. O efeito do ciclo menstrual na farmacocinética do etanol foi estudado por HADDAD et al. (1998), que, embora não tenha determinado a ocorrência da ovulação, também não encontrou diferenças na cinética do etanol entre as duas fases do ciclo analisadas.

Embora as conclusões tenham sido semelhantes às de MUMENTHALER et al. (1999a), a velocidade de eliminação (β_{60}) obtida neste estudo (fase pré-folicular=0,11 g/L.h; fase lútea=0,10 g/L.h) foi bem menor do que aquela publicada por eles (fase pré-folicular=0,173 g/L.h e fase lútea=0,183 g/L.h). Isso pode ser em parte justificado pelo diferente protocolo de pesquisa adotado, onde MUMENTHALER et al., após café da manhã padronizado, administraram dose de 0,67 g/kg, fracionada em 4 vezes, aos voluntários com diferentes características, como índice de massa corpórea média igual a 24 kg/m². Porém, os resultados estão de acordo com os valores de velocidade de eliminação obtidos (entre 0,10 a 0,20 g/L.h) em estudos onde o etanol foi administrado a voluntários, que estavam em jejum por pelo menos 6 horas (JONES, 1993; JONES & ANDERSSON, 1996).

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre o grupo das mulheres sem AO e mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais, quando compararam-se os valores de concentração sangüínea de etanol em função do tempo. Porém, analisando os parâmetros farmacocinéticos individualmente, verifica-se que aqueles relacionados com a eliminação, como β_{60} , b_{60} e R, e o tempo para atingir a concentração máxima, registraram diferenças entre os dois grupos avaliados. As mulheres que tomavam anticoncepcionais orais eliminaram o etanol mais rapidamente e levaram menos tempo para atingir a concentração máxima do que as mulheres que não faziam seu uso.

Estes resultados contradizem aqueles obtidos por JONES & JONES (1984). Segundo esses autores, as mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais biotransformam o álcool mais lentamente do que as mulheres que não fazem uso, além de apresentarem menor pico de concentração sangüínea de etanol e nenhuma diferença no tempo para atingir a concentração máxima. O tempo para atingir a concentração máxima foi igual a 43,2 minutos (0,72 horas) para o grupo com AO e 37,8 minutos (0,63 horas) para o grupo sem AO, semelhante ao resultado obtido neste estudo para o grupo sem prescrição de AO: 43,8 minutos (0,73 horas), porém, diferente daquele obtido para as mulheres sob prescrição de AO (27,6 minutos - 0,46 horas). A velocidade de eliminação (β_{60}) obtida por JONES & JONES foi igual a 0,10 g/L.h para as mulheres com AO e 0,12 g/L.h para as mulheres sem AO, com resultados exatamente opostos aos obtidos neste experimento: 0,13 g/L.h e 0,10 g/L.h, respectivamente. Já

JEAVONS & ZEINER (1984), não revelaram diferença na farmacocinética do etanol quando compararam um grupo de mulheres com AO, testadas em qualquer dia sob administração do medicamento (dia 6-25), e outro grupo de não usuárias, testadas na fase pré-folicular do ciclo menstrual. Vale ressaltar que foram encontrados níveis mais elevados de acetaldeído, produto de biotransformação do etanol, nas mulheres que tomavam AO. FUKUNAGA et al. (1993) observaram níveis detectáveis de acetaldeído em mulheres, principalmente sob prescrição de anticoncepcionais orais e predominantemente quando baixas doses de etanol foram administradas. Isto pode estar relacionado com o fato das mulheres apresentarem danos hepáticos mais rapidamente do que os homens e dos hormônios sexuais femininos (esteróides) modularem a função da enzima aldeído desidrogenase (JEAVONS & ZEINER, 1984; FUKUNAGA et al., 1993). BRICK et al. (1986) igualmente não encontraram diferenças na cinética do etanol em mulheres que utilizavam AO.

É interessante, porém, observar que nenhum dos estudos mencionados preocupou-se em avaliar o tipo de anticoncepcional utilizado e sua dose, nem mesmo dosar as concentrações hormonais sanguíneas no dia da coleta. Provavelmente, isto pode explicar os resultados controversos até então obtidos nestes experimentos.

A comparação do perfil sanguíneo de etanol, somente em função do tempo, nos grupos de homens e mulheres também não revelou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Entretanto, alguns parâmetros farmacocinéticos apresentaram valores diferentes quando foram avaliados

individualmente. A eliminação do etanol mostrou-se diferente entre os homens e mulheres sem uso de anticoncepcionais orais, sendo que o primeiro apresentou maior velocidade de eliminação, com valor médio de 0,12 g/L.h, contra 0,10 g/L.h para o grupo das mulheres. Não houve diferença entre o grupo das mulheres sob prescrição de anticoncepcionais orais e os homens. Tanto a concentração máxima, quanto o tempo para atingi-la não apresentaram diferenças entre os grupos.

Ao contrário dos achados de FREZZA et al. (1990) não se constatou diferença entre homens e mulheres quanto à atividade da enzima álcool desidrogenase gástrica, que afeta a biotransformação do etanol quando este é administrado principalmente por via oral. Isso pode ser em parte explicado pela administração de etanol em jejum, conforme discutido anteriormente. Mesmo resultado foi obtido por LUCEY et al. (1999) que utilizaram para o estudo somente usuários ocasionais de etanol. AMMON et al. (1996) concluíram que as doses moderadas de etanol ingeridas, após consumo de alimentos, sofrem pequeno metabolismo de primeira passagem, que é feito parcialmente em nível gástrico e independe do gênero. Esses resultados foram obtidos administrando o etanol por vias oral, intravenosa e intraduodenal.

Segundo BARAONA et al. (2001), as diferenças na cinética do etanol entre homens e mulheres são mais atribuídas à menor atividade metabólica gástrica das mulheres do que às diferenças no esvaziamento gástrico ou na oxidação hepática do etanol. Porém vários fatores devem ser levados em consideração nesta avaliação, dentre estes o fato da ingestão de

etanol ser feita em jejum ou na presença de alimentos. Além disso, foi encontrada maior biodisponibilidade do etanol em mulheres (ASC - 47% maior) quando este foi administrado por via oral, mas não por via intravenosa (BARAONA et al., 2001).

Não havendo diferença na atividade da enzima álcool desidrogenase gástrica, segundo o protocolo de estudo adotado, os grupos alcançaram picos de concentração sangüínea de etanol e valores de área sob a curva semelhantes, discordando de estudos que observaram maior biodisponibilidade do etanol em mulheres (FREZZA et al., 1990; BARAONA et al., 2001).

O volume aparente de distribuição calculado segundo Widmark (ρ) foi semelhante aos valores médios obtidos por LUCEY et al. (1999), que também não demonstraram diferença entre o sexo masculino e feminino neste parâmetro farmacocinético.

Considerando a velocidade de eliminação, as mulheres que não utilizavam anticoncepcionais orais apresentaram resultados controversos com os da literatura. Na revisão realizada por MUMENTHALER et al. (1999b), de 13 estudos que verificavam diferenças na cinética do etanol entre os sexos através do β_{60} , 9 concluíram que as mulheres alcançavam maior velocidade de eliminação do que os homens e 4 não demonstraram nenhuma diferença significativa entre eles. Embora a maioria dos estudos sugerem que as mulheres eliminam o etanol mais rapidamente do que os homens, nota-se a importância da realização de outros experimentos que

comproven estes resultados, utilizando protocolos validados de estudo, uma vez que estes não foram reproduzidos neste presente trabalho.

Além da importância dos estudos de farmacocinética, torna-se necessária a investigação da influência do ciclo menstrual nos efeitos ocasionados pelo álcool (MUMENTHALER et al., 1999b; HOLDSTOCK & WIT, 2000). O estrógeno e a progesterona interagem com neurotransmissores (GABA – gama aminobutírico e DA – dopamina) importantes na mediação dos efeitos subjetivos e comportamentais do etanol. Com isso, é possível que a variação nos níveis destes hormônios, durante o ciclo menstrual, seja responsável pela alteração dos efeitos subjetivos, fisiológicos e do desempenho ocasionados pelo etanol (HOLDSTOCK & WIT, 2000). Em um estudo realizado por HOLDSTOCK & WIT (2000), 16 mulheres participaram do experimento, onde diversos parâmetros subjetivos, comportamentais e fisiológicos foram medidos durante as quatro fases do ciclo menstrual: menstrual, folicular, lútea e pré-menstrual. Os resultados apresentados sugerem que não há alterações significantes nos parâmetros testados, nem no padrão de escolha de doses adicionais de etanol, durante as 4 fases do ciclo menstrual. Embora existam razões para se esperar diferenças nestes resultados, baseado na interação dos hormônios com os neurotransmissores que modulam a ação do etanol, conclui-se que, se estas existem, devem ser muito modestas para serem notadas nestes modelos experimentais (HOLDSTOCK & WIT, 2000). Entretanto, sugere-se a realização de outros estudos para confirmação destes resultados.

Embora, o presente estudo não tenha demonstrado diferenças nas fases pré-folicular e lútea do ciclo menstrual, é importante salientar que foi determinada somente a concentração de etanol e não de seus produtos de biotransformação, como o acetaldeído, que pode estar diretamente envolvido com os efeitos danosos ocasionados pelo consumo de etanol, principalmente em mulheres. Os estrógenos podem não alterar a enzima álcool desidrogenase, mas sim a aldeído desidrogenase, e isso deve ser investigado, uma vez que os estudos mais recentes envolvendo ciclo menstrual não têm demonstrado diferenças nos parâmetros farmacocinéticos, pois avaliam somente a concentração sanguínea de etanol. Além disso, torna-se importante destacar que outros estudos devem ser conduzidos com mulheres, no sentido de investigar a cinética do etanol em ciclos anovulatórios, para determinar a extensão que a flutuação nos níveis dos hormônios gonadais e hipofisários pode exercer na variabilidade intra-individual, e com homens, investigando a influência dos hormônios masculinos, especialmente da diidrotestosterona, na cinética do etanol.

Conclusões

7. CONCLUSÕES

Os resultados experimentais do presente trabalho permitem concluir que:

- Os parâmetros farmacocinéticos do etanol não variam em função do ciclo menstrual, mesmo com a ocorrência de alterações hormonais, nas fases pré-folicular e lútea, nas mulheres que não utilizavam anticoncepcionais orais;
- As mulheres que tomam anticoncepcionais orais levam menos tempo para atingir a concentração máxima e apresentam ligeira tendência a eliminação mais rápida do etanol do que as mulheres que não fazem uso;
- Não se constata diferenças estatisticamente significantes nos parâmetros farmacocinéticos do etanol obtidos com as mulheres que utilizam anticoncepcionais orais e os homens.

Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AMMON, E., SCHÄFER, C., HOFMANN, U., KLOTZ, U. Disposition and first-pass metabolism of ethanol in humans: is it gastric or hepatic and does it depend on gender? **Clin. Pharmacol. Ther.**, Saint Louis, v.59, p.5303-5313, 1996.

BARAONA, E., ABITTAN, C.S., DOHMEN, K., MORETTI, M., POZZATO, G., CHAYES, Z.W., SCHAEFER, C., LIEBER, C.S. Gender differences in pharmacokinetics of alcohol. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.25, n.4, p.502-507, 2001.

BASELT, R.C. Disposition of alcohol in man. In: GARRIOT, J.C., ed. **Medicolegal aspects of alcohol**. Tucson: Lawyers & Judges, 1996. cap.3, p.65-78.

BRESLIN, F.C., KAPUR, B.M., SOBELL, M.B., CAPPELL, H. Gender and alcohol dosing: a procedure for producing comparable breath alcohol curves for men and women. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.21, n.5, p.928-930, 1997.

BRESLIN, F.C., SOBELL, S.L. Alcohol administration methodology 1994-1995: what researchers do and do not report about subjects and dosing procedures. **Addict. Behav.**, Oxford, v.24, n.4, p.509-520, 1999.

* De acordo com a norma NBR6023/2000 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 1997.

- BRICK, J., NATHAN, P.E., WESTRICK, E., FRANKENSTEIN, W., SHAPIRO, A. The effect of menstrual cycle on blood alcohol levels and behavior. **J. Stud. Alcohol**, New Brunswick, v.47, n.6, p.472-477, 1986.
- COLE-HARDING, S., WILSON, J.R. Ethanol metabolism in men and women. **J. Stud. Alcohol**, New Brunswick, v.48, n.4, p.380-387, 1987.
- CORRÊA, C.L. Validação da urina para análise toxicológica de etanol em "programas de controle de prevenção do uso de álcool e drogas no local de trabalho". São Paulo, 1997. 99p. (Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).
- CORRÊA, C.L., PEDROSO, R.C. Estabilidade e conservação do etanol em amostras de urina. **Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo**, São Paulo, v.33, n.2, p.107-110, 1997a.
- CORRÊA, C.L., PEDROSO, R.C. Headspace gas chromatography with capillary column for urine alcohol determination. **J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.**, Amsterdam, v.704, p.365-368, 1997b.
- COWAN, J.M., WEATHERMON, A., McCUTCHEON, J.R., OLIVER, R.D. Determination of volume of distribution for ethanol in male and female subjects. **J. Anal. Toxicol.**, Niles, v.20, p.287-290, 1996.
- CRIPPENS, D., WHITE, M.L., GEORGE, M.A., JAWORSKI, J.N., BRUNNER, L.J., LANCASTER, F.E., GONZALES, R.A. Gender differences in blood levels, but not brain levels, of ethanol in rats. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.23, n.3, p.414-420, 1999.
- DAVIES, B.T., BOWEN, C.K. Total body water and peak alcohol concentration: a comparative study of young, middle-age and older

females. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.23, n.6, p.969-975, 1999.

DAWSON, D.A., ARCHER, L. Gender differences in alcohol consumption: effect of measurement. **Br. J. Addiction**, v.87, p.119-123, 1992.

ECKARDT, M.J., FILE, S.E., GESSA, G.L., GRANT, K.A., GUERRI, C., HOFFMAN, P.L., KALANT, H., KOOB, G.F., LI, T.K., TABAKOFF, B. Effects of moderate alcohol consumption on the central nervous system. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.22, n.5, p.998-1040, 1998.

ELY, M., HARDY, R., LONGFORD, N.T., WADSWORTH, J. Gender differences in the relationship between alcohol consumption and drink problems are largely accounted for by body water. **Alcohol Alcohol.**, Oxford, v.34, n.6, p.894-902, 1999.

FLETCHER, C.V., ACOSTA, E.P., STRYKOWSKI, J.M. Gender differences in human pharmacokinetics and pharmacodynamics. **J. Adolesc. Health**, New York, v.15, p.619-629, 1994.

FRASER, A.G., ROSALKI, S.B., GAMBLE, G.D., POUNDER, R.E. Inter-individual and intra-individual variability of ethanol concentration-time profiles: comparison of ethanol ingestion before or after an evening meal. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, Oxford, v.40, p.387-392, 1995.

FREZZA, M., PADOVA, C., POZZATO, G., TERPIN, M., BARAONA, E., LIEBER, C.S. High blood alcohol levels in women. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.322, n.2, p.95-99, 1990.

- FUKUNAGA, T., SILLANAUKEE, P., ERIKSSON, C.J. Occurrence of blood acetaldehyde in women during ethanol intoxication: preliminary findings. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.17, n.6, p.1198-1200, 1993.
- GARTNER, U., SCHMIER, M., BOGUSZ, M., SEITZ, H.K. Blood ethanol concentrations following oral ethanol ingestion – influence of age and gender. **Z. Gastroenterol.**, v.34, p.675-679, 1996.
- GENTRY, R.T. Effect of food on the pharmacokinetics of alcohol absorption. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.24, n.4, p.403-404, 2000.
- GILL, J. Women, alcohol and menstrual cycle. **Alcohol Alcohol.**, Oxford, v.32, n.4, p.435-441, 1997.
- GRANT, B.F. Prevalence and correlates of alcohol use and DSM-IV alcohol dependence in the United States: results of the National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey. **J. Stud. Alcohol**, New Brunswick, v.58, n.5, p.464-473, 1997.
- GREEN, K.L., SZELIGA, K.T., BOWEN, C.A., KAUTZ, M.A., AZAROV, A.V., GRANT, K.A. Comparison of ethanol metabolism in male and female cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.23, n.4, p.611-616, 1999.
- GULLBERG, R.G., JONES, A.W. Guidelines for estimating the amount of alcohol consumed from a single measurement of blood alcohol concentration: re-evaluation of Widmark's equation. **Forensic Sci. Int.**, Shannon, v.69, p.119-130, 1994.
- GUYTON, A.C. **Fisiologia humana e mecanismos das doenças**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1989. p.524-532.

HADDAD, L., MILKE, P., ZAPATA, L., FUENTE, J.R., VARGAS-VORÁCKOVÁ, F., LORENZANA-JIMÉNEZ, M., CORTE, G., TAMAYO, J., KAPLAN, M., MÁRQUEZ, M., KERSHENOBICH, D. Effect of menstrual cycle in ethanol pharmacokinetics. **J. Appl. Toxicol.**, Bognor Regis, v.18, n.1, p.15-18, 1998.

HAHN, R.G., NORBERG, A., JONES, A.W. Overshoot of ethanol in the blood after drinking on an empty stomach. **Alcohol Alcohol.**, Oxford, v.32, n.4, p.501-505, 1997.

HAY, W.M., NATHAN, P.E., HEERMANS, H.W., FRANKENSTEIN, W. Menstrual cycle, tolerance and blood alcohol levels discrimination ability. **Addict. Behav.**, Oxford, v.9, p.67-77, 1984.

HOBBS, W.R., RALL, T.W., VERDOORN, T.A. Hypnotics and sedatives: ethanol. In: HARDMAN, J.G., LIMBIRD, L.E., eds. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 9.ed. New York: McGraw Hill, 1996. p.386-390.

HOCHGRAF, P.B. **Alcoolismo feminino: comparação das características sócio-demográficas e padrão de evolução entre homens e mulheres alcoolistas**. São Paulo, 1995. 108p. (Tese de doutorado – Faculdade de Medicina –USP).

HOCHGRAF, P.B., ZILBERMAN, M.L., ANDRADE A.G. Women alcoholics: social, demographic and clinical characteristics in a Brazilian sample. **Alcohol Alcohol.**, Oxford, v.30, n.4, p.427-432, 1995.

HOLDSTOCK, L., WIT, H. Effects of ethanol at four phases of the menstrual cycle. **Psychopharmacology**, Berlin, v.150, p.374-382, 2000.

- JEAVONS, C.M., ZEINER, A.R. Effects of elevated female sex steroids on ethanol and acetaldehyde metabolism in humans. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.8, p.352-358, 1984.
- JONES, A.W. Disappearance rate of ethanol from the blood of human subjects: implications in forensic toxicology. **J. Forensic Sci.**, West Conshohocken, v.38, n.1, p.104-118, 1993.
- JONES, A.W., JÖNSSON, K.A. Food-induced lowering of blood-ethanol profiles and increased rate of elimination immediately after a meal. **J. Forensic Sci.**, West Conshohocken, v.39, n.4, p.1084-1093, 1994.
- JONES, A.W., ANDERSSON, L. Influence of age, gender, and blood-alcohol concentration on the disappearance rate of alcohol from blood in drinking drivers. **J. Forensic Sci.**, West Conshohocken, v.41, n.6, p.922-926, 1996.
- JONES, A.W., HAHN, R.G. Pharmacokinetics of ethanol in patients with renal failure before and after hemodialysis. **Forensic Sci. Int.**, Shannon, v.90, p.175-183, 1997.
- JONES, A.W., POUNDER, D.J. Alcohol. In: KARCH, M.D., ed. **Handbook of drug abuse**. Boca Raton: CRC Press, 1998. cap.5, p.307-394.
- JONES, A.W. Aspects of *in-vivo* pharmacokinetics of ethanol. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.24, n.4, p.400-402, 2000.
- JONES, B.M., JONES, M.K. Alcohol effects in women during the menstrual cycle. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, New York, v.273, p.576-587, 1976.

- JONES, M.K., JONES, B.M. Ethanol metabolism in women taking oral contraceptives. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.8, n.1, p.24-28, 1984.
- LAMMERS, S.M.M., MAINZER, D.E.H., BRETELER, M.H.M. Do alcohol pharmacokinetics in women vary due to the menstrual cycle? **Addiction**, London, v.90, p.23-30, 1995.
- LEVITT, M.D., LEVITT, D.G. Use of a two-compartment model to assess the pharmacokinetics of human ethanol metabolism. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.22, n.8, p.1680-1688, 1998.
- LI, T.K., BEARD, J.D., ORR, W.E., KWO, P.Y., RAMCHANDANI, V.A., THOMASSON, H.R. Variation in ethanol pharmacokinetics and perceived gender and ethnic differences in alcohol elimination. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.24, n.4, p.415-416, 2000.
- LIEBER, C.S. Ethnic and gender differences in ethanol metabolism. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.24, n.4, p.417-418, 2000.
- LUCEY, M.R., HILL, E.M., YOUNG, J., DEMO-DANANBERG, L., BERESFORD, T.P. The influence of age and gender on blood ethanol concentrations in health humans. **J. Stud. Alcohol**, New Brunswick, v.60, p.103-110, 1999.
- MACCHIA, T., MANCINELLI, R., GENTILI, S., LUGARESI, E.C., RAPONI, A., TAGGI, F. Ethanol in biological fluids: headspace GC measurement. **J. Anal. Toxicol.**, Niles, v.19, p.241-246, 1995.
- McGANN, K.P., SPANGLER, J.G. Alcohol, tobacco, and illicit drug use among women. **Primary Care**, v.24, n.1, p.113-121, 1997.

- MISHRA, L., SHARMA, S., POTTER, J.J., MEZEY, E. More rapid elimination of alcohol in women as compared to the male siblings. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.13, n.6, p.752-754, 1989.
- MUMENTHALER, M.S., TAYLOR, J.L., O'HARA, R., FISCH, H.U., YASAVAGE, J.A. Effects of menstrual cycle and female sex steroids on ethanol pharmacokinetics. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.23, n.2, p.250-255, 1999.
- MUMENTHALER, M.S., TAYLOR, J.L., O'HARA, R., YASAVAGE, J.A. Gender differences in moderate drinking effects. **Alcohol Res. Health**, v.23, n.1, p.55-64, 1999.
- MUMENTHALER, M.S., TAYLOR, J.L., YASAVAGE, J.A. Ethanol pharmacokinetics in white women: nonlinear model fitting versus zero-order elimination analyses. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.24, n.9, p.1353-1362, 2000.
- NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM. Are women more vulnerable to alcohol's effects? **Alcohol Alert**, n.46, 1999. [Online]. Available: <http://www.niaaa.nih.gov/publications/aa46.htm> [July 11, 2001].
- NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM. Alcohol and women. **Alcohol Alert**, n.10, 1990. [Online]. Available: <http://www.niaaa.nih.gov/publications/aa10.htm> [July 11, 2001].
- ÖZDEMİR, V., FOURIE, J., BUSTO, U., NARANJO, C.A. Pharmacokinetic changes in the elderly. **Clin. Pharmacokinet.**, Auckland, v.31, n.5, p.272-385, 1996.

- PARKINSON, A. Biotransformation of xenobiotics. In: KLASSEN, C.D., AMDUR, M.O., DOULL, J., eds. **Casarett & Doull's toxicology: the basis science of poisons**. 5.ed. New York: McGraw-Hill, 1996. cap.6, p.113-186.
- RUMACK, B.H., HESS, A.J., GELMAN, C.R. Ethanol. **MICROMEDEX Poisindex® System**. [CD-ROM]. Colorado: Thomson Healthcare, 2000.
- SEITZ, H.K., EGERER, G., SIMANOWSKI, U.A., WALDHERR, R., ECKEY, R., AGARWAL, D.P., GOEDDE, H.W., WARTBURG, J.P. Human gastric alcohol dehydrogenase activity: effect of age, sex and alcoholism. **Gut**, London, v.34, p.1433-1437, 1993.
- STUCKER, P.B., GOIST, K.C., ALLAIN, A.N., BUG, F. Acute alcohol intoxication: sex comparisons on pharmacokinetic and mood measures. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.11, n.6, p.507-512, 1987a.
- STUCKER, P.B., GOIST, K.C., KING, A.R. Acute alcohol intoxication in women: relationship to dose and menstrual cycle phase. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.11, n.1, p.74-79, 1987b.
- TAGLIARO, F., LUBLI, G. Chromatographic methods for blood alcohol determination. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.580, p.161-190, 1992.
- THOMASSON, H., BEARD, J.D., LI, T.K. ADH2 gene polymorphisms are determinants of alcohol pharmacokinetics. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.19, n.6, p.1494-1499, 1995.
- THOMASSON, H. Alcohol elimination: faster in women? **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.24, n.4, p.419-420, 2000.

- TUNG, T.C., DEMETRIO, F.N., ANDRADE, A.G. Alcoolismo na mulher e a síndrome pré-menstrual: existem associações? **Rev. Psiquiatr. Clin.**, São Paulo, v.27, n.1, p.10-15, 2000.
- VAUBOURDOLLE, M., GUECHOT, J., CHAZOUILLERES, O., POUPON, R.E., GIBOUDEAU, J. Effect of dihydrotestosterone on the rate of ethanol elimination in health men. **Alcohol.: Clin. Exp. Res.**, Baltimore, v.15, n.2, p.238-240, 1991.
- WANG, M.Q.I., NICHOLSON, M.E., JONES, C.S., FITZHUGH, E.C., WESTERFIELD, C.R. Acute alcohol intoxication, body composition, and pharmacokinetics. **Pharmacol., Biochem. Behav.**, New York, v.43, p.641-643, 1992.
- WATSON, P.E., WATSON, I.D., BATT, R.D. Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.33, p.27-39, 1980.
- WATTS, M.T., McDONALDS, O.L. The effect of biologic specimen type on the gas chromatography headspace analysis of ethanol and other volatile compounds. **Am. J. Clin. Pathol.**, Chicago, v.87, p.79-85, 1987.
- WEDEL, M., PIETERS, J.E., PIKAAR, N.A., OCKHUIZEN, T. Application of a three-compartment model to a study of the effects of sex, alcohol dose and concentration, exercise and food consumption on the pharmacokinetics of ethanol in healthy volunteers. **Alcohol Alcohol.**, Oxford, v.26, n.3, p.329-336, 1991.
- YORK, J.L., WELTE, J.W. Gender comparisons of alcohol consumption in alcoholic and nonalcoholic populations. **J. Stud. Alcohol**, New Brunswick, v.55, p.743-750, 1994.

Anexos

VOLUNTÁRIOS e VOLUNTÁRIAS

para participar em **projeto de pesquisa** sobre álcool e influência do sexo masculino e feminino

- Selecciona-se:
 - homens e mulheres saudáveis;
 - idade entre 18 e 35 anos;
- Para se inscrever ou obter maiores informações ligue para:
 - 90199744256 - Pesquisador responsável (correa.idt@zaz.com.br)
 - 0XX11-8182197 - Toxicologia -FCF -USP

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

I. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

1. Nome do paciente:

.....

Documento de identidade Nº: Sexo: ☐ M ☐ F

Data de nascimento:/...../.....

Endereço: Nº:

Apto:.....

Bairro:..... Cidade:.....

CEP: Telefone:.....

II. DADOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do protocolo de pesquisa: "Influência do sexo na cinética do etanol e implicações toxicológicas"

2. Pesquisador: Cristiana Leslie Corrêa

Cargo/função: Doutoranda Inscrição Conselho Regional No: 18233

Departamento da FCF/USP: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

3. Avaliação do risco da pesquisa

Sem risco ☐ Risco mínimo ☐ Risco baixo ☐ Risco médio ☐ Risco maior ☐

(Probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. Duração da pesquisa: A duração do estudo será de 1 dia, com exceção do grupo de voluntários do sexo feminino, que não fazem uso de anticoncepcional oral, que será de 2 dias não consecutivos.

III. REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. O propósito deste estudo é investigar a relação existente entre a farmacocinética do etanol e o sexo (masculino e feminino), incluindo as duas principais fases do ciclo menstrual (fase lútea e folicular). Isto visa identificar as possíveis diferenças entre os gêneros e as conseqüências na utilização de diferentes fluidos biológicos na análise toxicológica do etanol com finalidade forense e/ou visando os programas de controle e prevenção do uso de álcool e drogas no ambiente de trabalho;
2. Que os voluntários do sexo feminino deverão fazer uso de métodos contraceptivos mecânicos (Ex. camisinha) pelo menos 1 mês antes do experimento e durante o mesmo, no caso do grupo de mulheres onde a duração do estudo será de 2 dias não consecutivos.
3. Que serão administrados, na forma de uísque gelado, 0,30 g de etanol/kg de peso corpóreo, em dose única, ingeridos num prazo de 10 minutos. Isto equivale a aproximadamente 45 ml de uísque (45%) para um indivíduo de 70 kg;
4. Que os voluntários devem estar em jejum por pelo menos 3 horas antes do início do experimento e absterem-se de bebidas alcoólicas por 30 horas;
5. Que será coletado sangue e urina durante período de 8 horas após ingestão do uísque, sendo que a coleta de sangue será realizada com o auxílio de scalp;
6. Que será feito o teste do bafômetro, posteriormente à coleta do sangue;
7. Que os voluntários não devem fazer uso de alguns medicamentos, principalmente os que contêm como princípio ativo fenilbutazona, clorpromazina, ácido etacrínico, benzodiazepínicos e barbitúricos, e se o fizerem devem comunicar imediatamente o pesquisador responsável;
8. Que durante a coleta haverá o acompanhamento de uma enfermeira, da farmácia responsável pelo laboratório onde será realizada a pesquisa e do pesquisador responsável;
9. O estudo apresenta poucos riscos para o voluntário, visto que este deverá ingerir uma dose pequena e única de etanol, na forma de uísque. Os efeitos agudos que o voluntário poderá apresentar variam de nenhuma influência aparente até leve euforia, diminuição da atenção e

decréscimo das inibições. Os benefícios se relacionam com os conhecimentos a serem adquiridos no esclarecimento da ampla diferença individual na injúria produzida pelo consumo de álcool e no desenvolvimento do alcoolismo.

10. A coleta de sangue pode oferecer alguns riscos para o voluntário, como o aparecimento de hematoma, edema e desconforto no local da introdução do scalp. Nos casos onde não há uma técnica asséptica rígida (utilização de um antisséptico iodado; uso de luvas descartáveis por parte da pessoa que coletará o sangue, etc) pode haver o aparecimento de infecção, principalmente porque o scalp ficará no local por 5 horas.

IV. ESCLARECIMENTO DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para eventuais dúvidas.
2. Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. Da indenização por parte do patrocinador por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

1. CRISTIANA LESLIE CORRÊA – Farmacêutica responsável (CRF 18233)
Rua Nicarágua, 253 – Pq. Boa Esperança – Indaiatuba – S.P.
0XX19 875 2848 / 0XX19 974 4256
2. FERNANDA MENDES DE CARVALHO LIVANI – Médica responsável (CRM 93795)
Rua Camargo Paes, 280 – J. Guanabara – Campinas – S.P.

0XX19 212 0021 / 0XX19 294 5376

VI. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

PUC
CAMPINAS
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Campinas, 05 de outubro de 1999

Ref. Influência do Gênero na cinética do etanol e implicações legais

Prezada Senhora

Em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos para a Área da Saúde da PUCCAMP (C.E.P.S.H.A.S.P), no dia 05 de outubro de 1999 avaliou-se o projeto de pesquisa **Influência do Gênero na cinética do etanol e implicações legais**, de sua autoria a ser nesta Unidade.

Dessa forma, e considerando a Resolução no. 196/96 item VII.13.b, que **define as atribuições dos CEPs e classifica os pareceres emitidos aos projetos de pesquisa envolvendo seres humanos** emitiu-se o seguinte parecer para o presente projeto:

Aprovado,

Considerando-se que as alterações efetuadas contempalm o sugerido em reunião de 14/09/99.

Sendo só o que nos cumpre informar, aproveitamos da oportunidade para renovar votos de estima e consideração.

Atenciosamente.

PROFA. DRA. MARIA LUIZA CRUZ
Coordenadora do C.E.P.S.H.A.S.P
PUCCAMP

Ilustríssima Senhora
Profa. Cristiane Leslie Correa
Curso de Ciências Farmacêuticas

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA**I. Informação geral**

Nome: _____

Endereço: _____

1. Idade: _____ anos 2. Peso: _____ kg 3. Altura: _____ cm

4. Estado civil: _____

5. Profissão: _____

6. Você tem ou está com alguma doença?

a. Sim b. Não —————> passe para o nº 8

7. Qual doença você tem?

8. Você precisa tomar algum remédio todos os dias?

a. Sim b. Não —————> passe para o nº 10

9. Quais remédios toma?

10. Você toma cerveja, pinga ou outra bebida alcoólica?

a. Sim b. Não —————> passe para a nº 12

11. Com que frequência?

a. Esporadicamente

b. 1 vez por mês

c. 1 vez a cada duas semanas

d. 1 vez por semana

e. 1 vez a cada 4-5 dias

f. 1 vez a cada 2-3 dias

g. Todos os dias

12. Você tem casos de alcoolismo na família?

a. Sim b. Não —————> passe para a nº 14

13. Qual o grau de parentesco?

a. _____

b. _____

c. _____

14. Você fuma?

a. Sim b. Não —————> passe para a nº16

15. Quantos cigarros você fuma por dia?

a. Menos de 10 cigarros

b. De 10 a 20 cigarros

c. De 20 a 50 cigarros

d. Mais de 50 cigarros

16. Você já teve hepatite ou alguma doença renal?

a. Sim b. Não

II. História Gineco-obstétrica

17. Você tem filhos?

a. Sim b. Não —————> passe para a nº 19

18. Quantos? _____

19. Qual foi a data da última menstruação? ____ / ____ / ____

20. Qual foi a duração da última menstruação? _____ dias

21. Qual a duração do seu ciclo menstrual? _____

22. Qual anticoncepcional oral você utiliza? _____

23. Há quanto tempo? _____

24. Já utilizou outros A.O.? _____

25. Você faz o controle de temperatura diária? _____

26. Há quanto tempo? _____

III. Exame médico

27. Sinais e sintomas

<i>Sintomas e sinais</i>	<i>Sim</i>	<i>Não</i>	<i>Especifique</i>
Mal estar geral			
Fadiga			
Fraqueza			
Cefaléia			
Tonturas			
Náuseas			
Vômitos			
Diarréia			
Diminuição do apetite			
Dor abdominal			
Dor torácica			
Dispnéia			
Tosse			
Disúria			
Poliúria			
Oligúria			
Cólicas menstruais			
Ansiedade			
Excitabilidade			
Insônia			
Confusão			
Depressão			
Irritabilidade			
Dificuldade de concentração			
Tremores			
Dor nas pernas			
Dor nos braços			
Parestesias extremidades inferiores			
Parestesias extremidades superiores			
Cãibras			
Perda de sensibilidade			
Outros			

Exame físico

<i>Exame físico</i>	<i>Sim</i>	<i>Não</i>	<i>Especifique</i>
Pressão arterial normal			
Frequência cardíaca			
Cabeça normal			
Pescoço Normal			
Coração Normal			
Pulmões normais			
Fígado normal			
Pele normal			
Membros normais			

Observações:

Data: ____/____/____

TEMPERATURA BASAL

Instruções:

Para registrar a temperatura:

- Preencha seu nome e mês que vai ser feito o controle;
- Preencha o dia do mês correspondente aos dias do ciclo a partir do dia controle;
- Assinale com um X nas linhas apropriadas os dias de menstruação;
- Assinale com um X na linha correspondente a cada dia, a temperatura que foi medida;
- Continue com este procedimento até o final do ciclo;
- Registre na coluna ocorrências, no dia correspondente, eventuais doenças, mal estar (febre, gripe, infecção, etc.) e o uso de medicamentos (antibióticos, analgésicos, antipiréticos, etc.)
- Use um gráfico para cada ciclo.

Para medir a temperatura:

- Usar todos os dias o mesmo termômetro (salvo se quebrar);
- Usar a via bucal;
- Manter o termômetro na boca durante 5 minutos;
- Medir a temperatura pela manhã ao acordar, antes de se levantar ou exercer qualquer atividade física (ex. tomar café, levantar para ir ao banheiro, manter relação sexual, etc.)
- Ao deitar, assegure-se de que o termômetro esteja ao seu alcance na manhã seguinte, pronto para ser utilizado.

ANEXO 6. Informações dos anticoncepcionais orais utilizados pelas voluntárias durante o experimento.

Nome	Laboratório	Composição por drágea
Diane®	<i>Schering</i>	2 mg de acetato de ciproterona 0,035 mg de etinilestradiol
Diminut®	<i>Libbs</i>	0,075 mg de gestodeno 0,02 mg de etinilestradiol
Femiane®	<i>Schering</i>	0,075 mg de gestodeno 0,02 mg de etinilestradiol
Femina®	<i>Aché</i>	0,075 mg desogestrel 0,02 mg de etinilestradiol
Gynera®	<i>Schering</i>	0,075 mg de gestodeno 0,030 mg de etinilestradiol
Harmonet®	<i>Wyeth</i>	0,075 mg de gestodeno 0,02 mg de etinilestradiol
Mercilon®	<i>Organon</i>	0,15 mg desogestrel 0,02 mg de etinilestradiol
Microdiol®	<i>Organon</i>	0,15 mg de desogestrel 0,03 mg de etinilestradiol
Minulet®	<i>Wyeth</i>	0,075 mg de gestodene 0,03 mg de etinilestradiol