

ANÁLISE HISTOMORFOLÓGICA DO FÍGADO MATERNO E FETAL DE RATAS PRENHES DESNUTRIDAS SUBMETIDAS À EXPOSIÇÃO AO ETANOL

MATERNAL AND FETAL LIVER HISTOMORPHOLOGICAL ANALYSIS OF MALNOURISHED PREGNANT RATS SUBMITTED TO EXPOSURE TO ETHANOL

Juliana Almeida Domingues¹, Mércia Tancredo Toledo², Suzana Guimarães Moraes³

RESUMO

Este projeto teve por objetivo analisar histologicamente o fígado de ratas Wistar prenhes e de sua prole, tratadas com etanol e submetidas a uma dieta hipoprotéica semipurificada (6% proteína) utilizada como modelo de desnutrição protéico calórica e normoprotéica semipurificada (18% proteína). Utilizaram-se ao todo 15 (quinze) ratas prenhes, que foram divididas em cinco grupos, sendo um grupo controle, um tratado com ração normoprotéica e gavagem com água destilada, um grupo também tratado com ração normoprotéica e gavagem com etanol, um grupo tratado com ração hipoprotéica e água destilada e um grupo tratado com ração hipoprotéica e etanol. O etanol e a água destilada foram administrados do 11º ao 16º dia de gestação, utilizou-se álcool etílico absoluto P.A. 3 g/Kg de peso corporal em água destilada. Os animais foram sacrificados no 21º dia de gestação, no qual o fígado fetal e o materno foram dissecados e submersos em formol 10% (materno) e Bouin (fetal) para respectiva análise histológica. Nos grupos tratados com etanol, tanto o desnutrido quanto o nutrido, e o desnutrido tratado com água, observaram-se alterações histológicas nos fígados maternos. Entre os fetos não houve alterações histológicas no fígado, mas observou-se alteração no peso e comprimento crânio-caudal nos grupos desnutridos ($p < 0,001$). Neste trabalho demonstrou-se que a associação entre o etanol e a desnutrição interferiu significativamente no peso e comprimento dos fetos e provocou alterações histológicas no fígado materno.

Descritores: álcool, desnutrição, gestação, fígado, Síndrome Alcoólica Fetal.

ABSTRACT

This project aims to evaluate histologically the liver of pregnant Wistar rats and their offspring, treated with ethanol and subjected to a semipurified low-protein diet (6% protein), used as model of protein caloric malnutrition and semipurified normoprotein (18%). Fifteen pregnant rats were used in total and divided into five groups: one control group treated with a normal protein diet and gavage with distilled water, a group also treated with normal protein diet and gavage with ethanol, a group treated with low protein diet and distilled water and a group treated with low protein diet and ethanol. Ethanol and distilled water were administered from the 11th to 16th day of gestation, absolute ethanol PA 3 g/kg of body weight was diluted in distilled water. The animals were sacrificed on day 21 of gestation, in which the maternal and fetal liver were dissected and submerged in formaldehyde 10% (maternal) and Bouin (fetal) to their histological analysis. In groups treated with ethanol, both the malnourished and nourished, and malnourished treated with water, we observed histological changes in maternal livers. Among fetuses, there were no histological changes in liver, but there were

changes in weight and cranio-caudal length in the malnourished group ($p < 0.001$). This study demonstrated that the association between ethanol and malnutrition interfered significantly in weight and length of fetuses and caused histological alterations in maternal liver.

Key-words: alcohol, malnutrition, pregnancy, liver, Fetal Alcohol Syndrome.

INTRODUÇÃO

O álcool é uma das drogas mais utilizadas de forma abusiva.¹ O consumo do álcool parece ser um dos hábitos sociais mais antigos e disseminados entre as populações. Está associado a ritos religiosos e lhe é atribuída uma variedade de efeitos, tais como calmante, afrodisíaco, estimulante do apetite, euforia e outros. Há relatos do uso de álcool desde a Pré-história.²

O consumo de álcool é considerado atualmente como um grave problema de saúde pública, merecendo atenção especial o consumo de álcool pelas gestantes.³ Estima-se que aproximadamente 20% das mulheres façam uso de álcool durante a gravidez.⁴

O álcool pode interferir na morfogênese de vários órgãos e levar às alterações físicas, cognitivas e comportamentais permanentes e irreversíveis.⁵

A Síndrome Alcoólica Fetal (SAF) é considerada um quadro patológico que reflete manifestações máximas do abuso de álcool durante a gestação. Está estimada em aproximadamente 2,84,6/1000 nascimentos ao ano nos Estados Unidos. Esta prevalência sobe para 9,1/1000 se forem adicionados os casos de crianças com transtorno do desenvolvimento neurológico relacionado com o álcool,⁶ caracterizando um quadro incompleto denominado Efeitos do Álcool no Feto (EFA).⁷ O nível mínimo de etanol que resulta em SAF ou EAF ainda não foi estabelecido.⁸

A severidade da SAF advém da combinação da ingestão de álcool pela mãe e fatores de risco, tais como quantidade e frequência de consumo de álcool pela gestante, período da gestação em que a mãe ingeriu a substância, idade materna e aspectos genéticos, nutricionais e físicos.⁹

Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba, v. 11, n. 3, p. 9-17, 2009

1 - Ex-aluna do curso de Ciências Biológicas - PUC-SP

2 - Professora do Depto. de Ciências Fisiológicas - PUC-SP

3 - Professora do Depto. de Morfologia e Patologia - PUC-SP

Recebido em 2/4/2009. Aceito para publicação em 4/9/2009.

Contato:

Rua Sevilha, 326 Vila Hortência

18.020-236 Sorocaba/SP

Tel.: (15) 3233-2561 / (15) 9135-7383

E-mail: julianaalmeida25@hotmail.com

Vários estudos admitem que mesmo a exposição pré-natal a baixos níveis de álcool pode afetar negativamente o desenvolvimento fetal.¹⁰ Não se pode afirmar qual o nível de segurança da ingestão de álcool durante a gestação que impeça modificações significativas no desenvolvimento feto/placentário. Devido a este fato, recomenda-se abstinência a mulheres tanto no período gestacional quanto naquelas que desejem a concepção, pois os efeitos parecem ser maiores nas fases iniciais do desenvolvimento embrionário.⁵

O etanol atravessa livremente a barreira placentária e se distribui pelo líquido amniótico, atingindo os tecidos fetais.¹¹ A difusão passiva do álcool ocorre por gradiente de concentração de tal maneira que os níveis materno e fetal são similares até que todo o etanol seja metabolizado.¹² No entanto, a exposição fetal é muito maior, pois o metabolismo e a eliminação são processos mais lentos, fazendo com que o líquido amniótico permaneça impregnado de álcool não modificado (etanol) e acetaldeído (metabólito do etanol).¹³ O etanol induz a formação de radicais livres de oxigênio que são capazes de danificar proteínas e lipídeos celulares, aumentando a apoptose e prejudicando a organogênese.¹⁴

O álcool promove a má absorção, agrava a anorexia, estimula o hipermetabolismo, o estresse oxidativo e maior excreção urinária de micronutrientes hidrossolúveis. Como consequência, desenvolvem-se anemia, esteatose hepática, pelagra, aterosclerose e imunossupressão. Assim, o álcool pode ser causa tanto de desnutrição primária, pelo fato de deslocar os nutrientes da dieta, como de desnutrição secundária, por ser responsável pela má absorção e agressão celular decorrentes de sua citotoxicidade direta.¹⁵

Entretanto, a deficiência nutricional associada ao etanol pode ser decorrente da reduzida absorção de nutrientes causada pela ação tóxica do etanol sobre o epitélio intestinal ou, ainda, ser resultado da desnutrição *in utero* (determinada pelo reduzido aporte de nutrientes), sendo agravada no recém-nascido pela modificação no metabolismo dos nutrientes absorvidos em razão das alterações hepáticas que desencadeia.¹⁶

Uma das hipóteses levantadas para explicar como a desnutrição protéica associada com o álcool interfere no metabolismo do fígado seria que com a falta de proteínas ocorre diminuição da atividade da enzima álcool-desidrogenase, principal enzima envolvida na degradação do etanol. Consequentemente, a eliminação deste é retardada, expondo, portanto, os órgãos-alvo por mais tempo a níveis mais elevados de etanol.¹⁷

Estudos prévios demonstraram que a associação do uso de etanol com desnutrição em animais experimentais interfere, acentuadamente, no desenvolvimento perinatal do fígado de ratos, promovendo alterações histomorfológicas mais significativas na população das células hepáticas.¹⁸ Em outros estudos, onde se analisou histologicamente o fígado de crianças que apresentavam SAF, observou-se fibrose hepática que se localizava próximo à veia centro lobular e espaço porta, apresentando-se iguais as patologias encontradas no fígado de adultos alcoólatras.¹⁹

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Neste estudo foram utilizadas quinze (15) ratas Wistar prenhes, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Médicas e da Saúde, Sorocaba (PUC-SP). Os animais tinham entre três a cinco meses de idade e foram acondicionados em gaiolas mantidas em ambiente de temperatura controlada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e expostos à luz por um período diário de 12 horas (7 h - 19 h).

Acasalamento

As fêmeas foram colocadas junto aos machos da mesma linhagem e a cada manhã era observada a presença de espermatozoides em esfregaço vaginal. Neste caso, este dia era considerado o primeiro dia de prenhez.

Administração do álcool

As fêmeas prenhes foram divididas em cinco grupos. A administração do álcool ou da água destilada em cada grupo foi feita do 11º ao 16º dia de gestação.

Grupo 1

Administração de álcool etílico absoluto P.A. 3 g/Kg de peso corporal em água destilada, via oral, através de gavagem intragástrica; volume final igual a 3,8 ml, e ração normoprotéica contendo 18% de proteína.

Grupo 2

Administração de água destilada, via oral, através de gavagem intragástrica; volume final igual a 3,8 ml, e ração normoprotéica contendo 18% de proteína.

Grupo 3

Administração de álcool etílico absoluto P.A. 3 g/Kg de peso corporal em água destilada, via oral, através de gavagem intragástrica; volume final igual a 3,8 ml, e ração hipoprotéica contendo 6% de proteína.

Grupo 4

Administração de água destilada, via oral, através de gavagem intragástrica; volume final igual a 3,8 ml, e ração hipoprotéica contendo 6% de proteína.

Grupo 5

Controle; não recebeu nenhuma solução.

A dieta semipurificada *ad libitum* contendo 18% (normoprotéica) ou 6% (hipoprotéica) de proteína que os animais receberam foram preparadas no Laboratório de Nutrição e Câncer, Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

O alimento foi oferecido às ratas prenhes em forma de pellets e ficaram armazenadas em geladeira no biotério, porém o consumo alimentar diário não foi medido nos grupos. A composição das dietas encontra-se na tabela 1.

Tabela 1. Composição das dietas (g/Kg)

DIETA 18%	1 Kg*	DIETA 6%	1Kg**
Amido	397,5	Amido	480,0
Caseína	200	Caseína	71,5
Dextrina	132	Dextrina	159
Açúcar	100	Açúcar	121
Fibra celulose	50	Fibra celulose	50
Mistura de sais	35	Mistura de sais	35
Mistura de vitaminas	10	Mistura de vitaminas	10
Cistina	3	Cistina	3
Colina	2,5	Colina	2,5
Óleo de soja	70	Óleo de soja	70

* Dieta padrão para roedores de biotério - AIN-93G. Fonte: Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76. A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(3):1939-51.

** Padronizada no Lab. de Nutrição e Câncer, Depto. de Fisiologia e Biofísica - UNICAMP/Campinas.

Coleta dos fetos

As ratas prenhes foram sacrificadas com a administração intraperitoneal do anestésico hidrato de cloral no 21º dia de gestação. O útero dissecado foi transferido para uma placa de vidro. O conteúdo uterino foi avaliado, contabilizando-se o número de fetos vivos, mortos e reabsorvidos.

ANÁLISE DAS RATAS PRENHES

As ratas prenhes tiveram seus úteros dissecados e transferidos para uma placa de vidro, conforme procedimento supracitado. Então, seus fígados foram dissecados e imersos em solução fixadora formol 10%, permanecendo nesta por 48 horas.

ANÁLISE DOS FETOS

Os fetos íntegros foram pesados e o comprimento crânio-caudal medido, avaliando-se, assim, a possibilidade de restrição de crescimento intra-uterino. Em seguida, os fetos foram dissecados e seus fígados coletados e imersos em solução fixadora Bouin.

PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Os fígados das ratas e dos fetos foram processados convencionalmente, como mostrados na tabela 2.

Tabela 2. Processamento histológico

ETAPAS	FINALIDADES	DURAÇÃO
1. Fixação - em fixador simples Formol 10% (materno) e *Bouin (fetal)	Preservar a morfologia e a composição dos tecidos	48 horas (materno); 24 horas (fetal).
2. Desidratação - em álcool etílico de concentrações crescentes, começando com álcool a 70% e terminando com álcool absoluto.	Remover a água dos tecidos	40 minutos em cada álcool
3. Clareamento - diafanização em xilol	Embeber a peça em substância miscível com a parafina	1 hora
4. Impregnação - pela parafina, geralmente realizada em estufa a 60°C.	A parafina penetra nos vasos, nos espaços intercelulares e mesmo no interior das células, impregnando o tecido e tornando mais fácil a obtenção dos cortes no micrótomo.	30 minutos - parafina I e mais 30 minutos na parafina II
5. Inclusão - obtenção do bloco	Obtenção de cortes	

* O fixador utilizado inicialmente foi o formol 10%; ao analisar o fígado fetal observaram-se espaços vazios entre as células do tecido, então, optou-se por outro fixador, pois desconfiava-se que o material não havia sido fixado. O outro fixador utilizado foi o Bouin, que é o mais indicado para fixação da medula óssea; como o fígado fetal também é um órgão hematopoiético resolveu-se testar esse fixador, porém o resultado obtido foi o mesmo, então, usou-se apenas o Bouin para que se pudesse padronizar o experimento.

Após resfriamento, os blocos contendo os tecidos inclusos foram colocados em geladeira para o seu total resfriamento por aproximadamente uma hora. Estes foram retirados da geladeira somente na hora do seccionamento, feito com navalha descartável em micrótomo Leica RM 2245 a uma espessura de 4 µm. Então, os cortes foram estendidos em água quente 45 °C e coletados em lâmina. As lâminas foram colocadas em estufa a 56 °C por uma hora para se retirar o excesso de parafina e a sua total fixação na lâmina.

COLORAÇÕES

Hematoxilina e eosina

A coloração permite evidenciar o núcleo da célula que se cora pela hematoxilina em azul ou violeta e o citoplasma que se cora em cor-de-rosa (Junqueira e Carneiro, 2004).

Procedimento

O material foi diafanizado em xilol, desidratado em álcoois absolutos e água; corado com hematoxilina (15 minutos), lavado em água corrente e corado em eosina (um minuto).

Masson

A coloração permite evidenciar as fibras colágenas que se coram em azul, as outras estruturas se coram em vermelho.

Procedimento

O material foi desparafinado, hidratado e corado com hematoxilina de Harris por 30 minutos. Após foi lavado em água corrente, diferenciado em álcool ácido 1%, corado com fucsina ácida (Ponceau) por uma hora, lavado em água destilada, corado com azul de anilina até corar o controle, desidratado e diafanizado.

Perl's

A coloração permite evidenciar os pigmentos de íons

ferro no tecido que se coram em azul; o citoplasma se cora em vermelho.

Procedimento

O material foi desparafinado, hidratado, corado com ferrocianeto de potássio 5% (20 mL) misturado ao ácido clorídrico 5% (10 mL), então, esperou-se o controle corar em azul claro, após foi lavado em água destilada, corado com eosina (coloração de fundo) um minuto, desidratado e diafanizado.

ANÁLISE E DOCUMENTAÇÃO DOS FÍGADOS EM MICROSCOPIA ÓPTICA

Os cortes histológicos foram analisados e documentados em microscópio óptico Nikon Eclipse E800.

No fígado fetal contou-se o número de megacariócitos; a análise foi feita utilizando-se três fetos de cada grupo contando cinco campos por lâmina.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes estatísticos, utilizados para avaliar a diferença entre os grupos em relação ao peso e comprimento crânio-caudal e número de megacariócitos, foram feitos através do software PRISMA 3.0, utilizando ANOVA “one-way” seguido de Dunnett.

RESULTADOS

Análise morfológica materna

O fígado sem alterações é composto por cordões de hepatócitos dispostos radialmente nos lóbulos hepáticos, entre os cordões estão os capilares sinusóides, cada lóbulo contém uma veia central e em cada canto deste se encontram os espaços porta que são compostos por ramos da veia porta, artéria hepática e do ducto biliar. Abaixo está demonstrado o fígado materno do grupo controle contendo um espaço porta (Figura 1).

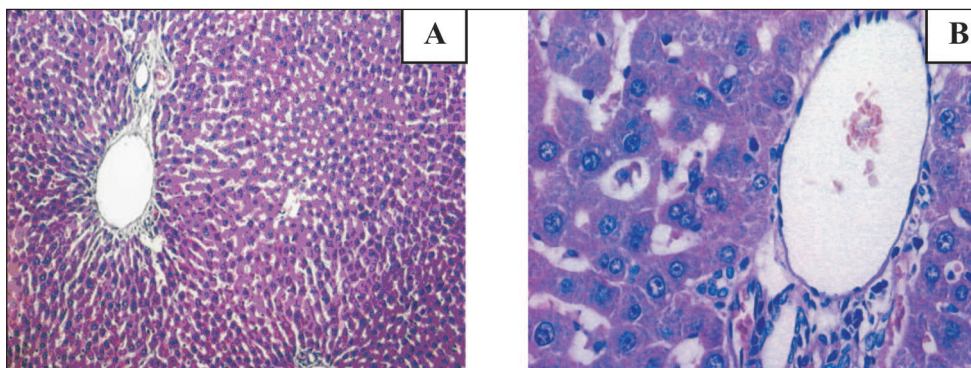


Figura 1. Imagem representativa do espaço porta em ratas prenhes do grupo controle. Em A: aumento 100X, coloração HE. Em B: aumento 400X, coloração HE.

No fígado com esteatose encontram-se pequenas gotículas lipídicas (microvesicular) no interior dos hepatócitos. No consumo crônico de álcool formam-se glóbulos

macrovesiculares que deslocam o núcleo dos hepatócitos para periferia. Nas figuras abaixo está representado o fígado materno do grupo desnutrido tratado com álcool (Figura 2).

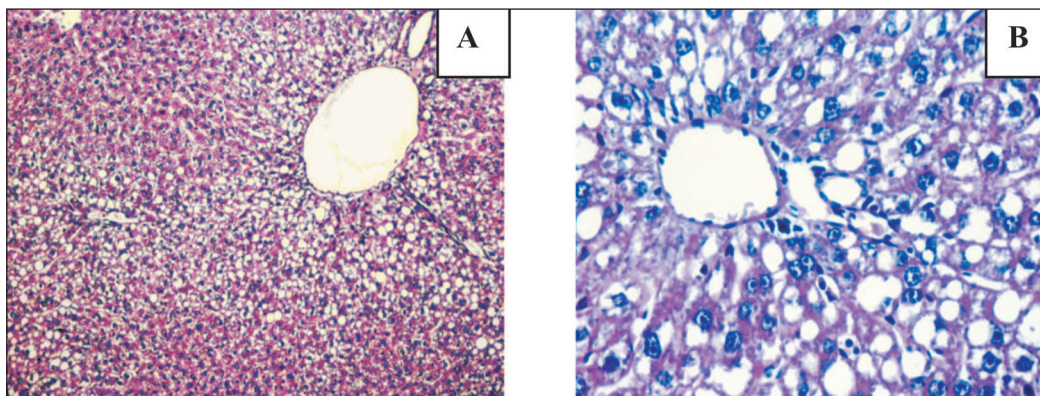


Figura 2. Imagem representativa do fígado onde observa-se um espaço porta e esteatose micro e macrovesicular em ratos prenhes do grupo desnutrido tratado com álcool. Em A: aumento 100X, coloração HE. Em B: aumento 400X, coloração HE.

Na análise dos fígados materno do grupo nutrido tratado com álcool, podem-se observar alterações nos hepatócitos que se encontram próximos ao espaço porta.

Estas células se apresentaram mais coradas e alongadas, com núcleo e citoplasma retraídos (Figura 3).

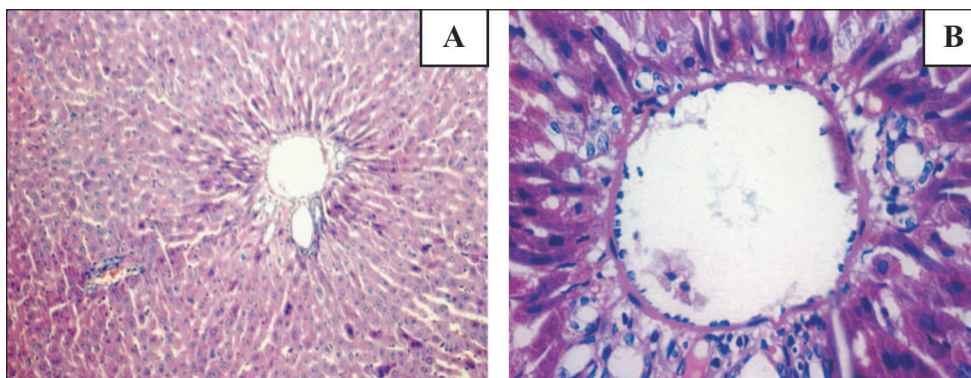


Figura 3. Figura mostrando fígado materno do grupo nutrido tratado com álcool, onde podem-se observar alterações morfológicas nos hepatócitos localizados próximos ao espaço porta. Em A: aumento de 100X. Em B: aumento de 400X. Coloração HE.

Nos fígados maternos do grupo desnutrido tratado com água destilada, observou-se tumefação dos hepatócitos.

No grupo nutrido tratado com água destilada não ocorreram modificações histológicas (Figura 4).

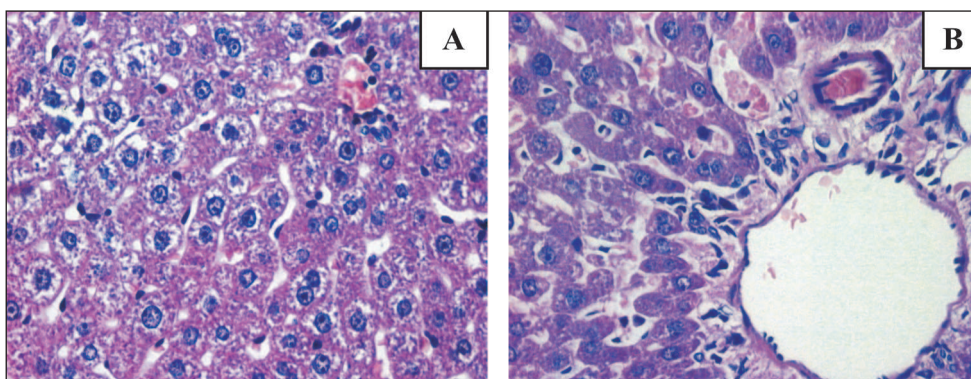


Figura 4. Figura demonstrando fígado materno. Em A: fígado materno do grupo desnutrido tratado com água, onde observa-se tumefação nos hepatócitos. Em B: fígado materno do grupo nutrido tratado com água destilada. Coloração HE, aumento 400X.

Na figura 5 estão representadas as imagens dos fígados maternos de todos os grupos experimentais corados

com Masson, onde pode-se ver que não houve diferença entre estes com relação ao depósito de colágeno (Figura 5).

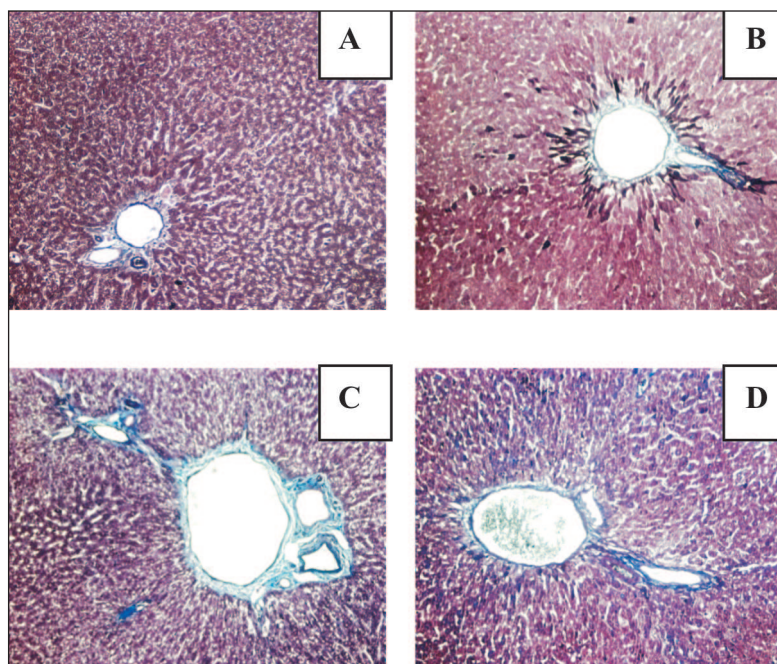


Figura 5. Imagens representativas dos fígados maternos corados com tricrômico de Masson, todas as imagens contêm um espaço porta para que se possa observar a deposição de colágeno. Em A: fígado materno do grupo nutrido tratado com água destilada. Em B: fígado materno do grupo nutrido tratado com álcool. Em C: fígado materno do grupo desnutrido tratado com água. Em D: fígado materno do grupo desnutrido tratado com álcool. Aumento de 100X.

A coloração com Perl's não contribuiu com as análises.

ANÁLISE MORFOLÓGICA FETAL
ANÁLISE MACROSCÓPICA

A) Peso fetal

Através da análise estatística constatou-se que o peso fetal

do grupo desnutrido tratado com álcool (GDE) apresentou-se significativamente menor ($p < 0,001$) quando comparado com o grupo controle. Nos grupos desnutridos observou-se que o GDE é estatisticamente diferente ($p < 0,05$) do grupo desnutrido tratado com água destilada (GDA), apresentando o GDE um peso menor.

Entre os grupos nutridos não houve diferença estatística com relação ao peso ($p > 0,05$) (Figura 6).

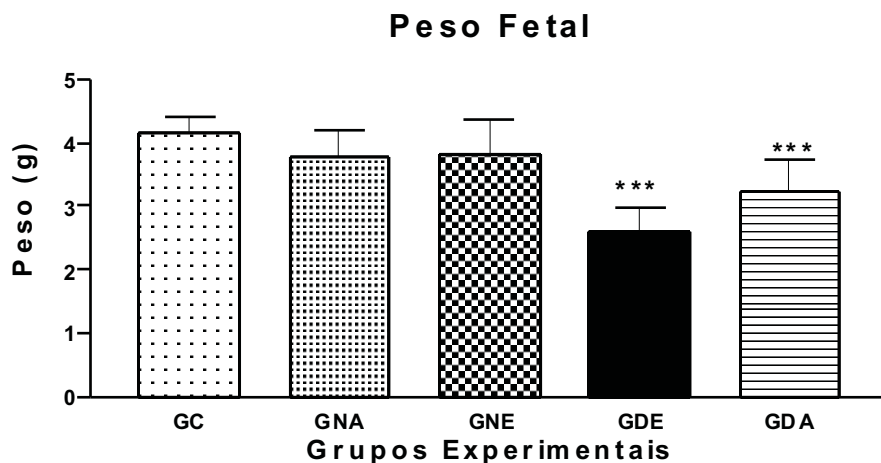


Figura 6. Peso fetal (g) dos seguintes grupos experimentais: controle (GC), nutrido e água destilada (GNA), nutrido e álcool (GNE), desnutrido e álcool (GDE) e desnutrido e água destilada (GDA) em concentração de 3 g/kg com volume final igual a 3,8 mL. Resultados expressos em média com desvio padrão. ***Representa significância estatística com o grupo controle ($p < 0,001$)

B) Comprimento crânio-caudal

Na análise estatística realizada para avaliar a diferença entre os grupos com relação ao comprimento crânio-caudal observou-se que nos grupos desnutridos, tanto os tratados

com água como álcool e no grupo nutrido tratado com álcool, houve diferença estatística destes quando comparados com o grupo controle. Apresentando os grupos desnutridos $p < 0,001$ e o nutrido tratado com álcool $p < 0,05$ (Figura 7).

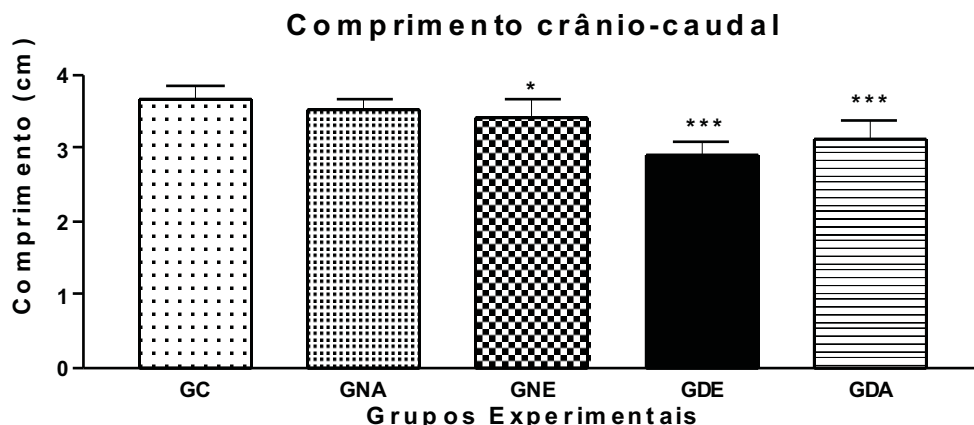


Figura 7. Comprimento crânio-caudal (cm) dos seguintes grupos experimentais: controle (GC), nutrido e água destilada (GNA), nutrido e álcool (GNE), desnutrido e álcool (GDE) e desnutrido e água destilada (GDA). Resultados expressos em média com desvio padrão.*** $p < 0,001$; * $p < 0,05$, quando comparado ao respectivo controle.

A figura 8 representa um feto de cada grupo experimental, registrados com uma câmera digital.



Figura 8. Foto dos fetos dos seguintes grupos experimentais: grupo controle (GC); grupo nutrido tratado com água (GNA); grupo nutrido tratado com álcool (GNE); grupo desnutrido tratado com água destilada (GNA) e grupo desnutrido tratado com álcool (GDE).

ANÁLISE MICROSCÓPICA

Através de análise estatística mostrou-se que não houve diferença entre os grupos experimentais com relação ao número de megacariócitos presentes no fígado fetal.

O fígado fetal apresenta-se com grande número de células hematopoiéticas, entre elas os megacariócitos, com congestão hepática e com elementos do espaço porta imaturos, que são normais nesta idade (Figura 9).

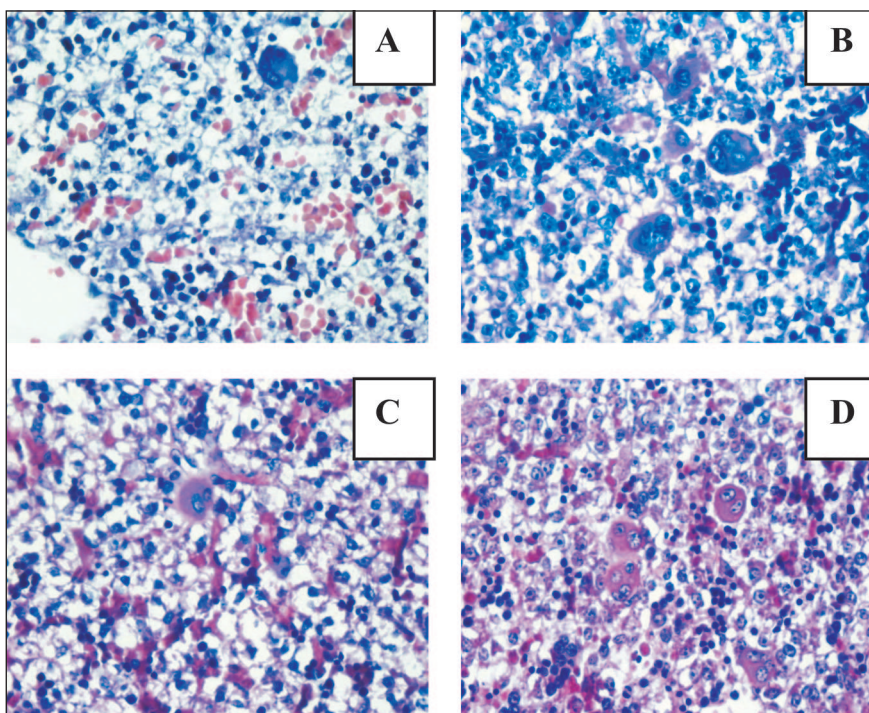


Figura 9. Imagens representativas dos fígados fetais com 21 dias de gestação, onde pode-se observar congestão hepática, grande número de células hematopoiéticas, entre estas megacariócitos. Em A: fígado fetal do grupo desnutrido tratado com água. Em B: fígado fetal do grupo desnutrido tratado com álcool. Em C: fígado fetal do grupo nutrido tratado com água. Em D: fígado fetal do grupo nutrido tratado com álcool. Coloração HE, aumento 400X.

DISCUSSÃO

O consumo de álcool etílico durante a gestação é considerado uma das principais causas conhecidas de retardo mental no ocidente.²⁰ O padrão de alterações encontrados nos fetos causados pela ingestão de álcool durante a gestação são: distúrbios do sistema nervoso central, retardo de crescimento pré e/ou pós-natal e dismorfias faciais características (lábio superior fino, ausência de sulco nasolabial, fissuras palpebrais pequenas, entre outras). Este padrão de alterações foi denominado por Jones e cols. (1973)²¹ *Fetal Alcohol Syndrome* (Síndrome Alcoólica Fetal, SAF).

Neste trabalho demonstrou-se que a associação entre o etanol e a desnutrição interferiu significativamente no peso e comprimento dos fetos. Alguns trabalhos sugerem que o baixo peso está diretamente relacionado com os efeitos tóxicos do álcool devido ao quadro de má absorção e má digestão causado por este.

Silva e Mclean (1988)¹⁷ sugeriram que quando a desnutrição é protéica ocorre a diminuição da atividade enzimática da álcool-desidrogenase, principal enzima na degradação do etanol e, conseqüentemente, sua eliminação é retardada.

A ingestão crônica de etanol leva a várias lesões hepáticas, entre elas, esteatose, hepatite alcoólica, cirrose e hepatocarcinoma. Dentre as inúmeras doenças relacionadas ao alcoolismo crônico, a hepatopatia alcoólica se destaca pela sua frequência e mortalidade.²²

A arquitetura histológica do fígado normal compõe-se de unidades estruturais denominadas lóbulos hepáticos. O lóbulo dispõe-se ao redor de uma veia centrolobular. Em

algumas regiões da periferia dos lóbulos existe tecido conjuntivo contendo ductos biliares, vasos linfáticos, nervos e vasos sanguíneos. Estas regiões são denominadas espaços porta. Os hepatócitos formam cordões celulares que estão radialmente dispostos no lóbulo hepático. Os espaços entre os cordões contêm os sinusóides, onde além das células endoteliais destes estão presentes também os macrófagos, conhecidos com células de Kupffer. As células endoteliais estão separadas dos hepatócitos por uma lâmina basal descontínua e um espaço subendotelial conhecido como espaço de Disse, que contém microvilos dos hepatócitos e células armazenadoras de lipídeos denominadas células de Ito.²³

Na análise do fígado materno do grupo desnutrido tratado com álcool encontrou-se esteatose (degeneração gordurosa) macro e microvesicular. Esta alteração refere-se ao acúmulo de triglicerídeos nos hepatócitos.²⁴ Pode ser causada por toxinas, desnutrição protéica, diabetes melito, obesidade e anóxia.

O álcool é uma hepatotóxina que altera a função das mitocôndrias e do retículo endoplasmático liso, inibindo, assim, a oxidação dos ácidos graxos; a desnutrição protéica diminui a síntese de apoproteínas, estas proteínas no fígado normal formam complexos com os triglicerídeos, dando origem às lipoproteínas, que são capazes de entrar na circulação. A esteatose alcoólica pode evoluir, com a continuação da ingestão etílica, para fibrose e cirrose.² Cerca de 10% a 35% dos pacientes com esteatose desenvolvem hepatopatia alcoólica e 10% a 20% cirrose.²⁵

No fígado materno do grupo desnutrido tratado com água destilada observou-se degeneração hídrica (acúmulo de água, gordura e proteínas que geralmente são exportadas).

Esta alteração é causada por modificações nas membranas de organelas, especialmente de mitocôndrias e de retículo endoplasmático liso, produzidas pela peroxidação lipídica.²⁵

Ambas alterações encontradas nos fígados materno dos grupos desnutridos são reversíveis.

O fígado fetal na análise histológica apresentou-se com vestígios de elementos do espaço porta, congestão hepática, grande número de células hematopoiéticas, entre elas megacariócitos e veia centrolobular, características normais nesta idade gestacional (21 dias). O fígado é um órgão hematopoiético com componentes biliares imaturos que são identificados na junção entre o mesênquima e o parênquima do fígado ao redor da veia porta no hilo hepático.²⁶

Na análise histológica do fígado fetal tratado com álcool percebeu-se um maior número de megacariócitos; este resultado também foi encontrado em outros estudos.¹

Neste trabalho pode-se verificar que o etanol modificou a arquitetura histológica do fígado materno, e a associação deste com a desnutrição interferiram acentuadamente na arquitetura do fígado materno e no peso e comprimento fetal. Com relação ao fígado fetal observou-se um maior número de megacariócitos nos grupos tratados com etanol, resultado este também encontrado em outros trabalhos.¹

Agradecimentos

À orientadora Suzana e co-orientadora Mércia. A todos os funcionários do Laboratório de Patologia, em especial à Rosiane e ao dr. Vanderlei, que ajudou com a análise do material. Ao dr. Manuel de Jesus, professor da UNIFESP. À Beth, funcionária do Laboratório de Histologia. A todos os funcionários do Laboratório de Bioquímica. Aos funcionários do Biotério. À professora Eliana e aos estagiários do Laboratório de Biomateriais. À professora e às estagiárias do Depto. de Fisiologia e Biofísica da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), que forneceram a ração.

REFERÊNCIAS

- Koçkaia EA, Akay MT. Histological changes in the liver of fetuses of alcohol-treated pregnant rats. *Cell Biochem Funct.* 2006; 24:223-7.
- Cardin MS, Assis SG, Sberze M, Iguhi T, Morgado AF. Epidemiologia descrtiva do alcoolismo em grupos populacionais do Brasil. *Cad Saúde Pública.* 1986; 2:191-211.
- Fabri CE. Desenvolvimento e validação de um instrumento de rastreamento do uso nocivo de álcool durante a gravidez (T-ACE). [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2002.
- Passini JR. Alcohol consumption during pregnancy. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005; 27(7):373-5.
- Cook JD. Biochemical markers of alcohol use in pregnant woman. *Clin Biochem.* 2003; 36:9-19.
- Sampson PD. Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology.* 1997; 56:317-26.
- Bánhidý F, Lowry RB, Czeizel AE. Risk and benefit of drug use during pregnancy. *Int J Med Sci.* 2005; 2:100-6.
- Leonard BJ, Bottcher LM, Brust JD. Alcohol-related birth defects. Minnesota's response to a critical health problem. *Minn Med.* 1991; 74(12):23-5.
- May PA, Fiorentino D, Phillip GJ, Kalberg WO, Eugene HH, Robinson LK et al. Epidemiology of FASD in a province in Italy: prevalence and characteristics of children in a random sample of schools. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006; 30(9):1562-75.
- Charness ME, Safran RM, Perides G. Ethanol inhibits neural cell-cell adhesion. *J Biol Chem.* 1994; 269(12):9304-9.
- Rojas CV, Hichs J. Síndrome do alcoolismo fetal. *J Ginecol Obstetr Mex.* 1990; 58:226-32.
- Ribeiro EM, Gonzalez CH. Síndrome alcoólica fetal: revisão. *Pediatrics (São Paulo).* 1995; 17:47-56.
- Chaudhuri JD. Alcohol and developing fetus: a review. *Med Sci Monit.* 2000; 6(5):1031-41.
- Riley EP, Thomas JD, Goodlett CR, Klintsova AY, Greenough WT, Hungund BL, et al. Fetal alcohol effects: mechanisms and treatment. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001; 25(5):110S-6S.
- Araújo JA. Estudo histomorfométrico do córtex visual de ratos expostos ao etanol e à aguardente [trabalho de conclusão de curso]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2005.
- Lieber CS. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol.* 2004; 34(1):9-19.
- Silva VA, Mclean AEM. Effect of two different types of malnutrition on the rate of elimination of ethanol in rats. *Biochem Pharmacol.* 1988; 37: 4235-8.
- Cardoso-Silva CD, Melo Júnior MR, Patu VJRM, Araújo Filho JL, Machado MCFP, Pontes Filho NT. A exposição crônica ao álcool e a desnutrição interferem no desenvolvimento do fígado durante o período perinatal? *Rev Bras Nutr Clin.* 2007; 22(3):220-5.
- Lefkowitz JH, Rushton AR, Feng-Chen KC. Hepatic fibrosis in fetal alcohol syndrome. Pathologic similarities to adult alcoholic liver disease. *Gastroenterology.* 1983; 85:951-7.
- West JR, Goodlet CR, Brandt JP. New approaches to research on the long-term consequences of prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res.* 1990; 14:684-9.
- Jones KL, Smith, DW, Ulleland CN, Streissguth AP. Pattern of malformation in offspring of chronic alcohol women. *Lancet.* 1973; 1: 1267-71.
- Alvarez MA, Cabre E, Lorenzo-Zuniga V, Montoliu S, Planas R, Gasull MA. Combining steroids with enteral nutrition: a better therapeutic strategy for severe alcoholic hepatitis? Results of a pilot study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004; 16:1375-80.
- Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica.* 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
- Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R. *Robbins patologia básica.* 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
- Mincis GM. Doença hepática alcoólica. In: Mincis M, editor. *Gastroenterologia & hepatologia.* 3ª ed. São Paulo: Lemos; 2002. p. 695-716.
- Sanzen T, Yoshida K, Sasaki M, Terada T, Nakanuma Y. Expression of glicoconjugates during intrahepatic bile duct development in the rat. An immunohistochemical and lectin-histochemical study. *Hepatology.* 1995; 22:944-51.