

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO E CONSUMO CRÔNICO DE ETANOL SOBRE O PERFIL HISTOLÓGICO DO PÂNCREAS DE RATOS RECÉM-NATOS

MALNUTRITION EFFECTS AND CHRONIC EXPOSURE TO ETHANOL ON HISTOLOGICAL PROFILE OF THE PANCREAS FROM OFFSPRING RATS

Mario Ribeiro MELO-JÚNIOR<sup>1,2</sup>, Vasco José Ramos Malta PATU<sup>1</sup>, Jorge Luiz Silva ARAÚJO FILHO<sup>1</sup>, Rodrigo Bacelar da COSTA-SILVA<sup>1</sup> e Nicodemus Teles de PONTES-FILHO<sup>1,3</sup>

RESUMO

**Objetivo:** este estudo avaliou, através da histoquímica e da morfometria, o perfil histológico do pâncreas de ratos Wistar, gerados por matrizes submetidas aos seguintes tratamentos: dieta padrão, dieta hipoprotéica e ingestão crônica de etanol (3g/kg peso corporal). **Método:** quatro grupos experimentais foram gerados: grupo controle – GC; grupo etanol – GE; grupo desnutrido – GD; grupo etanol desnutrido – GED, avaliando-se a evolução do peso corporal em três períodos: 3° (P3), 25° (P5) e 40° (P40) dias de vida. Na análise morfométrica avaliaram-se as áreas de depósito de colágeno, número médio de vasos pancreáticos e ilhotas de Langerhans. **Resultados:** observamos que em P3, apenas o grupo etanol (GE) tinha peso significativamente menor quando comparado com os demais grupos. Houve diferença significativa de peso corporal entre os grupos de mesmo tratamento e dietas diferentes (GE x GED) em P25 e P40, tendo o GED o menor peso. O GD e GED exibiram um aumento no número médio de vasos, quando comparado aos outros grupos. Entretanto, não houve uma alteração, estatisticamente, significativa no número de ilhotas de Langerhans, bem como nos depósitos de colágeno nos grupos tratados. **Conclusão:** de acordo com os resultados obtidos, o modelo experimental adotado a exposição pré e pós-natal ao etanol, causa alterações significativas no número de vasos no pâncreas e peso corporal médio. Por outro lado, as ilhotas de Langerhans e tecido conjuntivo pancreático não demonstraram alterações morfológicas importantes.

**DESCRITORES:** etanol, desnutrição, pâncreas, perfil histológico.

INTRODUÇÃO

Nenhuma outra substância, como o álcool, é objeto de tanta investigação científica, seja para o estudo do seu efeito sobre os órgãos ou dos problemas a ele relacionados. De um lado, há um enorme esforço para um melhor entendimento acerca da biologia do alcoolismo, que é um problema social, de saúde e econômico na maioria das sociedades. Por outro lado, seu estudo reflete uma multiplicidade de ações tóxicas sobre células e tecidos desencadeando mecanismos lesionais que estão associados a inúmeras doenças.<sup>1,2</sup>

Muito comumente associadas à ingestão crônica de etanol, as deficiências nutricionais podem desempenhar um papel coadjuvante na fisiopatologia do alcoolismo.<sup>3,4</sup> Um importante efeito indireto da ingestão crônica do etanol é a inevitável ação sobre o estado nutricional em alcoolistas de populações de baixa renda.<sup>5,6</sup>

Além disso, a desnutrição “*in utero*”, determinada pelo reduzido aporte de nutrientes, pode ser agravada no recém-nascido, que sob a ação indireta do etanol reduz a capacidade de mamar e de

Recebido em 01.08.2007 – Aprovado em 21.11.2007

<sup>1</sup> Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE;

<sup>2</sup> Professor Regente de Patologia. Associação Caruaruense de Ensino Superior – ASCES;

<sup>3</sup> Professor Titular de Patologia. Departamento de Patologia, UFPE, Brazil;

metabolizar nutrientes em razão das alterações gastrointestinais que apresenta.<sup>7</sup>

O abuso do álcool é, diretamente, associado ao desenvolvimento de injúrias pancreáticas, mas, os fatores que as determinam ainda não são bem conhecidos. Estudos demonstraram, no entanto, que a associação entre o álcool e o fumo viabiliza o aparecimento dessa injúria, bem como uma dieta rica em lipídios e pré-disposição genética.<sup>8</sup>

O consumo do álcool e a desnutrição calórico-protéica são uma das principais causas da pancreatite crônica. Nos alcoolistas a incidência de pancreatite é 50 vezes maior que na população abstinentes.<sup>9</sup> Estudos demonstraram que a desnutrição combinada com a ingestão crônica de álcool provoca um aumento significativo na síntese de colágeno no pâncreas de ratos.<sup>10</sup>

Noel e Brás (1994)<sup>11</sup> demonstraram que alcoolistas crônicos com uma alimentação pobre tinham maiores chances de apresentar cirrose hepática e/ou pancreatite crônica. A desnutrição pós-natal induzida em ratos mostrou que há uma diminuição considerável no tamanho, não só do animal, mas também dos órgãos internos incluindo o pâncreas. A diminuição acentuada desse órgão provoca um decréscimo no número de células acinares, prejudicando o seu funcionamento. As enzimas que deixam de ser produzidas causam falhas graves nas funções digestivas desses animais.<sup>12</sup>

Devido ao alcoolismo encontrar-se associado ao estado de desnutrição calórico-protéica, principalmente, em populações de baixa renda nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, julgamos que seria interessante investigar os efeitos dessas condições agressivas no pâncreas de ratos.

Este estudo pretende, através de um modelo experimental, avaliar as alterações histopatológicas dos ácinos pancreáticos e das ilhotas de Langerhans bem como o perfil da microvasculatura em ratos jovens, gerados por matrizes submetidas à desnutrição e expostas cronicamente ao álcool durante a gestação e lactação.

## MÉTODOS

O protocolo experimental desenvolvido no presente trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CCB-UFPE – ofício 138/2003).

### Grupos experimentais

Foram utilizados 20 ratos machos jovens, da linhagem Wistar, provenientes do acasalamento de 30

fêmeas adultas sem parentesco, com  $\pm$  120 dias de vida e peso médio de 235 g. Os animais, oriundos da colônia do Biotério do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde – UFPE.

Para o acasalamento foram colocadas em cada gaiola 3 fêmeas e 1 macho. A prenhez era confirmada pela identificação de células descamativas, muco gestacional e espermatozoides. Confirmada a gravidez, as matrizes eram separadas de acordo com o protocolo experimental, no máximo 2 por gaiola e ali mantidas até 18º dia de gestação. A partir desse período eram transferidas para gaiolas individuais até o final do aleitamento (25º dia de vida dos filhotes).

Os filhotes machos de cada grupo experimental, gerados por diferentes matrizes, foram misturados entre si e mantidos em ninhadas de quatro a seis animais. Estes procedimentos foram adotados no intuito de eliminar a formação de grupos contendo apenas filhotes irmãos, excluindo-se a possibilidade dos resultados obtidos serem influenciados pela susceptibilidade familiar. Utilizados apenas ratos machos devido à conhecida influência dos hormônios sexuais femininos no metabolismo do álcool.<sup>13</sup> Além disso, a padronização do tamanho da ninhada teve como objetivo eliminar a desnutrição induzida por grandes ninhadas durante a lactação.<sup>14</sup>

Os grupos experimentais, contendo 5 (cinco) animais cada, foram padronizados da seguinte forma: Grupo Controle (GC) – cujas mães foram mantidas com a ração comercial do biotério (com 23% de proteínas - Labina<sup>Ò</sup>) e submetidas, diariamente, à gavagem intragástrica com água (3,8 ml) até o desmame; Grupo Desnutrido (GD) - cujas mães foram alimentadas com uma dieta experimental denominada DBR (dieta básica regional) deficiente em proteínas (8g por 100g de dieta) e submetidas, diariamente, à gavagem intragástrica com água (3,8 ml) até o desmame; Grupo Etanol (GE) - cujas mães foram mantidas com ração comercial e com exposição diária de etanol (3g/Kg peso) por gavagem até o desmame; Grupo Etanol Desnutrido (GED) - cujas mães foram mantidas com DBR e com exposição diária de etanol (3g/Kg peso) por gavagem até o desmame. Após o desmame os filhotes foram mantidos com a Labina ou DBR até o dia da perfusão (40 dias).

Utilizamos da DBR que contém apenas 8% de proteínas, que mimetiza as condições alimentares da população pobre da Zona da Mata de Pernambuco, a fim de desenvolver um modelo de desnutrição protéica e estudar seus efeitos associados as alterações induzidas pelo etanol.

Os animais foram pesados no 3º dia após o nascimento (P3), no 25º dia (P25) final da lactação (P25) e aos 40 dias de vida (P40), utilizando-se balança eletrônica.

### Coleta e análise das amostras

Aos 40 dias de vida os filhotes foram pesados, anestesiados e submetidos à perfusão de formol tamponado e, em seguida, retirados os pâncreas e conservados em formalina a 10% tamponada. Posteriormente esses fragmentos foram submetidos à rotina histológica e em seguida emblocados em parafina. A partir desses blocos, foram obtidos cortes histológicos com 4mm de espessura, montados em lâminas e submetidos a diferentes técnicas de coloração: Hematoxilina-Eosina (HE), para observação das características histológicas gerais e Tricrômico de Masson (TM) para evidenciar a deposição de colágeno.

Para a análise da densidade de vasos, foram utilizadas as lâminas coradas com TM. Para cada lâmina, analisados 5 campos (magnificação 200x). Em relação à análise da densidade das ilhotas de Langerhans, foram utilizadas as lâminas coradas com HE e todas as ilhotas de Langerhans dos cortes foram contadas.

Na análise estatística utilizou-se o teste de Tukey para avaliação de significância do número médio de vasos e a quantidade média de ilhotas de Langerhans comparando os grupos experimentais entre si. Em todos os casos considerou-se como nível de significância para rejeição da hipótese nula um valor de  $p < 0,05$ , através do programa Prisma® 3.0.

## RESULTADOS

### Evolução ponderal

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que, de modo geral e nos períodos estudados, houve interferência do etanol no peso corporal, tanto em animais nutridos quanto em desnutridos.

Para o estudo da evolução ponderal analisou-se o peso corporal dos filhotes, gerados por mães nutridas ou desnutridas submetidas a dois tratamentos (água ou etanol), em 3 períodos distintos. Para isso, optou-se pela comparação dos pesos médios no 3º dia de vida (P3) (pós-natal precoce), no 25º dia (P25) (final da amamentação) e 40º dia (P40) (pós-natal tardio), quando comparado com o grupo nutrido (GN), o grupo etanol (GE) apresentou peso significativamente menor ( $p < 0,05$ ).

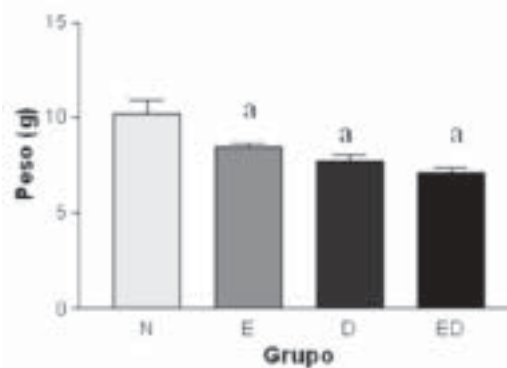


Figura 1. Evolução ponderal (média ± desvio padrão) de ratos wistar no 3º dia de vida (P3).

Entre os desnutridos, observou-se que o grupo etanol desnutrido (GED) não diferiu, estatisticamente, em P3 quando comparado com o grupo desnutrido (GD), porém em P25 e P40 o grupo etanol desnutrido (GED) tinha peso médio, significativamente, mais baixo, por outro lado, a comparação entre grupos com o mesmo tratamento, porém com dietas diferentes, isto é, GE x GED, demonstrou que a diferença de peso era significativa nos períodos P25 e P40 (Fig. 2)

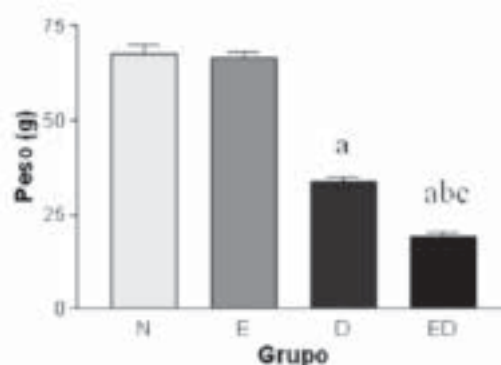


Figura 2. Evolução ponderal (média ± desvio padrão) de ratos wistar no 40º dia de vida (P40).

### Estudo histopatológico

Neste estudo, se percebe que não existiram depósitos de colágeno intersticiais em nenhum dos grupos estudados, como também, não encontramos mudanças significativas do parênquima pancreático que indicassem uma possível pancreatite aguda e/ou crônica. Mas, foram observados um discreto infiltrado eosinofílico e linfocitário.

### Análise morfométrica

Foi observada uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na densidade de vasos por área entre os

grupos desnutrido GD e GED quando comparados ao GC (Fig. 3).

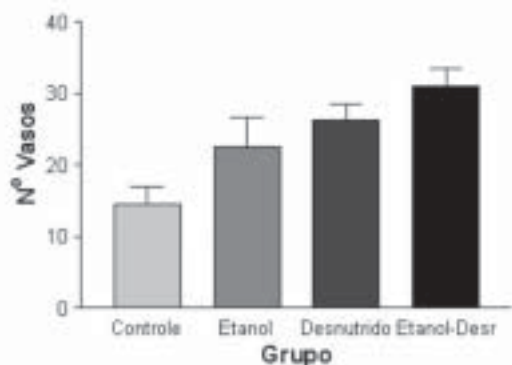


Figura 3. Densidade de vasos por área encontrados nos grupos experimentais.

Os ratos expostos à desnutrição apresentaram uma diminuição considerável no tamanho corporal, sendo assim, possivelmente, o pâncreas também sofre um decréscimo no seu tamanho. Mas, não foram encontradas diferenças significantes no que se refere ao número médio de ilhotas de Langerhans nos grupos experimentais estudados (Fig. 4).

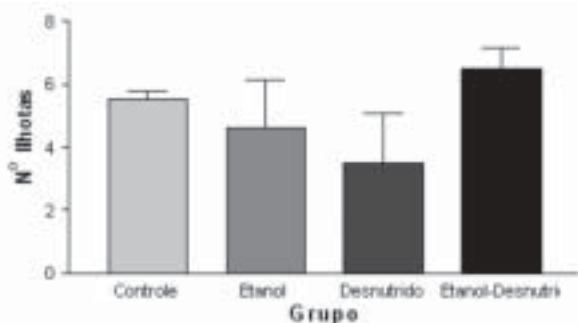


Figura 4. Número médio de ilhotas de Langerhans (média  $\pm$  desvio padrão) em pâncreas de ratos wistar.

## DISCUSSÃO

Em relação aos efeitos do tratamento durante a gestação (P3) observou-se concordância dos nossos resultados com aqueles obtidos por Abel e Hannigan (1996)<sup>15</sup>, já que os animais nutridos que receberam etanol apresentaram peso menor quando comparados com os tratados com água. Além disso, supomos que a diminuição do peso em P3 (pós-natal precoce) foi decorrente dos efeitos indiretos do álcool relacionados à mãe, pelo fato de não ter havido diferença estática

entre os pesos dos animais tratados nutridos (GE) e desnutridos (GED) entre si. Tais efeitos seriam decorrentes da interferência do etanol em todas as três fases da nutrição fetal, como evidenciado por Shibley et al. (1999)<sup>16</sup>.

No contexto da nutrição materna, alguns pesquisadores, enfatizam a anorexia como importante fator de desnutrição.<sup>5,6,17</sup> No presente trabalho, foi verificado que durante a gestação algumas matrizes demonstravam irritabilidade durante a gavagem para administração do etanol, além de apresentarem sinal de embriaguez e demora na recuperação desta. Tais condições, em intensidade variável entre as gestantes, retardaram a procura pelo alimento.

Diante da possibilidade da técnica de gavagem e o álcool administrado contribuírem para a anorexia, por causar irritabilidade da mucosa gástrica, foram realizadas necropsias em gestantes que morreram espontaneamente durante a gestação, não sendo observados sinais de agressões mecânicas ou química das mucosas em nenhum dos casos. Essa observação levou-nos a acreditar que a irritabilidade pela intolerância ao álcool e o estado de embriaguez são fatores que interferem, de forma também importante, na nutrição materna, pelo menos experimentalmente. Em estudos clínicos, no entanto, não se observa intolerância, pois nestes casos a ingestão de álcool é voluntária.

Em relação a P25, há concordância entre os resultados obtidos nesse experimento e aqueles obtidos por Abel (1995)<sup>18</sup> com relação ao grupo etanol, já que este autor encontrou diminuição do peso ao nascer e nenhuma diferença no dia do desmame em animais expostos à mesma dose. No nosso trabalho, os filhotes sob os efeitos indiretos do tratamento com o álcool e da desnutrição apresentavam mudanças de comportamento. Tais condições comportamentais “anormais”, foram observadas no alcoolismo fetal<sup>19,20,7</sup> e da desnutrição<sup>21</sup>, poderiam justificar nossos resultados, já que em P25 os animais ainda se encontravam sob o efeito do etanol e da desnutrição.

Em P40, a evolução ponderal permaneceu prejudicada apenas pela desnutrição, já que o tratamento com etanol havia sido suspenso com o desmame (Fig. 1).

Neste estudo, se percebe que não existiram depósitos de colágeno intersticiais em nenhum dos grupos estudados. Em contrapartida, Haber *et al.* (2001)<sup>22</sup> demonstraram um acúmulo significativo de colágeno no parênquima pancreático de ratos

expostos diretamente ao etanol. Uma das possíveis causas do não aumento no depósito de colágeno intersticial seria a exposição indireta ao etanol, visto que, em nenhum momento os filhotes foram diretamente expostos a essa substância, e sim durante o período fetal e a lactação.

Embora estudos indiquem que o álcool provoca a ativação das células dendríticas do pâncreas, o que de alguma forma ativa a fibrinogênese pancreática.<sup>23</sup> Estudos utilizando ratos da linhagem Wistar mostraram uma expressão significativa de colágeno e subsequente fibrose quando expostos a altas doses de etanol durante um período de oito semanas<sup>24</sup>, podendo também apresentar quadros de pancreatite aguda e crônica.<sup>25,26</sup>

O mecanismo tóxico do álcool sobre o pâncreas não está completamente elucidado. Muitos co-fatores podem contribuir com a injúria desse órgão, como a dieta e fatores genéticos.<sup>27</sup> No entanto, não se encontrou mudanças significativas do parênquima pancreático que indicassem uma possível pancreatite aguda e/ou crônica. Outro trabalho recente com modelo animal, também, não obteve êxito na evidência de lesões pancreáticas.<sup>28</sup>

Um discreto infiltrado eosinofílico e linfocitário foram observados, o que não é o bastante para descrever um quadro agudo de pancreatite como o mostrado em outros trabalhos.<sup>29,30</sup> Estudo recente indica que alcoolistas crônicos, fumantes, com uma dieta desbalanceada e a exposição a certos carcinógenos podem aumentar a probabilidade de aparecimento de câncer pancreático.<sup>25</sup> Não foram observadas alterações no parênquima do pâncreas que evidenciassem o aparecimento desse tipo de distúrbio de crescimento.

A associação da desnutrição com o consumo crônico de etanol pode maximizar o aparecimento de pancreopatias.<sup>31</sup> Neste trabalho, o GED não apresentou alterações significativas no parênquima pancreático que indicassem uma possível injúria nesse órgão.

Corroborando com os nossos resultados, outro trabalho realizado com coração de ratos Wistar, seguindo procedimentos experimentais semelhantes ao nosso, foi observado um aumento significativo da densidade de vasos dos grupos submetidos à desnutrição (GD e GED).<sup>32</sup>

Os resultados demonstraram que ratos expostos à desnutrição têm uma diminuição considerável no tamanho corporal, sendo assim, possivelmente, o

pâncreas também sofre um decréscimo no seu tamanho. O que de certa forma poderia explicar as alterações no número médio de vasos. Outros trabalhos demonstraram que cérebro de ratos submetidos à desnutrição crônica apresenta um discreto aumento no número médio de vasos, devido ao fenômeno de empacotamento (miniaturização) desse órgão fazendo com que os vasos ficassem mais próximos entre si dando uma falsa impressão de maior número.<sup>33,7</sup>

O consumo crônico de etanol causa danos tanto na porção exócrina como na endócrina do pâncreas. É sabido que esse consumo abusivo pode provocar uma perda considerável da secreção normal de insulina que um organismo sadio necessitaria.<sup>34</sup> Esses pesquisadores demonstraram que ratos expostos ao etanol por quatro semanas ininterruptas sofriam alterações significativas nas secreções tanto dos ácinos (porção exócrina) como também das ilhotas de Langerhans (porção endócrina) do pâncreas.

Assim sendo, não foram encontradas diferenças significantes no que se refere ao número médio de ilhotas de Langerhans nos grupos experimentais. Este mesmo resultado foi obtido por Santos et al. (1999)<sup>35</sup> quando estudaram pacientes com doença de Chagas crônica que apresentavam alterações patológicas do pâncreas parecidas com as vistas em alcoolistas crônicos como, por exemplo, fibrose intersticial.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desta forma, pode-se concluir que muitos dos aspectos patológicos da pancreatite crônica, derivada do abuso do álcool, ainda não estão totalmente esclarecidos, principalmente, porque os estudos até agora desenvolvidos não foram capazes de explicar a patogenia e a seqüência de alterações degenerativas no pâncreas exposto ao etanol.<sup>36</sup>

Embora, o estudo dos efeitos do álcool não seja tarefa simples, vários avanços foram conseguidos no estudo do alcoolismo e suas implicações nos órgãos glandulares. No entanto, ainda existem muitas questões a serem elucidadas a fim de que reconheçamos todos os mecanismos de ação dessa droga, bem como as possíveis alterações morfo-funcionais no pâncreas.

## SUMMARY

### UNDERNUTRITION AND CHRONIC EXPOSURE TO ETHANOL EFFECTS ON HISTOLOGICAL PROFILE OF NEWBORN RATS PANCREAS

Mario R. MELO-JÚNIOR, Vasco José Ramos MALTA-PATU, Jorge Luiz S. ARAÚJO-FILHO, Rodrigo Bacelar da COSTA-SILVA e Nicodemos Teles de PONTES-FILHO

**Objective:** the present study evaluated, by means of histochemistry and morphometrical analysis, the histological profile of pancreas of Wistar rats born of females which underwent any of the following treatments: standard laboratory diet, low-protein diet and ethanol chronic ingestion (3g/Kg/day). **Methodology:** four experimental groups (Control Group – CG, Ethanol Group – EG, Undernourished Group – UG and Ethanol Undernourished Group – EUG) had their body weights evaluated at three different time : on the 3<sup>rd</sup> (D3), 25<sup>th</sup> (D25) and 40<sup>th</sup> (D40) day of life. Areas of collagen deposition, number of pancreatic vessels and islets of Langerhans were evaluated in morphometric analysis. **Results:** on D3, only the ethanol group (EG) had significantly lower weight when compared to the other groups. There was significant difference of weight between groups with same treatment but different diets (EG x EUG) on D25 and D40. EUG had the lower weight. In the morphometric study, UG and EUG showed a significant increase in the mean number of vessels when compared to other groups. However, there were no statistically significant changes neither on the number of islets of Langerhans nor on the interstitial collagen deposits among experimental groups. **Conclusion:** the experimental protocol thus showed pre and post-natal exposition to ethanol to induce minor morphological changes in pancreatic tissue of rats, while undernutrition, associated or not to ethanol, brought significant changes on pancreatic vessel number and body weights. On the other hand, islets of Langerhans and pancreatic conjunctive tissue did not present important morphological alterations.

**KEY WORDS:** ethanol, undernutrition, pancreas, histological profile

## REFERÊNCIAS

1. LIEBER, CS. Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments. *Journal of Hepatology*. 2000, 32: 113-128.
2. CRABBE, JC. Use of genetic analyses to refine phenotypes related to alcohol tolerance and dependence. *Alcoholism, Clinical And Experimental Research* 2001, 25: 288-292.
3. HAROLD, K. Teratology in the 20th century: Environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. *Neurotoxicology and Teratology* 2003, 25: 131-282.
4. SKOLOW, M.; MCLROY, M.B.; CHEITLIN, M.D. *Clinical Cardiology*. 5<sup>th</sup> Edition. London, Prentice-Hall International, Inc., p. 561-564, 1990.
5. PALENCIA, G.; TEIXEIRA, F.; ORTIZ, A.; PEREZ, R.; RIOS, C.; SOTELO, J. Detrimental effects of malnutrition on the damage induced by alcoholism: A study of animal models that simulate chronic alcoholism and malnutrition of large human groups. *J. Stud. Alcohol* 1994, 55: 113-120.
6. ACHORD, JL. Nutrition, alcohol and liver. *Am. J. Gastroenterol*. 1998, 83: 224-248.
7. ROSENBERG, A. Brain damage caused by prenatal alcohol exposure. *Science & Medicine*. 1996, 4: 42-50.
8. CLEMENS, DL; JERRELLS, TR. Ethanol consumption potentiates virus pancreatitis and may inhibit pancreas regeneration: preliminary findings. *Alcohol* 2004, 33: 183-189.
9. SUZANNE, C. Sistema Endócrino. In: *Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica*. (Brunner e Suddarth). 7<sup>a</sup> Ed.,1992.
10. LOPEZ, JM. Effects of ethanol feeding and malnutrition on collagen synthesizing and degrading enzymes in rat pancreas. *Alcohol* 1996, 13: 227-231.
11. NOEL-JORANDE; BRAS. A comparison of nutrition al profiles of patients with alcohol-related pancreatitis and cirrhosis. *Alcohol and Alcoholism* 1994, 29: 65-74.
12. FIRMANSYAH, A.; SUWANDITO, L.; PENN, D.; LEBENTHAL, E. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 1989, 50: 261-268.
13. BERMAN, RF.; HANNIGAN, JH.; SPERRY, MA.; ZAJAC, CS. Prenatal alcohol exposure and effects of environmental enrichment on hippocampal dendritic spine density. *Alcohol* 1996, 13: 209-216.
14. DE LUCA, B.; CIOFFI, LA.; BURES, J. Cortical and caudate spreading as an idicator of neural changes induced by early malnutrition in rat. *Activas Nervosa Superior* 1977, 19: 130-131.
15. ABEL, EL.; HANNINGAN, JN. Risk factors pathogenesis. In: Spoohr, H. L. and Steinhansen, H. A. Alcohol, pregnancy and developing child. *Cambridge University Press*, Cambridge. p. 63-75, 1996.

16. SHIBLEY, IA.; MCINTYRE, TA.; PENNINGTON, SN. Experimental models used to measure direct and indirect ethanol teratogenicity. *Alcohol and Alcoholism* 1999, 34:125-140.
17. BRODY, T. Alcohol, IN: *Nutritional biochemistry* 9ª ed., Academic Press (London), p. 201-220, 1998.
18. ABEL, EL. Prenatal effects of alcohol on adult learning in rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1995, 10: 239-243.
19. STREISSGUTH, AP.; LANDESMAN-DWYER, SL. Teratogenic effects of alcohol in humans and laboratory animals. *Science* 1980, 209: 353-361.
20. DRISCOLL, CD.; STREISSGUTH, AP.; RILEY, EP. Prenatal alcohol exposure: comparability of effects on humans and animal models. *Neurotoxicol. Teratol* 1990, 12: 231-238.
21. WAINWRIGHT, PE. The role of nutritional factors in behavior development in laboratory mice. *Behav. Brain Res* 2001, 125:75-80.
22. HABER, P.; NAKAMURA, M.; TSUCHIMOTO, K.; ISHII, H. Alcohol and pancreas. *Alcohol. Clin. Exp. Res* 2005, 25: 244S-250S.
23. APTE, MV. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrinogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterol* 2000, 118: 780-794.
24. KONO, H. Development of an animal model of chronic alcohol-induced pancreatitis in the rat. *American Journal of Parasitol* 2001, 280: G1178-G1186.
25. LI, HS. Rat mitochondrial ATP-synthase ATP5G3: cloning and up regulation in pancreas after chronic ethanol feeding. *Physiol. Genomics* 2001, 6: 91-98.
26. TAYLOR CJ.; ASWANI N. The pancreas in cystic fibrosis. *Pediat. Resp. Rev* 2002, 3: 77-81.
27. LEVY, P. Pancreas and alcohol. *Pathol. Biol* 2001, 49: 753-758.
28. SIEGMUND, S.; HASS, S.; SCHNEIDER, A.; SINGER, MV. Animal models in gastrointestinal alcohol research – a short appraisal of the different models and their results. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol* 2003, 17: 519-542.
29. SZUSTER-CIESIELSKA, A.; DANILUK, J.; KANDEFER-SZERSZE, M. Alcohol – related cirrhosis with pancreatitis. The role of oxidative stress in the progression of the disease. *Arch. Immunol. Therap Exp* 2001, 49: 139-146.
30. ESPOSITO, I.; FRIESS, H.; BUCHLER, MW. Molecular mechanisms in chronic pancreatitis. *Zentralblatt fur chirurgie* 2001, 126: 867-872.
31. APARISI, L.; NAVARRO, S.; MATEO, MP.; BAUTISTA, D. Prevalence of malnutrition and morpho-functional alterations of the pancreas asymptomatic chronic alcoholic patients. *Med. Clin* 2000, 114: p.444-448.
32. ARAÚJO-FILHO, JLS.; MELO-JUNIOR, M.R. Análise histomorfométrica do coração de ratos expostos indiretamente ao etanol e à desnutrição crônica durante o período perinatal. *Rev. Cienc. Med. Biol* 2007, 6: 17-25.
33. MORGANE, PJ.; AUSTIN-LAFRANCE, R.; BRONZINO, J., TONKISS, J., DÍAS-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, T., GALLER, JR. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience Biobehav. Rev* 1993, 17: 91-128.
34. BENICKÝ, J.; NIKODÉMOVÁ, M.; SCSUKOVÁ, S.; ZÓRAD, S.; STRBAK, V. Four-week ethanol drinking increases both thyrotropin-releasing hormone (TRH) release and content in rat pancreatic islets. *Life Sciences* 2000, 66: 629-639.
35. SANTOS, VM.; TEIXEIRA, VP.; CUNHA, SC.; MONTEIRO, JP.; SANTOS, JM.; SANTOS, TA.; SANTOS, TM. Alterações anatomopatológicas do pâncreas em chagásicas crônicas. *Arq. Gastroenterol* 1999, 36: 127-132.
36. PITCHUMONI, CS. Pathogenesis of alcohol-induced chronic pancreatitis: facts, perceptions and misperceptions. *Surg. Clin. North Am* 2001, 81: 379-390.

#### Correspondência para-

Prof. Mario Ribeiro de Melo-Júnior - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA, Setor de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Av. Prof. Moraes Rêgo s/n, Campus Universitário - 50670-910, Brazil. E-mail: [mariormj@gmail.com](mailto:mariormj@gmail.com)