



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

JIVALDO GONÇALVES FERREIRA

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO ESTÔMAGO DA PROLE DE RATAS WISTAR
SUBMETIDAS AO CONSUMO CRÔNICO DE ÁLCOOL DURANTE A PRENHEZ**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
BACHARELADO EM ENFERMAGEM
NÚCLEO DE ENFERMAGEM

JIVALDO GONÇALVES FERREIRA

ANÁLISE HISTOLÓGICA DO ESTÔMAGO DA PROLE DE RATAS WISTAR
SUBMETIDAS AO CONSUMO CRÔNICO DE ÁLCOOL DURANTE A PRENHEZ

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior

Coorientadora: Dra. Ilka Dayane Duarte de Sousa Coelho

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2018

JIVALDO GONÇALVES FERREIRA

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO ESTÔMAGO DA PROLE DE RATAS WISTAR
SUBMETIDAS AO CONSUMO CRÔNICO DE ÁLCOOL DURANTE A PRENHEZ**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Aprovado em: 13/06/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Rayana Carla Silva de Moraes
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Tâmara Mayara Rodrigues Burgos
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Ketsia Sabrina do Nascimento Marinho
Doutoranda da Universidade Federal Rural de Pernambuco

Resumo

O consumo de bebidas alcoólicas na gravidez consiste em um importante problema de saúde pública, visto que, pode causar prejuízos na organogênese de diversos órgãos, incluindo o estômago, entretanto, poucos estudos avaliam o efeito da exposição pré-natal ao álcool nesse órgão. O objetivo deste estudo foi analisar histologicamente o estômago da prole de ratas submetidas ao consumo crônico de álcool durante a prenhez. Utilizou-se 10 ratas prenhes divididas nos grupos: Controle - ratas que receberam água destilada durante todo período gestacional e Álcool – ratas que receberam álcool etílico absoluto (3g/kg/dia) durante todo período gestacional. Logo após o nascimento, 12 neonatos (6 machos e 6 fêmeas) de cada grupo foram anestesiados e os estômagos coletados. Posteriormente, os órgãos foram fixados e processados seguindo a técnica histológica de rotina. Foram feitas análises histomorfométricas das camadas mucosa, muscular e da parede total do estômago. Observou-se que as proles macho e fêmea expostas ao etanol apresentaram diminuição da área de epitélio, contudo, os machos também mostraram redução significativa do número de células epiteliais. Demonstrou-se ainda redução na espessura das camadas mucosa, muscular e da parede total do estômago da prole fêmea do grupo Álcool. No entanto, a camada muscular apresentou aumento significativo em sua espessura no grupo de neonatos machos expostos ao etanol. Assim, concluímos que a exposição pré-natal ao álcool provoca efeitos nocivos sobre o estômago dos neonatos, contudo, estudos futuros são necessários para melhor elucidar os mecanismos envolvidos na patogênese e possíveis consequências para os animais na fase adulta.

Palavras-chave: Estômago. Etanol. Morfometria. Neonato.

Abstract

Consumption of alcoholic beverages during pregnancy is a significant public health problem, since it can damage to the organogenesis of several organs, including the stomach; however, few studies evaluate the effect of prenatal exposure to alcohol in this organ. The objective of this study was to analyze the histology the stomach of offspring of rats submitted to chronic alcohol consumption during pregnancy. Ten pregnant rats were divided into the groups: Control - rats receiving distilled water throughout the gestation period and Alcohol - rats receiving absolute ethyl alcohol (3g/kg/day) throughout the gestation period. Then, after birth, 12 pups (6 males and 6 females) from each group were anesthetized and the stomachs were collected. Subsequently, the organs were fixed and processed following the routine histological technique. Histomorphometric analyzes of the mucosa, muscle and total stomach wall were performed. It was observed that the male and female offspring exposed to ethanol had a decrease in the epithelium area, however, males also showed a significant reduction number of epithelial cells. There was also a reduction in the layers thickness mucosa, muscle and total stomach wall of the female offspring of the alcohol group. However, the muscular layer presented a significant increase in its thickness in the group of male neonates exposed to ethanol. We conclude that prenatal exposure to alcohol causes harmful effects on neonates' stomachs, however, future studies are necessary to better elucidate the mechanisms involved in the pathogenesis and possible consequences for animals in adulthood.

Keywords: Stomach. Ethanol. Morphometry. Neonate.

SUMÁRIO

ARTIGO	7
INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS.....	8
RESULTADOS.....	10
DISCUSSÃO.....	13
CONCLUSÃO	16
REFERÊNCIAS.....	17
ANEXO A - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA.....	21

ARTIGO

O PRESENTE TRABALHO ESTÁ APRESENTADO NO FORMATO DE ARTIGO REQUERIDO PELA REVISTA **ARQUIVOS DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIPAR**, CUJAS NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS SE ENCONTRAM EM ANEXO.

Introdução

O alcoolismo representa um importante problema de saúde pública no mundo, especialmente nos países em desenvolvimento como o Brasil (AJITH; JANARDHANAN, 2015). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 6% de todas as mortes no mundo estão relacionadas ao consumo de bebidas alcoólicas (OMS, 2014). Transtornos mentais, doenças hepáticas, problemas cardiovasculares, gastrite e câncer, estão fortemente associados ao abuso de álcool (CONNOR et al., 2017; CREWS; VETRENO, 2014; KLATSKY, 2010; LOUVET; MATHURIN, 2015; ROTA et al., 2017). Ainda assim, sua ingestão tem aumentado ao longo dos anos. De acordo com o relatório *World Health Statistics 2017*, divulgado pela OMS, o nível mundial de consumo de álcool puro em 2016 foi de 6,4 litros por pessoa, volume superior ao registrado em 2010 que era de 6,2 litros (OMS, 2017).

Uma das questões mais preocupantes decorrentes do consumo de bebidas alcoólicas é o seu uso por mulheres, principalmente aquelas em idade fértil e grávidas (SANCHES; PACHECO; BERNUCI, 2016). O II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD II) demonstrou que as mulheres apresentaram um aumento na dependência de álcool de 3% quando comparado ao levantamento anterior publicado em 2006 (LARANJEIRA et al., 2014).

O consumo de álcool durante a gestação pode trazer riscos ao desenvolvimento fetal, tais como parto prematuro, baixo peso ao nascer e comprometimento cognitivo, além disso, os fetos expostos ao etanol apresentam maior risco de desenvolverem dependência em drogas lícitas e ilícitas e ainda terem problemas mentais e comportamento sexual inadequado (MESQUITA; SEGRE, 2009; SBRANAI et al., 2016). A consequência mais grave do consumo materno de álcool é a Síndrome Alcoólica Fetal (SAF), condição irreversível caracterizada por anomalias craniofaciais típicas, disfunção do sistema nervoso central, defeitos congênitos e prejuízos nos crescimentos pré e pós-natal (BAPTISTA et al., 2017).

O álcool ingerido pela mãe atravessa facilmente a barreira placentária e rapidamente atinge os tecidos fetais, de modo que, em aproximadamente uma hora, as concentrações maternas e fetais de álcool são equivalentes (BAPTISTA et al., 2017). O líquido amniótico também fica impregnado com o etanol, funcionando então como um reservatório, prolongando a exposição fetal aos seus efeitos tóxicos (HELLERE; BURD, 2014).

O efeito teratogênico do álcool está estreitamente relacionado ao aumento na geração de radicais livres resultantes de seu metabolismo. Essas moléculas reagem com proteínas, lipídios e DNA, podendo alterar a função celular e comprometer o processo de organogênese (MATTA et al., 2016; RODRIGUES, 2014). Ademais, o etanol pode prejudicar a capacidade antioxidante endógena, diminuindo os níveis de glutathione peroxidase (BARBOSA et al., 2010). Quando citocromo P450 2E1 (CYP2E1) oxida etanol, geram radicais livres, cujo os alvos são as cadeias poliinsaturadas de ácidos graxos nas membranas do tecido cerebral. Estes processos lipídicos peroxidativos podem danificar o tecido cerebral fetal durante a organogênese, manifestando-se como disfunção do SNC (GUPTA; GUPTA; SHIRASAKA, 2016).

Sabe-se que o etilismo no período gestacional pode causar uma série de anormalidades morfofuncionais no conceito, no entanto, são escassos os relatos que evidenciem os efeitos do álcool no estômago fetal, sendo assim, o presente estudo teve como objetivo analisar a histologia do estômago da prole de ratas submetidas ao consumo crônico de álcool durante a prenhez.

Material e método

Animais

Foram utilizadas 10 ratas albinas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com 90 dias de idade, virgens, pesando aproximadamente 200 g, procedentes do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Essas fêmeas foram mantidas em gaiolas com alimentação e água *ad libitum*, à temperatura controlada de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$. Após um período de adaptação, foram acasaladas e divididas aleatoriamente em dois grupos: Controle – Ratas prenhes que receberam apenas água destilada durante todo período gestacional; Álcool – Ratas prenhes que receberam álcool etílico absoluto (3g/kg/dia) durante todo período gestacional. O protocolo experimental foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRPE (CEUA – UFRPE), com licença de número 009/2016.

Acasalamento e diagnóstico de prenhez

As fêmeas foram acasaladas na proporção de um macho para cada duas fêmeas, sempre no início da noite (18:00h). No dia seguinte, foram realizados exames colpocitológicos, sempre no período da manhã (06:00h), para a confirmação do acasalamento,

tomando-se como parâmetro a presença de espermatozoides. Com a confirmação do acasalamento este dia foi considerado como o primeiro dia de prenhez.

Administração do álcool

Durante todo o período gestacional, foi administrado nas ratas do grupo Álcool, 3g/Kg de peso corporal de álcool etílico absoluto P.A. (Vetec®), diluído em água destilada, com volume final de 3,8 ml, através de gavagem intragástrica (VEIGA et al., 2007). As ratas do controle receberam diariamente 3,8 ml de água destilada pela mesma..

Avaliação histológica dos estômagos

Após o nascimento, 12 filhotes (seis machos e seis fêmeas) dos grupos experimentais foram anestesiados com hidrocloridrato de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intramuscular para remoção do estômago.

Os estômagos coletados foram clivados longitudinalmente ao longo da sua curvatura maior e lavados com solução de NaCl (0,9%) para a retirada dos restos alimentares. Em seguida, esses órgãos foram mergulhados em uma solução de formol a 10% neutro tamponado (NBF), permanecendo por um período de 24 horas. Depois, os fragmentos foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo ajustado para 5µm. Assim, os cortes obtidos foram colocados em lâminas histológicas untadas previamente com albumina. Após isso, foram mantidas em estufa regulada à temperatura de 37°C, por 24 horas para secagem.

Os preparados histológicos foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (H.E.) e analisados em microscópio de luz. As lâminas foram fotografadas por meio de uma câmera digital (Moticam 2300) acoplada ao microscópio óptico (Nikon E-100). Sob foco fixo e clareza de campo, foram capturados 10 campos por lâmina com aumento final de 100 e 400x. Foi determinada a área do epitélio glandular e quantificação do número de células epiteliais em aumento de 400x, bem como a medição da espessura das camadas mucosa, muscular e da parede total (túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa) do estômago dos neonatos dos grupos experimentais (machos e fêmeas) em aumento de 100x, através do software *ImageJ*, versão 1.44.

Análise estatística

As mensurações obtidas através da avaliação histomorfométrica foram inicialmente avaliadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificação do padrão de distribuição dos dados e posteriormente pelo teste U de Mann-Whitney (distribuição não normal) com o intuito de se verificar possíveis diferenças entre os grupos. Para tanto, foi adotado o nível de significância de 5% ou $p < 0,05$.

Resultados

Na análise histológica do estômago da prole de ratas Wistar observou-se que o órgão é composto por quatro túnicas: mucosa, submucosa, muscular e serosa como já descrito na literatura. A camada mucosa, parte voltada para a luz do órgão, é composta por um epitélio de revestimento, uma lâmina própria formada por tecido conjuntivo e uma muscular da mucosa, uma fina camada de músculo liso. No estômago desses animais foi possível notar que a camada mucosa é formada por duas regiões distintas, uma glandular, onde é possível observar as glândulas gástricas as quais não estão bem formadas, pois se apresentam rasas e não foram identificados todos os tipos celulares, sendo sua superfície revestida por um epitélio simples cilíndrico e outra aglandular, revestida por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. A túnica submucosa é composta por tecido conjuntivo com a presença de vasos sanguíneos, porém nem em todas as regiões foi possível observá-la, sendo mais perceptível na região aglandular. A túnica muscular é formada por fibras musculares lisas que podem ser observadas em três direções: longitudinal, oblíqua e circular. E, finalmente, é revestido por uma fina túnica serosa formada por tecido conjuntivo com a presença de alguns vasos sanguíneos (Figura 1).

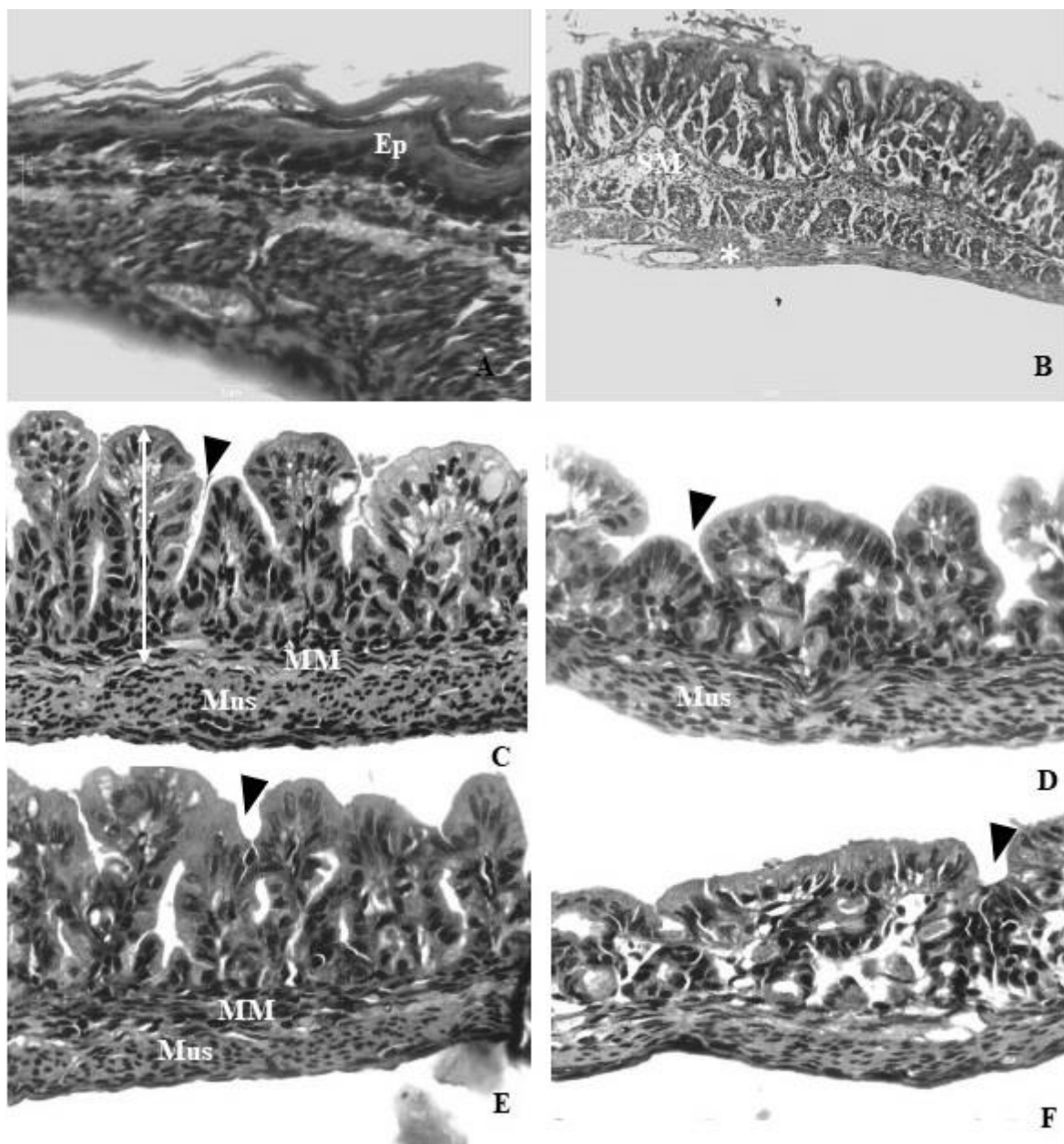


Figura 1- Fotomicrografia do estômago dos neonatos dos grupos experimentais. (A) Região aglandular. (B) Região glandular. (C) Grupo controle (fêmea). D Grupo álcool (fêmea). (E) Grupo controle (macho). (F) Grupo Álcool (macho). (Ep) Epitélio estratificado pavimentoso queratinizado; (SM) Submucosa; (*) Túnica serosa; (Seta dupla) Túnica mucosa; (MM) Muscular da mucosa; (Msc) Muscular; (Ponta de seta) Fosseta gástrica. Coloração H.E. A,C,D,E,F objetiva de de 40x e B 10x.

Demostrou-se que a prole fêmea exposta ao álcool teve uma diminuição significativa na área do epitélio glandular ($p < 0,001$), no entanto, não foram observadas diferenças significativas para a quantificação do número de células epiteliais na mesma área analisada (p

0,093). Quanto aos neonatos machos, o resultado sobre a área de epitélio glandular mostrou-se semelhante ao observado para a prole de fêmeas (p 0,016), porém, com redução também no número de células epiteliais quando comparado ao grupo controle (p 0,011) (Tabela 1).

Tabela 1: Média e desvio-padrão da área do epitélio glandular e do número de células epiteliais do estômago dos neonatos dos grupos experimentais (machos e fêmeas). Aumento de 400x. Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$.

	Controle (Média ± Desvio- Padrão)	Álcool (Média ± Desvio- Padrão)	Valor de p
Área do epitélio glandular (Fêmeas)	5975,87±1857,56	4274,69±1715,98	<0,001
Número de células epiteliais (Fêmeas)	133,90±21,38	125,99±22,57	0,093
Área do epitélio glandular (Machos)	3891,37±1291,38	3262,48± 732,62	0,016
Número de células epiteliais (Machos)	147,19±25,09	129,60±30,19	0,011

Observou-se uma diminuição significativa na espessura das camadas mucosa, muscular e da parede total do estômago da prole de fêmeas do grupo álcool quando comparados aos do grupo controle os quais apresentaram p mesmo valor de P (p 0,001). No grupo de neonatos machos expostos ao etanol a camada muscular apresentou aumento significativo de sua espessura (p 0,001) (Tabela 2).

Tabela 2: Média e desvio-padrão da mensuração espessura das camadas muscular, mucosa e total do estômago dos neonatos dos grupos experimentais (machos e fêmeas). Aumento de 100x. Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$.

	Controle (Média ± Desvio- Padrão)	Álcool (Média ± Desvio- Padrão)	Valor de p
Camada muscular (Fêmeas)	68,49±33,04	56,94±25,30	<0,001
Camada Mucosa (Fêmeas)	91,59±31,09	75,27±25,88	<0,001
Espessura total (Fêmeas)	159,51±59,50	131,32±40,87	<0,001
Camada muscular (Macho)	50,09± 20,85	60,78±31,18	0,001
Camada mucosa (Machos)	72,10±27,89	77,92±35,69	0,08
Espessura total (Machos)	124,18±34,74	141,23±61,59	0,07

Discussão

O presente estudo analisou a histologia do estômago da prole de ratas submetidas ao consumo crônico de álcool durante a prenhez. Observou-se que a exposição pré-natal ao álcool acarretou uma redução significativa na área do epitélio e na densidade de células epiteliais do estômago dos neonatos machos, a prole fêmea apresentou resultado significativo apenas para a área de epitélio, sem diminuição significativa no número de células epiteliais sugerindo que estas diminuem seu tamanho. Estes resultados sugerem que o etanol possui um efeito tóxico sobre o epitélio gástrico fetal.

Traves et al. (1995), evidenciaram que o álcool atravessa a barreira placentária, pois concentrações aumentadas de etanol foram encontradas no líquido amniótico, sangue e

conteúdo intragástrico de fetos de ratas submetidas a ingestão crônica de álcool, estando estes animais vulneráveis aos seus efeitos nocivos.

Um dos fatores contribuintes para a lesão da mucosa gástrica pelo álcool ocorre devido ao comprometimento dos seus mecanismos de defesa. Pois o álcool reduz a produção do muco e do bicarbonato que protegem a mucosa do estômago e aumenta a esfoliação epitelial, comprometendo a capacidade de renovação celular contínua do epitélio gástrico (GUSLAND, 1987). Além disso, a ingestão contínua do álcool aumenta a permeabilidade epitelial, tendo como consequência alterações na diferença de potencial celular causada pela retrodifusão de íons H^+ através da mucosa lesada (SIEGMUND; HAAS; SINGER, 2005), o que predispõe esse órgão a mais lesões.

Sabe-se que o etanol também pode ser metabolizado no estômago através da enzima álcool desidrogenase (ADH) (MARTINS, 2013). As moléculas de acetaldeído e as espécies reativas de oxigênio gerados em seu metabolismo estão diretamente relacionadas à toxicidade do álcool. Esses produtos reagem e danificam proteínas, lipídios e DNA, macromoléculas essenciais ao funcionamento das células, podendo levá-las a morte por necrose ou apoptose (WU; CEDERBAUM, 2009). Isso pode justificar a redução na área do epitélio e na densidade de células epiteliais do estômago dos neonatos.

Os radicais livres tendem a reagir com ácidos graxos insaturados presentes na membrana celular, provocando uma reação em cadeia conhecida como peroxidação lipídica, diminuindo as insaturações dos ácidos graxos e, afetando assim, a fluidez e permeabilidade da membrana celular (PAN et al., 2008). Tanto o etanol, quanto o seu principal metabólito, o acetaldeído, são apontados como responsáveis por várias desordens da mucosa do trato gastrointestinal, além de serem fatores neoplásicos tanto para os ratos, como para seres humanos (MELO-JUNIOR et al., 2006).

A toxicidade do acetaldeído é devida, em parte, à sua capacidade de inativar enzimas e diminuir a reparação do DNA, além disso, o acetaldeído promove depleção de glutatona (GSH) (LIEBER, 2005). A redução da GSH mitocondrial pelo tratamento crônico com etanol tem sido uma observação mais consistente e parece ser o fator-chave que contribui para a doença hepática alcoólica, toxicidade mediada por radicais livres e peroxidação lipídica, foi mostrado em hepatócitos (LIEBER, 2005). Ademais, consumo crônico de etanol deprime a função mitocondrial o qual pode produzir um aumento na síntese de radicais livres e causar toxicidade celular, aumentando a permeabilidade mitocondrial a estímulos apoptóticos (WU; CEDERBAUM, 2009). Acredita-se que mecanismos semelhantes sejam responsáveis pelas alterações causadas pelo álcool no epitélio gástrico dos neonatos.

Hernández-Muñoz; Montiel-Ruíz; Vázquez-Martínez, (2000) demonstraram que a administração de etanol em ratos aumentou a produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), sugerindo o aumento da peroxidação lipídica na mucosa gástrica, além disso, detectaram uma redução significativa de GSH.

Simanowski et al. (1995) verificaram que a administração crônica de etanol resultou em danos na mucosa gastrointestinal de ratos no qual tamanho da camada basal da célula foi aumentado e a estratificação das células da cavidade oral foi alterada, seguida de regeneração epitelial. A hiperproliferação de células epiteliais é uma característica histológica típica do processo de regeneração. Células altamente proliferativas têm maior chance de erros de replicação do DNA que resultam em alterações genéticas (SALASPURO, 2003).

O consumo crônico de álcool materno provocou uma diminuição da espessura da camada muscular na prole fêmea e um aumento para os machos. O consumo crônico de álcool provoca alterações na motilidade do estômago e retardamento no esvaziamento gástrico. Um estudo realizado por Bagyanszki et al. (2010) demonstrou que a migração do azul de Evans por todo o estômago e intestino delgado foi significativamente atrasado em camundongos submetidos ao alcoolismo crônico em comparação com os controles. Este atraso do esvaziamento gástrico aumenta o tempo de exposição da mucosa gástrica ao conteúdo alcoólico trazendo ainda mais danos ao feto.

Nesse mesmo estudo, uma análise *in vitro* de fragmentos do musculo liso do jejuno, no qual observou uma diminuição imunorreativa da síntese de oxido nítrico pelos neurônios mioentéricos. Onde sugeriu que o relaxamento exercido pelo consumo crônico de álcool no músculo liso não é por causa de uma resposta defeituosa do músculo, mas parece originar de atividade neuronal nitrérgica prejudicada (BAGYANSZKI et al., 2010).

Devido à diminuição da atividade da ADH, o organismo feminino é mais sensível ao etanol quando comparado sexo oposto, a diminuição desta enzima no estômago feminino faz com que o álcool seja absorvido em maior quantidade, pois este não sofre o metabolismo de primeira passagem que acontece no estômago, além disso, a mulher tem proporcionalmente mais gordura e menos água que os homens e, o etanol tem baixa afinidade por tecido adiposo, sendo assim se a mulher ingerir o mesmo volume de álcool que um homem as concentrações séricas de etanol será maior na mulher (CEDERBAUM, 2012; EROL; KARPYAK, 2015; MANCINELLI, 2004, 2007). Este fato pode explicar o motivo pelo qual as fêmeas apresentaram alterações mais significativas na mucosa gástrica quando foram expostas ao etanol.

A espessura do epitélio glandular da mucosa gástrica naturalmente é maior nas fêmeas, estudo realizado por Zhu & Wang, (2016) no qual fizeram a comparação do estômago de ratos sadios com o de ratas sadias, obtiveram como resultado que a espessura da mucosa gástrica das ratas é ligeiramente maior do que a dos machos. A partir deste resultado sugere-se que durante a exposição ao etanol, é esperado que a mucosa gástrica responda de forma diferente entre os sexos.

Conclusão

Concluimos que o alcoolismo no período gestacional provoca danos da mucosa gástrica dos neonatos machos e fêmeas, sendo esse efeito mais exacerbado nas fêmeas. No entanto, estudos futuros são necessários para melhor elucidar os mecanismos envolvidos na patogênese e possíveis consequências para os animais na vida adulta.

Referências

- AJITH, T. A. ; ANARDHANAN, K. K. J. Medicinal Mushroom Cracked-Cap Polypore, *Phellinusrimosus*(Higher Basidiomycetes) Attenuates acute Ethanol-Induced Lipid Peroxidation in Mice. **International journal of medicinal mushrooms**, v. 17, n. 11, 2015.
- BAGYÁNSZKI, M. et al. Chronic alcohol consumption affects gastrointestinal motility and reduces the proportion of neuronal NOS-immunoreactive myenteric neurons in the murine jejunum. **The Anatomical Record**, v. 293, n. 9, p. 1536-1542, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ar.21192>>. Acesso em: 10 abril. 2018.
- BAPTISTA, F. H. et al . Prevalência e fatores associados ao consumo de álcool durante a gravidez. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.**, Recife , v. 17, n. 2, p. 271-279, June 2017 . Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/rbsmi/v17n2/pt_1519-3829-rbsmi-17-02-0271.pdf> . Acesso em: 10 abril. 2018.
- BARBOSA, K. B. F. et al . Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643,2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v23n4/v23n4a13.pdf>> . Acesso em: 15 março. 2018.
- CEDERBAUM, A.I. Alcohol metabolism. **Clinics in liver disease**, v. 16, n. 4, p. 667-685, 2012. Disponível em: <[10.1016/j.cld.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.cld.2012.08.002)> . Acesso em: 10 abril. 2018.
- CONNOR, J. Alcohol consumption as a cause of cancer. **Addiction**, v. 112, n. 2, p. 222-228, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/add.13477>> . Acesso 3 março. 2018.
- CREWS, F. T.; VETRENO, R. P. Neuroimmune basis of alcoholic brain damage. In: **International review of neurobiology**. Academic Press, p. 315-357, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801284-0.00010-5>> . Acesso em: 5 Fevereiro. 2018.
- EROL, A.; KARPYAK, V. M, Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences: contemporary knowledge and future research considerations. **Drug & Alcohol Dependence**, v. 156, p. 1-13, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.08.023>> . Acesso em: 20 Fev. 2018.
- GUPTA,K. K.; GUPTA ,V. K, SHIRASAKA T. An Update on Fetal Alcohol Syndrome- Pathogenesis, Risks, and Treatment. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 40, n. 8, p. 1594-1602, 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/acer.13135> > . Acesso em: 28 jan. 2018.
- GUSLANDI, M. Effects of ethanol on the gastric mucosa. **Digestive diseases**, v. 5, n. 1, p. 21-32, 1987. Disponível em: < <https://doi.org/10.1159/000171159> > . Acesso em: 2 março. 2018.
- HELLER, M.; BURD L. Review of ethanol dispersion, distribution, and elimination from the fetal compartment. **Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology**, v. 100, n. 4, p. 277-283, 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/bdra.23232> > . Acesso em: 2 março.2018.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; MONTIEL-RUIZ, C.; VÁZQUEZ-MARTÍNEZ, O. Gastric mucosal cell proliferation in ethanol-induced chronic mucosal injury is related to oxidative stress and lipid peroxidation in rats. **Laboratory investigation**, v. 80, n. 8, p. 1161, 2000. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/3780124.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2018.

KLATSKY, A. L. Alcohol and cardiovascular health. **Physiology & behavior**, v. 100, n. 1, p. 76-81, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.12.019>>. Acesso em: 25 fev. 2018.

LARANJEIRA, R. et al. II levantamento nacional de álcool e drogas (LENAD)-2012. **São Paulo: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas/Universidade Federal de São Paulo**, 2014. Disponível em: <<https://inpad.org.br/wp-content/uploads/2014/03/Lenad-II-Relatório.pdf>> Acesso em: 5 abril. 2018.

LIEBER, C. S. Metabolism of Alcohol. **Clinics in Liver Disease**. Vol.9, pp.1-35 2005. Disponível em: < [10.1016/j.cld.2004.10.005](https://doi.org/10.1016/j.cld.2004.10.005)>. Acesso em: 14 março. 2018.

LOUVET, A.; MATHURIN, P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 4, p. 231, 2015.

MANCINELLI, R.; GUIDUCCI, M. S. La donna e l'alcol: vulnerabilità biologica?, **Ann Ist Super Sanità**, vol. 40 19-23, 2004. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Rosanna_Mancinelli/publication/240625444_La_donna_e_l'alcol_vulnerabilita_biologica/links/00b4952d3f81a6fea2000000.pdf>. Acesso em: 5 maio. 2018.

MANCINELLI, R.; BINETTI, R.; CECCANTI, M. Woman, alcohol and environment: emerging risks for health. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 31, n. 2, p. 246-253, 2007. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.06.017>>. Acesso em: 5 maio. 2018.

MARTINS, O. A. Efeito do Consumo de Bebidas Alcoólicas no Organismo – Uma Revisão. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência (REEC)**, v. 3, n. 2, p. 7-10, 2013. Disponível em: < http://www.fira.edu.br/revista/vol3_num2_pag7.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2018.

MATTA, A. P. L. F. et al. Álcool e gestação: possíveis efeitos, mecanismos de ação e medidas preventivas. **Revista Científica da Faminas**, v. 4, n. 2, 2016.

MELO-JUNIOR, M. R. et al . Avaliação histoquímica da mucosa gastrointestinal de ratos expostos ao álcool. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20, n. 4, p. 7-12, 2006. Disponível em: <<http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpm/v20n4/v20n4a02.pdf>>. Acesso em: 30 março. 2018.

MESQUITA, M. A.; SEGRE, C. A. M. Frequência dos efeitos do álcool no feto e padrão de consumo de bebidas alcoólicas pelas gestantes de maternidade pública da cidade de São Paulo. **Journal of Human Growth and Development**, v. 19, n. 1, p. 63-77, 2009. Disponível em: <<http://pepsic.bvsalud.org/pdf/rbcdh/v19n1/07.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Estatísticas mundiais de saúde 2017: Monitoramento da saúde para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)**. Genebra, Suíça, 2017. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255336/9789241565486-eng.pdf?sequence=1> >. Acesso em: 5 abril. 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Relatório Global sobre Álcool e Saúde – 2014**. Genebra, Suíça, 2014. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112736/9789240692763_eng.pdf?sequence=1 >. Acesso em: 5 abril. 2018.

PAN, J. S. et al. Oxidative stress disturbs energy metabolism of mitochondria in ethanol-induced gastric mucosa injury. **World J Gastroenterol**. 14:5857–5867, 2008. Disponível em: [10.3748/wjg.14.5857](http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.5857) >. Acesso em: 20 fev. 2018.

RODRIGUES, L. P. D. S. **Efeitos no feto da ingestão de álcool durante a gravidez**. 2014 Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014.

ROTA, M. et al. Alcohol consumption and gastric cancer risk—A pooled analysis within the StoP Project Consortium. **International journal of cancer**, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.30891> >. Acesso em: 15 fev. 2018.

SALASPURO, Mikko P. Acetaldehyde, microbes, and cancer of the digestive tract. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 40, n. 2, p. 183-208, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/713609333> >. Acesso em: 20 maio. 2018.

SANCHES, P.B.C. et al. Influência da ingestão de álcool durante a lactação na origem do alcoolismo **Rev Rene**. nov-dez; 17(6):782-8, 2016. Disponível em: <http://www.periodicos.ufc.br/rene/article/view/6494/4730> >. Acesso em: 15 maio. 2018.

SBRANA, M. et al. Alcohol consumption during pregnancy and perinatal results: a cohort study. **São Paulo Medical Journal**, v. 134, n. 2, p. 146-152, mar. 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/spmj/v134n2/1516-3180-spmj-2015_02040211.pdf >. Acesso em: 15 maio. 2018.

SIEGMUND, S. V.; HAAS, S.; SINGER, M. V, Animal models and their results in gastrointestinal alcohol research. **Digestive Diseases**, v. 23, n. 3-4, p. 181-194, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000090165> >. Acesso em: 24 abril. 2018.

SIMANOWSKI, U. A. et al, Effect of alcohol on gastrointestinal cell regeneration as a possible mechanism in alcohol-associated carcinogenesis. **Alcohol**, v. 12, n. 2, p. 111-115, 1995.

TRAVÉS, C.; CAMPS, L.; LÓPEZ-TEJERO, D. Liver alcohol dehydrogenase activity and ethanol levels during chronic ethanol intake in pregnant rats and their offspring. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 52, n. 1, p. 93-99, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00019-S](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)00019-S) >. Acesso em: 9 março. 2018.

VEIGA, R.K.A. Alterações morfométricas no timo, baço e placas de peyer durante a exposição pré e pós-natal ao álcool. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, 2007.

WU, D; CEDERBAUM, A. I. Oxidative stress and alcoholic liver disease. In: **Seminars in liver disease**. © Thieme Medical Publishers, 2009. p. 141-154.

ZHU, L.; WANG, J. L. Sexual Dimorphism in Histological Structure of Normal Rat Stomach. **Int. J. Morphol.**, Temuco , v. 34, n. 4, p. 1461-1464, 2016 . Disponível em: <http://www.intjmorphol.com/wp-content/uploads/2017/01/art_46_344.pdf>. Acesso em: 20 maio. 2018.

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA

ARQUIVOS DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIPAR

ÓRGÃO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA
UNIVERSIDADE PARANAENSE

Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, v. 12, n. 1, jan./abr. 2008

83

INSTRUÇÕES PARA AUTORES

A revista Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR publica trabalhos inéditos nas áreas das Ciências Biomédicas e da Saúde.

Os artigos podem ser redigidos em português, em inglês ou em espanhol e não devem ter sido submetidos a outros periódicos. Os trabalhos devem ser enviados por meio do Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas - SEER (<http://revistas.unipar.br/saude>), por e-mail (arqsaude@unipar.br) ou remetidas pelo correio, sendo três cópias impressas e uma em disquete ou CD para Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar. Universidade Paranaense. Praça Mascarenhas de Moraes, 4282. 87502-210, Umuarama - PR. Deve ser encaminhada, junto ao trabalho, uma carta de submissão assinada por todos os autores, segundo a ordem de apresentação.

Os originais serão submetidos ao Conselho Editorial e ao Conselho de Consultores que se reserva o direito de avaliar, sugerir modificações para aprimorar o conteúdo do artigo, adotar alterações para aperfeiçoar a estrutura, clareza e redação do texto e recusar artigos. Todas as informações apresentadas pelos autores são de sua exclusiva responsabilidade.

Submissão

Apresentação dos originais

Os artigos devem ser digitados, utilizando-se o programa MS-Winword 7.0, com fonte TNR 12, espaço 1,5, em folha tamanho A4, com margens de 2 cm, indicando número de página no rodapé direito. Os originais não devem exceder 25 páginas, incluindo texto, ilustrações e referências.

A primeira página deve conter o título do trabalho, nome completo do(s) autor(es), identificação profissional, endereço para correspondência, telefone e e-mail.

Na segunda página deve constar o título completo do trabalho, o resumo e as palavras-chave, em português e em inglês, omitindo-se o(s) nome(s) do(s) autor(es).

As figuras, quadros e/ou tabelas devem ser numerados seqüencialmente, apresentados no corpo do trabalho e com título apropriado. Nas figuras o título deve aparecer abaixo das mesmas e, nos quadros ou tabelas, acima. Todas as figuras devem apresentar resolução mínima de 300 dpi, com extensão .jpg. Figuras coloridas serão custeadas pelo autor.

Todas as informações contidas nos manuscritos são de inteira responsabilidade de seus autores. Todo trabalho que utilize de investigação humana e/ou pesquisa animal deve indicar a seção MATERIAL E MÉTODO, sua expressa concordância com os padrões éticos, acompanhado da cópia do certificado de aprovação de Comissão de Ética em Pesquisa registrada pela CONEP, de acordo com o recomendado pela Declaração de Helsink de 1975, revisada em 2000 e com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. Estudos envolvendo animais devem explicitar o acordo com os princípios éticos internacionais (International guiding principles for biomedical research involving animals), bem como o cumprimento das instruções oficiais brasileiras que regulamentam pesquisas com animais (Leis 6.638/79, 9.605/98, Decreto 24.665/34) e os princípios éticos do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

Artigo original (originado de trabalho experimental ou pesquisa de campo) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução; 5. Material e Método; 6. Resultados (este item pode conter, além de texto, tabelas, quadros e figuras). 7. Discussão; 8. Conclusão; 9. Referências.

Artigo de revisão (levantamento bibliográfico com análise crítica sobre um assunto específico) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução;

5. Desenvolvimento; 6. Considerações Finais; 7. Referências.

Relato de caso (apresentação dos fatos de uma observação com metodologia científica) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução; 5. Relato de Caso;
6. Discussão; 7. Conclusão; 8. Referências.

Notas (atividade ou opinião apresentada sem definição de conclusão) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução; 5. Comentários;
6. Referências.

Citações:

Todas as citações presentes no texto devem fazer parte das referências e seguir o sistema autor-data (NBR 10520, ago. 2002). Nas citações onde o sobrenome do autor estiver fora de parênteses, escrever-se-á com a primeira letra maiúscula e o restante minúscula e, quando dentro de parênteses, todas maiúsculas, da forma que segue:

1. Citação direta com até três linhas - o texto deve estar entre aspas. Ex.: Segundo Uchimura et al. (2004, p. 65) “ o risco de morrer por câncer de cérvix uterina está aumentado a partir dos 40 anos ”.
2. Citação direta com mais de 3 linhas - deve ser feito recuo de 4 cm, letra menor que o texto, sem aspas. Ex.:

O comércio de plantas medicinais e produtos fitoterápicos encontra-se em expansão em todo o mundo, em razão de diversos fatores, como o alto custo dos medicamentos industrializados e a crescente aceitação da população em relação a produtos naturais. [...] grande parte da população faz uso de plantas medicinais, independentemente do nível de escolaridade ou padrão econômico. (MARTINAZO; MARTINS, 2004, p. 5)

3. Citação indireta - o nome do autor é seguido pelo ano entre parênteses. Ex.: Para Lianza (2001), os DORT frequentemente são causas de incapacidade laborativa temporária ou permanente.

4. Citação de citação - utiliza-se a expressão apud, e a obra original a que o autor consultado está se referindo deve vir em nota de rodapé. Ex.: O envelhecimento é uma realidade que movimenta diversos setores sociais (GURALNIK et al. apud IDE et al., 2005)

5. Citação com até três autores deve aparecer com ponto e vírgula entre os autores, exemplo: (SILVA; CAMARGO)

6. A citação com mais de três autores deve aparecer o nome do primeiro autor seguido da expressão et al.

REFERÊNCIAS

As REFERÊNCIAS devem ser apresentadas em ordem alfabética de sobrenome e todos os autores incluídos no texto deverão ser listados.

As referências devem ser efetuadas conforme os exemplos abaixo, baseados na NBR 6023, ago. 2002. Para trabalhos com até três autores,

citar o nome de todos; acima de três, citar o primeiro seguido da expressão et al.

Artigos de periódico

MORAIS, I. J.; ROSA, M. T. S.; RINALDI, W. O treinamento de força e sua eficiência como meio de prevenção da osteoporose. Arq.

Ciênc. Saúde Unipar, v. 9, n. 2, p. 129-134, 2005.

OBICI, A. C. et al. Degree of conversion and Knoop hardness of Z250 composite using different photo-activation methods. Polymer

Testing, v. 24, n. 7, p. 814-818, 2005.

Livros - Autor de todo o livro

BONFIGLIO, T. A.; EROZAN, Y. S. Gynecologic cytopathology. New York: Lippincott Raven, 1997. 550 p.

SILVA, P. Farmacologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 1314 p.

Livro - Autor de capítulo dentro de seu próprio livro

SILVA, P. Modelos farmacocinéticos. In: _____. Farmacologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 16-17.

Livro - Autor de capítulo dentro de um livro editado por outro autor principal

CIPOLLA NETO, J.; CAMPA, A. Ritmos biológicos. In: AIRES, M. M. Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 17-19.

Teses, dissertações e monografias

OBICI, A. C. Avaliação de propriedades físicas e mecânicas de compósitos restauradores odontológicos fotoativados por diferentes

métodos. 2003. 106 f. Tese (Doutorado em Materiais Dentários) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas,

Piracicaba, 2003.

SANT'ANA, D. M. G. Estudo morfológico e quantitativo do plexo mioentérico do colo ascendente de ratos adultos normoalimentados

e submetidos à desnutrição protéica. 1996. 30 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Centro de Ciências Biológicas –

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1996.

DANTAS, I. S. Levantamento da prevalência do tabagismo entre alunos do 2o grau noturno da Escola Estadual Manoel Romão Neto

do Município de Porto Rico – PR. 1997. 28 f. Monografia (Especialização em Biologia) – Universidade Paranaense, Umuarama, 1997.

Evento como um todo (em anais, periódico e meio eletrônico)

ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E FÓRUM DE PESQUISA, 4., 2005, Umuarama. Anais... Umuarama: UNIPAR, 2005,

430 p.

REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 20., 2003, Águas de Lindóia. Pesquisa

Odontológica Brasileira. v. 17, 2003, 286 p. Suplemento 2.

CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. Anais eletrônicos... Recife: UFPE, 1996. Disponível em:

<<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

Resumo de trabalho apresentado em evento

VISCONSINI, N. J. C. et al. Grau de translucidez de resinas compostas micro-híbridas fotopolimerizáveis: estudo piloto. In: JORNADA

ODONTOLÓGICA DA UNIPAR, 10., 2005, Umuarama. Anais... Umuarama: UNIPAR, p. 8-11, 2005. CD-ROM.

OBICI, A. C. et al. Avaliação do grau de conversão do compósito Z250 utilizando duas técnicas de leitura e vários métodos de fotoativação.

In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 20., 2003, Águas de Lindóia. Pesquisa

Odontológica Brasileira. v. 17, p. 235, 2003. Suplemento 2.

Periódico on-line

KNORST, M. M.; DIENSTMANN, R.; FAGUNDES, L. P. Retardo no diagnóstico e no tratamento cirúrgico do câncer de pulmão. J.

Pneumologia, v. 29, n. 6, 2003. Disponível em : <<http://www.scielo.br/>>. Acesso em: 10 jun. 2004.

Entidade Coletiva

BRASIL. Ministério da Saúde, Instituto do Câncer, Coordenação de Controle de Câncer (Pro-Onco), Divisão da Educação. Manual de

orientação para o “Dia Mundial sem Tabaco”. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer. 1994. 19 p.

Documentos de acesso exclusivo em meio eletrônico

JORGE, S. G. Hepatite B. 2005. Disponível em: <http://www.hepcentro.com.br/hepatite_b.htm>. Acesso em: 15 fev. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Datasus: informações de saúde. Disponível em: <www.datasus.gov.br/tabnet/tabnet.htm>. Acesso em: 10

fev. 2006.

Documentos jurídicos

BRASIL. Lei no 10216, de 6 de abril de 2001. Estabelece a reestruturação da assistência psiquiátrica brasileira. Diário oficial [da]

República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 abr. 2001.