

EFEITOS DO CLORIDRATO DE TETRACICLINA EM FETOS DE RATAS TRATADAS COM O ANTIBIÓTICO (*Rattus norvegicus*, raça Wistar, var. *albinus*, Rodentia)

José Roberto de Oliveira e SILVA*
Rosilene Fernandes da ROCHA*

- **RESUMO:** Os autores utilizaram ratas prenhas, em diversos períodos de prenhez, nas quais foi administrada, em dose única, o cloridrato de tetraciclina por via intraperitoneal. No 21º dia da prenhez, as ratas foram submetidas a cesarianas, quando então foi contado o número de implantes ou reabsorções, e o número de fetos de cada corno uterino. Processou-se posteriormente à análise histológica de alguns fetos obtidos em diversos períodos da prenhez, para evidenciar-se a distrofia adiposa hepática; relacionando-se então a toxicidade da droga para fetos de ratas, em virtude da dose e do tempo de prenhez das ratas utilizadas.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Roedores; tetraciclina; fígado.

Introdução

Apesar dos resultados contraditórios obtidos pelos diferentes pesquisadores, é inegável que as tetraciclinas, especialmente a clortetraciclina, exercem uma atividade tóxica sobre o fígado. Estas ações tóxicas, ao que se sabe, resultam de um efeito direto sobre o órgão e dependem diretamente da dose antibiótica administrada.

Lepper et al.⁸ foram os primeiros a observarem a ocorrência de hepatotoxicidade causada por tetraciclina em pacientes que receberam grandes doses do antibiótico por via oral ou intravenosa.

Bottiger² afirma que a elevada concentração da tetraciclina nas células hepáticas pode provocar alterações do parênquima, particularmente distrofia adiposa. O estudo microscópico do fígado revela vacúolos finos, alterações citoplasmáticas e aumento da gordura (Zimmerman & Lewis¹³). Todas as tetraciclinas concentram-se no fígado e são excretadas pela bile no intestino, onde são parcialmente reabsorvidas. As

* Departamento de Ciências Fisiológicas – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

concentrações biliares desses antibióticos são pelo menos cinco a dez vezes superiores aos valores simultâneos encontrados no plasma. As alterações na cinética das drogas na gestação são devidas a vários fatores. O aumento da função renal materna, devido a um aumento tanto no fluxo sanguíneo renal como na taxa de filtração glomerular, resulta em aumento de excreção renal daquelas drogas eliminadas pela urina.

Corbett⁴ afirma que o comprometimento hepático pode resultar tanto do uso prolongado, como da administração de doses altas, principalmente por via venosa, com maior risco em gestantes.

A transferência placentária da tetraciclina foi demonstrada pela primeira vez por Guilbeau et al.⁶ As tetraciclina atravessam a placenta, penetrando na circulação fetal e no líquido amniótico. As concentrações de tetraciclina no plasma do cordão umbilical atingem 60% e, no líquido amniótico, 20% dos níveis circulantes da mãe (Goodman & Gilman⁵).

O primeiro caso, no qual o uso da tetraciclina foi associado com a degeneração gordurosa do fígado na gravidez, foi descrito por Schultz et al.,¹¹ embora dois estudos anteriores tenham registrado a doença, mas sem associá-la com a droga (Bruno & Ober³ e Lewis et al.⁹). A hepatotoxicidade induzida pela tetraciclina difere da doença gordurosa hepática aguda da gravidez, pois não está limitada a gestantes e não ocorre reversão da doença após o término da gestação (Kaplan).⁷

O feto pode não ser afetado diretamente, mas como resultado da patologia materna, natimortos e nascimentos prematuros são freqüentes.

O objetivo do nosso trabalho foi relacionar a toxicidade do cloridrato de tetraciclina para fetos de ratas tratadas com o antibiótico, especialmente em relação ao fígado, em virtude da dose e do período de prenhez das ratas utilizadas na experiência.

Material e método

1 Animais utilizados

Foram utilizados 48 ratas virgens, adultas da raça Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*), com 90-100 dias de idade, peso variando entre 200-250 gramas, e dois ratos machos, adultos, com peso ao redor de 250-300 gramas, utilizados para o acasalamento, fornecidos pelo biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP.

As ratas foram divididas em grupos de nove animais cada um, em virtude do número de dias de prenhez, e de um grupo controle constituído por 12 ratas prenhas.

O esquema seguido foi o seguinte:

- GRUPO A** – Foi administrada, em 9 ratas prenhas, no 8º dia de gestação, dose única de cloridrato de tetraciclina por via intraperitoneal. Três receberam 100 mg/kg; três, 200 mg/kg e três, 300 mg/kg do antibiótico.
- GRUPO B** – Foi administrada, em 9 ratas prenhas, no 9º dia de gestação, dose única de antibiótico por via intraperitoneal. Três receberam 100 mg/kg; três, 200 mg/kg e três, 300 mg/kg.
- GRUPO C** – Foi administrada, em 9 ratas prenhas, no 10º dia de gestação, dose única de cloridrato de tetraciclina por via intraperitoneal. Três receberam 100 mg/kg; três, 200 mg/kg e três, 300 mg/kg do antibiótico.
- GRUPO D** – Foi administrada, em 9 ratas prenhas, no 11º dia de gestação, dose única de antibiótico por via intraperitoneal. Três receberam 100 mg/kg; três, 200 mg/kg e três, 300 mg/kg.
- GRUPO E** – Constituído por 12 ratas prenhas em dias diferentes de prenhez, tratadas com solução fisiológica, para controle dos diversos grupos utilizados para administração da droga.

2 Acasalamento de animais

As ratas foram colocadas diariamente com os machos, para o acasalamento, no final da tarde, permanecendo com eles até a manhã seguinte, quando foi coletado o material vaginal para o diagnóstico da prenhez.

3 Diagnóstico da prenhez

Para a verificação da prenhez das ratas, realizou-se o esfregaço vaginal, utilizando-se uma cureta, que, após ser flambada, foi colocada em solução fisiológica a 0,9% e introduzida na vagina da rata, até aproximadamente 0,5 cm do intróito vaginal. Retirou-se assim uma pequena quantidade de secreção que foi colocada numa lâmina de vidro.

As lâminas foram observadas ao microscópio óptico, e a presença de espermatozóides, bem como a verificação da fase estro do ciclo estral foram os fatores considerados para o diagnóstico positivo da prenhez, sendo esse dia considerado como o dia zero da gestação.

Após a constatação da prenhez, as ratas foram separadas para a formação dos grupos experimentais.

4 Laparotomia ou Cesariana das ratas

No 21^o dia da gestação, as ratas foram submetidas à anestesia pelo éter, pesadas e fixadas em decúbito dorsal, numa placa de cortiça.

Após fixação, foi feita incisão mediana no abdômen e exposição dos cornos uterinos.

Foi contado, então, o número de implantes ou reabsorções, e/ou o número de fetos de cada como uterino. Com o auxílio de pinça e de tesoura, os fetos foram retirados e colocados em placa de Petri sob luz, para serem aquecidos.

5 Tratamento dos fetos

Dos fetos retirados de cada rata (período de gestação em média de 21 a 22 dias), usamos em média cinco de cada mãe.

Os fetos foram limpos, secos em papel de filtro, medidos com o auxílio de uma régua e pesados em balança analítica.

Foram analisadas, também, as características do desenvolvimento normal, como implantação das orelhas, olhos, conformação craniana e fenda labial.

6 Técnica Histológica

Para a análise histológica dos fetos, em cada animal foi feita uma incisão na altura do pescoço e do ventre, e ambas as partes foram colocadas em vidros identificados contendo formol a 10% para fixação.

Após 48 horas de fixação das peças torácico-abdominais, o fígado foi retirado, cortado sagitalmente, diafanizado e incluído em blocos de parafina. As peças foram cortadas na espessura de 6 μ , segundo a técnica de rotina, e foram coradas com hematoxilina, eosina e processadas para sua posterior leitura.

Resultado

8^o - Dia de prenhez:

Número de fetos vivos	- 107
Número de reabsorções fetais	- 19
Distrofia adiposa hepática	- pequena intensidade

9^o - Dia de prenhez:

Número de fetos vivos	- 7
Número de reabsorções fetais	- 74
Distrofia adiposa hepática	- grande intensidade

10^o – Dia de prenhez:

Número de fetos vivos	- 19
Número de reabsorções fetais	- 63
Distrofia adiposa hepática	- grande intensidade

11^o – Dia de prenhez:

Número de fetos vivos	- 30
Número de reabsorções fetais	- 63
Distrofia adiposa hepática	- moderada intensidade

Discussão

Sabe-se que as tetraciclinas atravessam a placenta, penetrando na circulação fetal e no líquido amniótico, podendo acarretar lesões no feto e distúrbios metabólicos; esses fatos foram confirmados em nossa pesquisa. Uma forma de alteração celular metabólica, por nós evidenciada nos fetos das ratas utilizadas experimentalmente, foi a do acúmulo anormal de lipídio no fígado dos fetos. Este distúrbio é designado por vários termos: metamorfose gordurosa, degeneração gordurosa, esteatose, distrofia adiposa e depósito ou infiltração gordurosa parenquimatosa.

Distrofia adiposa é, portanto, um distúrbio metabólico das gorduras, porém, muitas vezes as células envolvidas exibem também uma alteração das proteínas, turva ou hidrópica (Anderson & Scott¹). Em preparações rotineiras de parafina, a gordura intracelular é dissolvida de modo que ela aparece (imagem negativa) como pequenos ou grandes vacúolos no citoplasma, o que foi observado em nossa pesquisa, cuja intensidade variou em virtude da dose e do período de prenhez das ratas. Técnicas especiais de coloração são necessárias para a evidenciação da gordura (por ex.: vermelho-escarlate ou Sudan III), usados em cortes por congelamento ou coloração pelo ácido ósmico.

A distrofia adiposa é observada mais freqüentemente no fígado, rins e coração.

As causas da distrofia adiposa, quer do ponto de vista clínico, quer experimental, incluem uma variedade de agentes tóxicos, tais como: toxinas diversas, fósforo, tetracloreto de carbono, clorofórmio, tionina, puromicina, ácido crótico, anoxia resultante de insuficiência circulatória ou anemias graves, etanol e tetraciclinas (Planelles & Jaritonova¹⁰). Sulik & Malcolm,¹² em trabalhos realizados em camundongos – em que fêmeas prenhas foram tratadas com o etanol – em períodos diversos da prenhez, puderam constatar que as más-formações fetais ocorreram em determinadas estruturas dos fetos, em períodos diversos do desenvolvimento uterino.

No nosso trabalho, em que a droga utilizada nas ratas prenhas foi o cloridrato de tetraciclina, o período de maior toxicidade para o feto foi do 9^o ao 10^o dia de prenhez,

fato comprovado pelo grande número de reabsorções fetais e grande intensidade de distrofia adiposa hepática, embora ela estivesse presente em graus diferentes de intensidade em todos os dias estudados.

Conclusão

O cloridrato de tetraciclina utilizado em nossa experiência, administrado por via intraperitoneal nas ratas prenhas, do 8º ao 11º dia de prenhez, atingiu os fetos por meio da via placentária, e apresentou toxicidade, cuja intensidade variou em virtude da dose e do período de prenhez das ratas utilizadas experimentalmente, que se manifestou pelo número de reabsorções fetais e pela distrofia adiposa hepática.

O período de maior toxicidade para o feto foi o 9º e 10º dia de prenhez das ratas, fato comprovado pelo grande número de reabsorções fetais e grande intensidade da distrofia adiposa; o 8º dia foi o de menor toxicidade, embora, como já afirmado anteriormente, a distrofia adiposa estivesse presente em todos os dias estudados.

Agradecimento

Os autores agradecem a Mônica Oliveira Guimarães Figueiredo e Guilherme Ortiz Melo, pelo auxílio na parte técnica, e a Ivoneide Ramos Leandro, Secretária do Departamento de Ciências Fisiológicas, pela execução deste trabalho no microcomputador.

OLIVEIRA e SILVA, J. R. de, ROCHA, R. F. da. Effects of tetracyclin hydrochloride in fetus of rats treated with antibiotic (*Rattus norvegicus*, raça Wistar, var. *albinus*, Rodentia). *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.24, n.1, p.109-115, 1995.

- **ABSTRACT:** *It was used, in this work, pregnant rats injected with intraperitoneal doses of tetracyclin hydrochloride at different stages of pregnancy. At the 21st day it was performed laparoscopy under ether anesthesia, exposed the uterus and counted the number of fetal implantations, reabsortions as well as the number of puppies. It was performed the hystological analysis of the liver of the newborn. It was observed fat distrophy related to the doses and to the time of pregnancy in which tetracyclin was administered.*
- **KEYWORDS:** *Rodentia; tetracyclin; liver.*

Referências bibliográficas

- 1 ANDERSON, W. A. D., SCOTT, M. T. *Sinótese de patologia*. 8.ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica/MEC, 1976. p.24-31.
- 2 BOTTIGER, L. E. On the distribution of cloitetracycline in the body. *Acta Méd. Scand.*, v.151, p.343-8, 1955.
- 3 BRUNO, M., OBER, W. B. Clinicopathologic conference: Jaundice at the end of pregnancy. *N. Y. State J. Med.*, v.62, p.3792-800, 1962.
- 4 CORBETT, C. E. *Farmacodinâmica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p.936-7.
- 5 GOODMAN, S. G., GILMAN, G. A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara, 1987. p.769-70.
- 6 GUILBEAU, J. A. et al. Aureomycin in obstetrics: therapy and prophylaxis. *J. Am. Med. Assoc.*, v.143, p.520-6, 1950.
- 7 KAPLAN, M. M. Acute fatty liver of pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, v.13, p.367-70, 1985.
- 8 LEPPER, M. H. et al. Effect of large dose of aureomycin terramycin and chloramphenicol on livers of mice and dogs. *Arch. Int. Med.*, v.88, p.284, 1951.
- 9 LEWIS, P. L., TAKEDA, M., WARREN, M. J. Obstetric acute yellow atrophy: report of a case. *Obstet. Gynecol.*, v.22, p.121-7, 1963.
- 10 PLANELLES, J., JARITONOVA, A. Nocividad de los antibióticos. Moscú: Editorial Mir, 1967. p.198-242.
- 11 SCHULTZ, J. C. et al. Fatal liver disease after intravenous administration of tetracycline in high dosage. *N. Engl. J. Med.*, v.269, p.999-1004, 1963.
- 12 SULIK, K. K., MALCOLM, C. J. Sequence of developmental alterations following acute ethanol exposure in mice: grand facial fracture of the fetal alcohol syndrome. *Am. J. Anat.*, v.166, p.257-69, 1983.
- 13 ZIMMERMAN, H. J., LEWIS, J. H. Hepatic toxicity of antimicrobial agents. In: _____ . *Contemporary issues in infections diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1984, v.1, p.153-202.

Recebido em 3.7.1994.