

Interface músculo-tendínea de ratos induzidos a ingestão alcóolica

Kleber Fernando Pereira* e Celso Ivan Conegero

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Morfofisiológicas, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. Rua Martim Afonso, nº 25, ap. 09, Zona 01, 87200-000, Cianorte, Paraná, Brasil, tel: (55 44) 261-4689 e (55 44) 629-4965, e-mail: kleber_uem@hotmail.com

RESUMO. A ingestão de grandes quantidades de álcool etílico pode afetar os mais variados sistemas do corpo humano. Nos músculos, sabe-se que o álcool provoca atrofia precoce, degeneração e déficit motor das fibras musculares, podendo levar a sua necrose. Objetivamos, neste estudo, analisar a sua influência na interface músculo-tendínea. Para tanto, utilizamos 12 ratos wistar (*Rattus norvegicus*), divididos em grupo A (controle), tratados com água potável e ração comercial, e B (experimental), que receberam aguardente diluída a 30°G.L. e ração comercial por um período de 100 dias. Após o sacrifício, coletamos os músculos flexores do membro anterior direito, que foi fixado em solução de Bowin por 48 horas e experimentaram as técnicas de rotina histológica para inclusão em parafina. De acordo com a metodologia empregada, verificamos que houve alterações histológicas, tais como o acúmulo de tecido adiposo na região de interface músculo-tendínea e desestruturação das fibras musculares nos animais experimentais. Podemos inferir que, na dosagem utilizada, o álcool etílico provoca alterações histológicas na interface músculo-tendínea.

Palavras-chave: Álcool etílico, interface músculo-tendínea, ratos.

ABSTRACT. *Rats muscle-tendon interface induced to alcoholic ingestion.* The intake of big amounts of ethylic alcohol can affect many different systems of the human body. In the muscles, alcohol can cause early atrophy, degeneration and motor deficit of muscle fibers, which can cause fiber's necrosis. In this study we aim at analyzing the influence of ethylic alcohol on the muscle – tendon interface. For it, 12 wistar rats were used (*Rattus norvegicus*). They were divided in two groups: A (control), treated with potable water and commercial ration and group B (experimental), they received sugar-cane brandy diluted in 30°G.L. and commercial ration, during 100 days. After sacrifice, the flexor muscles of right anterior paws were collected. They were fixed in Bowin solution for 48 hours and the routines of histological technique was performed for the inclusion in paraffin. As noticed in the methodology used, histological alterations, occurred, such as accumulation of adipose tissue in the interface muscle-tendon region and muscular fiber loss of organization in experimental animals. We can infer that, in the dosage used, the ethylic alcohol causes histological alterations in muscle-tendon interface.

Key words: Ethylic alcohol, muscle-tendon interface, rats.

Introdução

A ingestão de grandes quantidades de álcool etílico provoca alterações metabólicas e patológicas nos mais variados sistemas do organismo humano. Altera as funções do sistema nervoso, o metabolismo da glicose, lipídios e proteínas e, particularmente, altera os aspectos nutricionais de órgãos como pâncreas, estômago e intestino (Korsten e Lieber, 1979; Hirata e Hirata, 1991).

Nos músculos, sabe-se que o álcool provoca atrofia precoce, degeneração de fibras musculares, acúmulo e infiltrado inflamatório, atrofia das fibras

musculares do tipo II, déficit motor das fibras musculares, podendo levar a sua necrose (Jordo *et al.*, 1975; Ruben *et al.*, 1976; Levy *et al.*, 1984; Levy, 1991; Martin e Peters, 1985; Andreo, 2001; Preedy *et al.*, 2001; Torrejais *et al.*, 2002; Adachi *et al.*, 2003).

A presença de neuropatia periférica foi descrita há muito tempo por autores como Lettsom (1787) e Jackson (1822), e especificamente sobre a miopatia alcóolica Hed *et al.* (1955) e Perkoff *et al.* (1966). Este último autor descreve que a miopatia alcóolica causa sintomas de dor, inchaço, fraqueza muscular e que

as enzimas musculares são extremamente aumentadas nos alcoólicos.

A principal alteração histológica observada é a necrose maciça das fibras musculares, com freqüentes imagens de degeneração cética de Zencker (processo de necrose que começa com a hialinização acidofílica dos sarcômeros, ocorrendo fraturas de miofibrila freqüentemente através das linhas Z, como descrito por Robbins e Cotran, 1983). Paralelamente, observa-se proliferação mitocondrial difusa e formação de “type-grouping” (agrupamentos alterando a forma de mosaico das fibras musculares, Martinez *et al.*, 1973).

Ferraz *et al.* (1989) efetuaram exame clínico e histológico muscular em vinte e dois pacientes alcoólicos crônicos e encontraram graus variáveis de fraqueza muscular que evoluiu a quadro agudo de miopatia. As principais alterações histológicas observadas nos pacientes foram a atrofia muscular e a formação de *type-grouping*, além de proliferação mitocondrial e paralelamente acúmulo lipídico.

Preedy *et al.* (2003), estudando humanos, relatam que a doença muscular induzida pela ingestão de álcool etílico (seja crônica ou aguda) é um termo composto para descrever qualquer patologia do músculo (molecular, bioquímica, estrutural ou fisiológica), muito importante para o entendimento das miopatias, principalmente a miopatia alcoólica.

Song e Rubin (1972) apresentaram evidências de que o álcool tem ação tóxica direta sobre o músculo, independente de qualquer fator nutricional. Essa ação se basearia na inibição da recapturação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático.

Quanto à metodologia empregada, autores como Martinez (1993), Cagnon (1996) e Pereira *et al.* (2002) utilizaram solução alcoólica a 30° e observaram efeitos nos respectivos sistemas estudados, o que nos permitiu utilizar a concentração acima mencionada.

Devido à escassez de informações sobre a influência da ingestão alcoólica nos tendões, o objetivo deste trabalho foi analisar a ação do álcool na interface músculo-tendínea de ratos.

Material e métodos

Foram utilizados 12 animais de laboratório, *Rattus norvegicus* da variedade albinus e linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. Os animais foram mantidos em ciclos de claro/escuro (12 por 12 horas) sob condições controladas de temperatura (21°C), renovação de ar e ração (Nuvilab™) *ad libitum* e foram divididos em dois grupos:

- O grupo A (grupo controle), composto de 6 ratos machos, que foram mantidos em 2 gaiolas com 3 animais cada;
- O grupo B (grupo experimental), composto de 6 ratos machos, que foram mantidos em 2 gaiolas com 3 animais cada.

Para o grupo A, oferecemos ração comercial e água potável *ad libitum*. Para o grupo B, oferecemos ração comercial *ad libitum*, porém a água foi substituída por aguardente de cana (marca “51”, 39°-G1, Indústrias Muller, Pirassununga, SP, Brasil). Aos 21 dias, após o desmame, os ratos passaram por um período de adaptação, sendo fornecidos aos mesmos aguardente de cana de 10° por 10 dias, 15° por 11 dias, 20° por 12 dias e 25° por 12 dias e diluída a 30° a partir dos 66 dias. O modelo de alcoolismo adotado foi “semivoluntário”, no qual a aguardente foi a única fonte de líquido disponível para o animal.

Ao completarem 125 dias, os animais foram anestesiados através de injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico (Hypnol - 40%mg/kg de peso corporal) e os músculos flexores do membro anterior direito de cada animal foram retirados. Em seguida foram sacrificados com overdose de injeção intraperitoneal pentobarbital sódico. Após a fixação em solução de Bowin, o material foi reduzido a pequenos blocos, desidratado em série ascendente de álcoois, diafanizado com xilol e incluído em parafina para a realização de cortes longitudinais de 5 µm. Os cortes foram corados pelos métodos de Hematoxilina e Eosina, analisado, nos quais as lâminas selecionadas foram documentadas em fotomicroscópio Olympus BX-50 do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná, Brasil.

Resultados

Na análise histológica dos músculos flexores do membro anterior direito de *Rattus norvegicus*, verificamos que nos animais do grupo controle a interface músculo-tendínea não apresentava tecido adiposo em suas imediações nem fibras musculares desestruturadas (Figuras 1 e 2), enquanto que nos animais do grupo experimental observamos que as junções músculo-tendíneas apresentaram-se com aspecto irregular, mostrando uma desestruturação das fibras musculares e um grande contingente de células adiposas (Figuras 3 e 4).

Discussão

O presente estudo teve por objetivo analisar o efeito do álcool etílico a 30° na interface músculo-

tendínea em ratos, metodologia empregada para verificar o efeito do alcoolismo em outros sistemas, como descrito por Martinez (1993), Cagnon (1996) e Pereira *et al.* (2002).

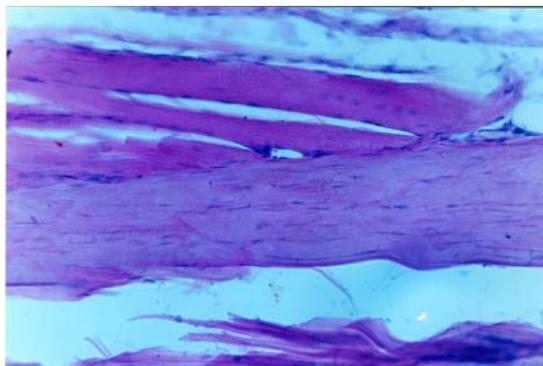


Figura 1. Micrografia de corte longitudinal de 05 µm na região de inserção músculo-tendínea, evidenciando fibras musculares e tendão. Animal controle, Hematoxilina Eosina 306x.



Figura 2. Micrografia de corte longitudinal de 05 µm na região de inserção músculo-tendínea, evidenciando fibras musculares. Animal controle, Hematoxilina Eosina 612x.

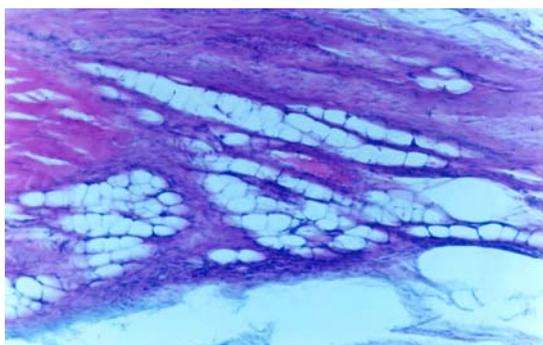


Figura 3. Micrografia de corte longitudinal de 05 µm na região de inserção músculo-tendínea, evidenciando desestruturação de fibras musculares e um grande contingente de células adiposas. Animal experimental, Hematoxilina Eosina 151x.

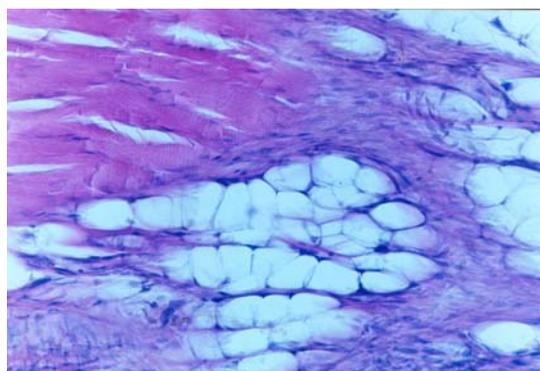


Figura 4. Micrografia de corte longitudinal de 05 µm na região de inserção músculo-tendínea, evidenciando grande concentração de células adiposas. Animal experimental, Hematoxilina Eosina 306x.

A influência do alcoolismo nos diferentes sistemas do organismo foi descrita por Lieber (1984) e Hirata e Hirata (1991), enquanto que a influência do alcoolismo sobre os músculos foi descrita por autores como (Jordo *et al.*, 1975; Ruben *et al.*, 1976; Levy *et al.*, 1984, Martin e Peters, 1985; Levy, 1991; Andreo, 2001; Preedy *et al.*, 2001; Torrejais *et al.*, 2002; Adachi *et al.*, 2003), os quais mencionam que o álcool provoca atrofia precoce, degeneração de fibras musculares, acúmulo e infiltrado inflamatório, atrofia das fibras musculares do tipo II, déficit motor das fibras musculares, podendo levar a sua necrose.

Lettsom (1787), Jackson (1822), Hed *et al.* (1955) e Perkoff *et al.* (1966) descrevem que a miopatia alcóolica causa sintomas de dor, inchaço, fraqueza muscular e que as enzimas musculares são extremamente aumentadas nos alcóolicos.

Os sintomas mais freqüentes dos efeitos do alcoolismo nos músculos são parestesias, dores e déficit motor, iniciando-se nas porções mais distais e nos membros inferiores, aparecendo as amiotrofias mais tardias, como relata Levy (1991).

Os autores acima mencionados não estudaram diretamente os seus efeitos na interface músculo-tendínea, e devido à escassez de trabalhos referentes aos efeitos da ingestão alcóolica sobre o tecido muscular, nossa discussão fica limitada aos trabalhos correlatos, conforme descrito acima, mas, podemos inferir que, ao analisarmos a interface músculo-tendínea, ocorreram alterações nesse tecido, com aumento de tecido adiposo, o que pode caracterizar a degradação do tecido muscular, o que está em concordância com os achados de Ferraz *et al.* (1989), que afirmam que as principais alterações histológicas observadas nos pacientes são a atrofia muscular e a formação de “type-grouping” (agrupamentos alterando a forma de mosaico das fibras musculares), além de proliferação mitocondrial e paralelamente

acúmulo lipídico. Nossos achados corroboram os de Levy (1991), que menciona que os efeitos do alcoolismo sobre o tecido muscular inicia-se nas porções distais dos músculos.

Acreditamos que com a realização deste estudo estamos oferecendo subsídios morfológicos para realização de tratamentos que visam à recuperação do tecido muscular após tratamento de pacientes alcoólicos.

Conclusão

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos, podemos inferir que os animais do grupo experimental houve alteração na morfologia da junção músculo-tendínea, bem como a deposição de tecido adiposo nas proximidades dessas junções, caracterizando uma desestruturação na interface músculo – tendão.

Referências

- ADACHI, J. *et al.* Alcoholic muscle disease and biomembrane perturbations. *J. Nutr. Biochem.*, New York, v. 14, p. 616-625, 2003.
- ANDREO, J. C. *Histoenzimologia dos músculos da mastigação de ratos (Rattus norvegicus) alcoolizados*. 2001. Tese (Doutorado). Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- CAGNON, V. H. A. Ultrastructural study of the coagulating gland of wistar rats submitted to experimental chronic alcohol ingestion. *Prostate*, New York, v. 28, p. 341-346, 1996.
- FERRAZ, M. L. *et al.* Estudo histoquímico do músculo esquelético no alcoolismo crônico. *Arq. Neuropsiquiatr.*, New York, v. 47, n. 2, p. 139-149, 1989.
- HED, R. *et al.* Acute myoglobinuria in alcoholism. *Acta Med. Scand.*, Oslo, v. 15, p. 1459-1462, 1955.
- HIRATA, E. S.; HIRATA, L. C. M. Bioquímica e metabolismo do etanol. In: FORTES, J. R. A.; CARDO, W. N. *Alcoolismo: diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Sarvier, 1991. p. 57-64
- JACKSON, J. On a peculiar disease resulting from the use of ardent spiritus. *J. Med. Surg.*, v. 11, p. 351, 1822.
- JORDO, L.; OLSSON, R.; ZETTERGREN, L. Effects of long-term administration of alcoholic beverages on the kidney, heart, skeletal muscle and pancreas of rats. *J. Stud. Alcohol*, Piscataway, v. 36, n. 9, p. 1131-1138, 1975.
- KORSTEN, M. A.; LIEBER, C. Nutrição no alcoólico. *Med. Clin. N. Am.*, Lawrence, v. 63, p. 963-72, 1979.
- LETTSON, J. C. Some remarks on the effects of lignum quassiae amarae. *Mem. Med. Soc. Lond.*, London, v. 2, p. 128, 1787.
- LEVY, J. A. Polineuropatias alcólicas. In: FORTES, J. R. A.; CARDO, W. N. *Alcoolismo: diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Sarvier, 1991. p. 57-64
- LEVY, J. A.; MION, C.; LEVY, A. Diagnóstico e tratamento das miopatias metabólicas. *J. Bras. Med.*, Ribeirão Preto, v. 47, p. 44 – 49, 1984.
- LIEBER, C. S. Metabolism and metabolic effects of alcohol. *Med. Clin. N. Am.*, Lawrence, v. 65, p. 3-31, 1984.
- MARTIM, F.; PETERS, T. J. Alcoholic muscle disease. *Alcohol Alcohol.*, Oxford, v. 20, p. 125-36, 1985.
- MARTINEZ A. J.; HOOSHMAND, H.; FARIS A. A. Acute alcoholic myopathy. Enzyme histochemistry and electron microscopy findings. *J. Neurol. Sci.* v. 20, p. 245-248, 1973.
- MARTINEZ, F. E. Ultrastructural study of the ventral lobe of the prostate of rats submitted to experimental chronic alcoholism. *Prostate*, New York, v. 22, p. 1-8, 1993.
- PEREIRA, M. A. S. *et al.* Alcohol effects on the Principal and Clear cells of the Caput Epididymis of Albino rats. *Anat. Histol. Embryol.*, Berlin, v. 31, p. 1-4, 2002.
- PERKOFF, G. T.; HARDY, P.; VÉLEZ GARCIA, E. Reversible acute muscular syndrome in chronic alcoholism. *N. Engl. J. Med.*, London, v. 274, p. 1277-80, 1966.
- PREEDY, V. R. *et al.* Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis. *Eur. J. Neurol.*, London, v. 8, p. 677-687, 2001.
- PREEDY, V. R. *et al.* The importance of alcohol-induced muscle disease. *J. Muscle Res. Cell. Motil.*, Dordrecht, v. 24, p. 55-63, 2003.
- ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S. *Patologia estrutural e funcional*. Rio de Janeiro: Interamericana, 1983.
- RUBEN, E. *et al.* Muscle damage produced by chronic alcohol consumption. *Am. J. Pathol.*, Bethesda, v. 83, p. 499-516, 1976.
- SONG, S. K.; RUBIN, E. Ethanol produces muscle damage in human volunteers. *Science*, New York, v. 175, p. 327-33, 1972.
- TORREJAIS, M. *et al.* Histochemical and SEM evaluation of the neuromuscular junctions from alcoholic rats. *Cell Tissue Res.*, Tachtung, v. 34, n. 2, 117, 2002.

Received on June 04, 2003.

Accepted on June 01, 2004.