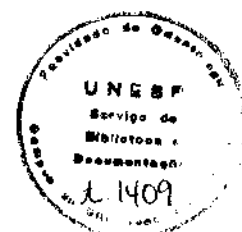


**ANA LOURDES DA SILVA MACHADO**

**INFLUÊNCIA DA TETRACICLINA NO DESENVOLVIMENTO  
HEPÁTICO E RENAL DE FILHOTES DE RATAS**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Curso de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, Área de Concentração em Biopatologia Bucal.**

**Orientador: Profa. Dra. Rosilene Fernandes da Rocha**



**São José dos Campos  
2000**

† D691  
v 1191  
j 1409

**RIBEIRO, J.F. et al. *Roteiro para redação de monografias, trabalhos de cursos, dissertações e teses.* São José dos Campos, 1994. 63p.**

**MACHADO, A.L.S. *Influência da tetraciclina no desenvolvimento hepático e renal de filhotes de ratas.* São José dos Campos, 2000. 80p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".**

Meus pais, pelo exemplo de vida,  
Meus irmãos pela amizade e cumplicidade,  
Meus sobrinhos pela alegria,  
dedico - lhes com amor e carinho este trabalho.

---

## AGRADECIMENTOS

À Direção da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos pela oportunidade e consentimento para meu aperfeiçoamento profissional.

Ao Prof. Adjunto Antonio Olavo Cardoso Jorge pela iniciativa na criação do Curso de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal que tanto contribuiu para o crescimento desta unidade.

Ao Departamento de Biopatologia e Diagnóstico pela compreensão e apoio dado durante a realização deste trabalho.

Às Professoras Adjuntas Carmelinda Schmidt Unterkircher e Yasmin Rodarte Carvalho, aos Professores Doutores Luis Eduardo Blumer Rosa e Mônica Fernandes Gomes, não só pela transmissão dos conhecimentos, mas pelo incentivo, apoio, cooperação e compreensão durante a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Terezinha de Oliveira Nogueira pela amizade e estímulo na minha participação na primeira turma de mestrado deste curso.

Às colegas do Curso de Pós-Graduação, Cláudia M. O. M. da Silva, Maria Lúcia Coutinho (*in memoriam*), Emília Ângela L.

Arisawa (Mirela) e Maria Stella C. A. Zöllner pela amizade, incentivo, oportunidade, colaboração e apoio técnico.

Às secretárias Terezinha de Fátima Arantes de Melo e Silvia Scarpel não só pela amizade, mas também pela prestimosa colaboração na finalização da digitação.

À Sra. Ângela de Brito Bellini, Diretora do Serviço de Biblioteca e Documentação, pela orientação e paciência na revisão das normas de apresentação deste trabalho e a todas as funcionárias da Biblioteca pela dedicada colaboração em todos os momentos.

Às secretárias do Curso de Pós-Graduação, pela atenção cuidadosa no desenvolvimento e orientação no decorrer do curso.

Ao Ricardo pela atenção, trabalho e dedicação na confecção dos materiais didáticos.

Aos funcionários do Biotério desta Faculdade, Lourival e Antonio pelos serviços prestados durante a fase experimental.

A todas as estagiárias, que com muita atenção e presteza me auxiliaram, para que eu pudesse me dedicar com tranqüilidade na realização deste trabalho.

Ao Luciano Müller Lima pelo auxílio na área da informática.

À Ayde Gonçalves Alves pela amizade sincera sempre presente, pelo carinho, atenção e ensinamentos técnicos, o meu muito obrigado.

À Profa. Dra. Rosilene Fernandes da Rocha pela sábia, competente e paciente orientação em todas as etapas deste trabalho.

À Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão  
pela boa vontade, paciência e dedicação  
no auxílio dos resultados e fotografias.

À Profa. Dra. Elisabete Moraes, pela sabedoria  
e conhecimentos didáticos sempre presentes,  
que me ajudaram a solucionar questões durante o curso.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	07
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	09
3 PROPOSIÇÃO.....	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 Material.....	32
4.2 Metodologia.....	32
5 RESULTADOS.....	36
5.1 Análise histológica dos fragmentos hepáticos.....	36
5.2 Análise histológica dos rins.....	42
6 DISCUSSÃO.....	54
7 CONCLUSÕES.....	66
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
RESUMO.....	79
<i>ABSTRACT</i> .....	80

# 1 INTRODUÇÃO

Infecções causadas por microrganismos durante a gestação podem envolver tanto a mãe quanto o feto e requerem atenção dos profissionais de saúde. O tratamento destas com agentes antimicrobianos complica-se pelo fato de muitas substâncias serem tóxicas tanto para a genitora quanto para o bebê (Moellering<sup>48</sup>, 1979).

O cuidado com o uso de medicamentos durante a gravidez e os efeitos adversos que esses podem produzir no embrião e feto, tiveram maior repercussão após a tragédia da talidomida no início dos anos 60, droga preconizada como isenta de efeitos indesejados e que, no entanto, provocou deformações em membros superiores e inferiores (Wannmacher & Ferreira<sup>81</sup>, 1995; Schüler et al.<sup>67</sup>, 1998).

Entre os vários medicamentos usados durante a gravidez estão os antibióticos. Muitos profissionais os prescrevem indiscriminadamente em pacientes grávidas, usando a mesma posologia que em pacientes não grávidas (Landers et al.<sup>41</sup>, 1983). Durante este período, ocorrem no organismo várias alterações fisiológicas, como o aumento do volume sangüíneo, da taxa de filtração glomerular e da atividade metabólica, reduzindo assim a concentração sérica do medicamento em 10 a 50%, levando à necessidade de uma posologia



adequada para gestantes (Balligan & Hale<sup>7</sup>, 1993; Montgomery<sup>50</sup>, 1998).

Além de alterações das respostas terapêuticas durante a gestação, o efeito teratogênico dos medicamentos é de suma importância. A teratogênese pode induzir malformações congênitas por erro na programação genética, medicamentos, radiação, infecções e estados metabólicos maternos anormais (Beckman & Brent<sup>8</sup>, 1984).

O efeito de um medicamento sobre o feto em desenvolvimento depende do tipo de agente e da idade gestacional na qual a substância foi administrada. Uma lesão na fase embrionária, que vai da concepção até o 17<sup>o</sup> dia, pode resultar em aborto ou não, ou seja, efeito “tudo ou nada”. No desenvolvimento embrionário que se inicia no 18<sup>o</sup> dia até o 55<sup>o</sup> dia, ocorrem etapas básicas da organogênese. Portanto é um período de máxima sensibilidade, visto que não apenas os tecidos se diferenciam rapidamente, mas o comprometimento será tanto maior quanto mais precocemente ocorrer a lesão. Na fase fetal, que corresponde do 56<sup>o</sup> ao termo, os efeitos das drogas limitam-se geralmente aos defeitos de crescimento e perda de função, e não de anomalias estruturais. (Silvany Filho<sup>71</sup>, 1980; Wannmacher & Ferreira<sup>81</sup>, 1995; Hanretty & Whittle<sup>31</sup>, 1996; Schüler et al.<sup>67</sup>, 1998).

As tetraciclinas foram altamente associadas ao risco teratogênico humano, segundo o protocolo desenvolvido pelo Recurso Automatizado de Teratologia Clínica nos Estados Unidos (Friedman et al.<sup>24</sup>, 1990).

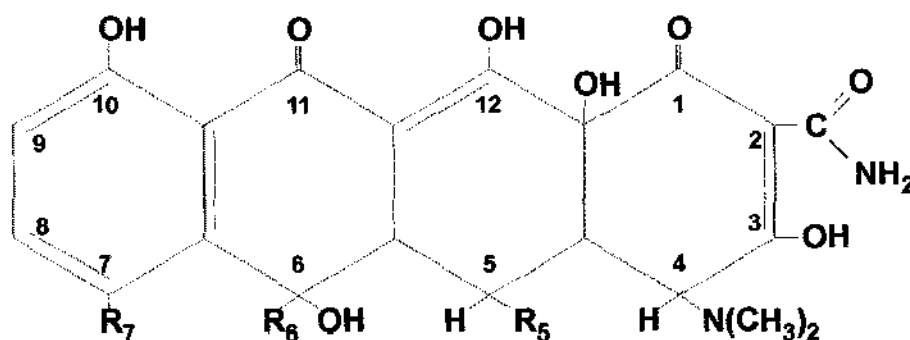
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Tetraciclínas

O desenvolvimento das tetraciclínas resultou de pesquisas de amostras de solo em várias regiões à procura de microrganismos produtores de antibióticos. Desde a descoberta da primeira tetraciclina, a clortetraciclina, a partir de culturas do *Streptomyces aureofaciens* por Duggar em 1948, muitas alterações químicas foram feitas na molécula básica, resultando em numerosos análogos como a oxitetraciclina, produzida a partir de *S. rimosus*, em 1950. Em 1953, foi obtida a tetraciclina básica por via semi-sintética e fermentação. A demetilclortetraciclina surgiu de cepa mutante, ficando disponível em 1959; a metaciclina e a doxiciclina em 1961 e 1962 e a minociclina em 1966. Outros homólogos foram desenvolvidos mas não tiveram aceitação clínica (Ory<sup>57</sup>, 1970; Tavares<sup>75</sup>, 1996; Kapusnik-Uner et al.<sup>38</sup>, 1996).

As tetraciclínas possuem um amplo espectro contra bactérias aeróbicas e anaeróbicas gram positivas e negativas utilizadas no tratamento de várias infecções, além de serem preconizadas em doenças respiratórias na Medicina Veterinária (Vaala et al.<sup>78</sup>, 1987).

As tetraciclínas inibem a síntese protéica ligando-se reversivelmente a subunidade 30S do ribossoma bacteriano, impedindo que o ácido ribonucléico transportador (RNA-t) se ligue àquela subunidade (Neu<sup>51</sup>, 1978). São derivadas de um núcleo com quatro anéis e diferem em relação às posições 5, 6 e 7, conforme esquema (Beckman & Brent<sup>8</sup>, 1984; DeLucia<sup>22</sup>, 1991; Wannmacher & Ferreira<sup>81</sup>, 1995; Jawetz<sup>35</sup>, 1998; Montgomery<sup>50</sup>, 1998).



	R <sub>7</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>5</sub>
Clortetraciclina	- Cl	- CH <sub>3</sub>	- H
Oxitetraciclina	- H	- CH <sub>3</sub>	- OH
Tetraciclina	- H	- CH <sub>3</sub>	- H
Doxiciclina	- H	- CH <sub>3</sub>	- OH
Minociclina	- N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	- H	- H

Na Odontologia estudos mostram que a tetraciclina, minociclina, oxitetraciclina e clortetraciclina fixam-se às superfícies de raízes dentárias e retêm suas atividades antimicrobianas, sugerindo

efetividade no tratamento ou prevenção de infecções dentárias (Baker et al.<sup>6</sup>, 1983). O tratamento com cloridrato de tetraciclina na superfície da dentina aumentou a retenção da fibronectina, que estimula o crescimento e adesão de fibroblastos enquanto suprime o crescimento e adesão das células epiteliais, beneficiando o tratamento dos dentes envolvidos na doença periodontal (Wikesjö et al.<sup>85</sup>, 1986, Terranova et al.<sup>76</sup>, 1986). Em cães, o uso tópico da doxiciclina em defeitos ósseos no periodonto favoreceu a regeneração (Al-Ali et al.<sup>1</sup>, 1989).

Na periodontite juvenil são altamente eficazes contra o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* por serem encontradas em grande concentração no fluido gengival (Montgomery<sup>50</sup>, 1998).

São administradas por via oral, parenteral e tópica, sendo a intramuscular pouco utilizada, pois provoca dor e reação inflamatória; na veterinária incluem-se as vias subcutânea e a intraperitoneal (Ory<sup>57</sup>, 1970; Blanchflower et al.<sup>14</sup>, 1997; Jawetz<sup>35</sup>, 1998; Montgomery<sup>50</sup>, 1998).

A absorção pode ocorrer no trato gastrointestinal, variando conforme as formulações e diferenças individuais. A absorção e os níveis séricos das tetraciclinas encontram-se aumentados quando administradas em jejum, pois em suas estruturas químicas existem numerosos sítios que permitem a formação de quelatos com cátions metálicos, bastante estáveis e insolúveis. Os íons ferro possuem maior afinidade do que outros e a formação daqueles prejudica a absorção. A

ingestão simultânea de antiácidos, leite e derivados afeta também a absorção das mesmas (Ory<sup>57</sup>, 1970; Neuvonen<sup>52</sup>, 1976; Prober<sup>60</sup>, 1991).

O uso concomitante de tetraciclinas e contraceptivos orais pode reduzir a eficácia destes, predispondo a uma gravidez indesejada (Gibson & McGowan<sup>27</sup>, 1994).

Em virtude da redução da atividade da protrombina, pacientes que estiverem sendo medicados com anticoagulantes, devem ter uma redução na dosagem das tetraciclinas com orientação médica (Andrade<sup>5</sup>, 1999).

As tetraciclinas são bem distribuídas na maioria dos tecidos e líquidos orgânicos incluindo saliva, líquido prostático, sêmen, líquido pleural, suor e leite, chegando a 50% da concentração plasmática (Montgomery<sup>50</sup>, 1998 ).

A principal via de eliminação da maioria das tetraciclinas são os rins (exceto a doxiciclina), embora concentrem-se no fígado, sendo excretadas através da bile para o intestino, onde são reabsorvidas pela circulação entero-hepática (Kapusnik-Uner et al<sup>38</sup>, 1996, Montgomery<sup>50</sup>, 1998).

## **2.2 Tetraciclinas em animais**

### **2.2.1 Período embrionário**

O efeito da tetraciclina no desenvolvimento embrionário do esqueleto em larvas de equinoderma nas concentrações de 8 a 15

mg% mostrou retardo nas clivagens e o esqueleto exibiu fluorescência. Nas concentrações de 25 a 30 mg% houve alteração na formação do esqueleto e concentrações maiores inibiram totalmente o desenvolvimento larval (Bevelander et al.<sup>11</sup>, 1960).

A tetraciclina foi introduzida em gemas de embriões fertilizados e, após 24 horas foi localizada no esqueleto dos animais. Os ossos dos embriões que receberam as doses de 2,5 a 5,0mg estavam diminuídos e arqueados, com pouca mineralização, reduzindo o tamanho do embrião (Bevelander et al.<sup>12</sup>, 1960).

O cloridrato de tetraciclina, administrado oralmente a galinhas na concentração de 200mg por tonelada de ração, mostraram fluorescência nos fêmures dos embriões com nove, 12 e 14 dias (Rolle et al.<sup>63</sup>, 1962).

As doses de 40 a 80 mg/Kg de tetraciclina, entre o oitavo e décimo quinto dias de gestação em ratas, causaram queda na média do peso fetal (Cohlan et al.<sup>17</sup>, 1963). Já a dose de 85mg/kg, por dois a cinco dias, no 14<sup>o</sup> dia de gestação, ocasionou abortos, nascimentos prematuros, placentas com degeneração e involução secundária na morte dos embriões (Steiner et al.<sup>73</sup>, 1965).

Os hepatócitos de fetos de porcos mini, cujas mães foram submetidas a clortetraciclina na metade do período gestacional, na dose de um a dois gramas por seis dias, apresentaram variações mitocondriais, quanto ao tamanho e forma; o retículo endoplasmático não

se alterou assim como a distribuição de glicogênio e gordura (Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986).

O cloridrato de tetraciclina nas doses únicas de 100, 200 e 300mg/kg, por via intraperitoneal, entre o oitavo e décimo primeiro dia de gestação em ratas, levou à reabsorções fetais e distrofia adiposa hepática nos fetos numa relação dose - dependente, principalmente quando a substância foi administrada no nono e décimo dias de gestação (Oliveira e Silva & Rocha<sup>56</sup>, 1995).

### 2.2.2 Filhotes

Ratos com duas semanas de vida, submetidos por cinco dias a 5mg/kg de cloridrato de tetraciclina, revelaram presença de fluorescência na dentina e no esmalte de incisivos e molares, além de inibir a calcificação (Bevelander et al.<sup>13</sup>, 1961).

Aves recém-nascidas, que receberam tetraciclina na concentração de 200mg e 400mg por tonelada de ração durante duas semanas, mostraram intensa fluorescência nos ossos longos e porções da epífise dos fêmures, ossos do crânio e mandíbulas, não sendo detectada fluorescência nos animais sacrificados após três meses (Rolle et al.<sup>63</sup>, 1962).

Ratos com duas semanas de vida, desmamados, submetidos a 150 mg/kg de tetraciclina, via intramuscular, por cinco dias,

apresentaram no incisivo intenso depósito do medicamento na dentina em desenvolvimento e no osso alveolar adjacente (Cohlan et al.<sup>17</sup>, 1963).

A dose diária de 50mg/kg de tetraciclina durante 14 dias produziu em ratos nefropatia tubular transitória. As alterações começaram a surgir no terceiro dia com diminuição das mitocôndrias e dilatação tubular. Sete dias após, as células continham no seu interior debris celulares e conteúdo eosinofílico; as células epiteliais apresentavam núcleos grandes, nucléolos proeminentes e freqüentes figuras mitóticas. As alterações glomerulares eram mínimas, consistindo unicamente de mitoses nas células endoteliais. Apesar da terapia ter continuado por duas semanas, a arquitetura renal praticamente já havia retornado ao normal com desaparecimento das evidências de degeneração e regeneração (Lindquist & Fellers<sup>45</sup>, 1966).

Ratas jovens submetidas a dose única de 250mg/kg de tetraciclina foram sacrificadas em vários períodos. Após 30 minutos, os grânulos de glicogênio desapareceram, com entumescimento discreto da mitocôndria. Três horas depois, ocorreu dilatação mitocondrial e do retículo endoplasmático. Apareceram pequenas gotículas de gordura delimitadas por membrana e enormes gotículas sem delimitação nos hepatócitos da região centrolobular. Nos animais sacrificados em seis e doze horas, os hepatócitos centrolobulares exibiram dilatação e abundância de gotículas gordurosas. Algumas áreas sofreram picnose nuclear e ruptura de organelas. Nas células da periferia lobular, o retículo



endoplasmático encontrava-se dilatado e alguns desprovidos de ribossomos com gotículas gordurosas esparsas. Por todos os lóbulos, especialmente nas zonas centrolobulares, as células de Kupffer tornaram-se proeminentes, com citoplasma aumentado e presença de fagossomos repletos de detritos celulares. Nos animais sacrificados após 24 horas observaram-se células necróticas e aumento de gotículas gordurosas (Damjanov & Solter<sup>20</sup>, 1971).

Ratos em fase de amamentação que receberam o cloridrato de tetraciclina do quarto ao 38<sup>o</sup> dias de vida, numa dose diária de 80mg/kg, via oral, sacrificados em vários períodos, apresentaram após quatro dias, hepatócitos com pequenos vacúolos, localizados próximos às veias centrais. Nas células com citoplasma escuro, houve aumento da densidade mitocondrial, retículo endoplasmático granular diminuído e pequena quantidade de glicogênio. Nas células com citoplasma mais claro, o retículo endoplasmático liso era bem desenvolvido e o núcleo grande. Após oito dias, a maioria dos hepatócitos exibiu numerosos vacúolos gordurosos, retículo endoplasmático escasso e pouco glicogênio. Dez dias depois, os hepatócitos continham vacúolos grandes e únicos, bem circundados por membrana. As células com citoplasma claro apresentaram escassez de mitocôndrias, enquanto nas de citoplasma escuro, abundância. Apresentaram maior freqüência nos feixes de fibras colágenas encontrados nos espaços perivasculares e por entre os hepatócitos com quantidade moderada de glicogênio. Após trinta

e 34 dias, as gotículas gordurosas desapareceram, não havia presença de glicogênio e muitos hepatócitos apresentavam dois núcleos. No citoplasma, observavam-se dilatações dos retículos endoplasmáticos e mitocôndrias. A presença das fibras colágenas circundadas por fibroblastos encontraram-se aumentadas nos espaços porta e próximo aos vasos sinusóides (Hagel-Lewicka et al.<sup>30</sup>, 1980).

Bezerros que receberam dose única de 44mg/kg de oxitetraciclina apresentaram após seis dias, doença respiratória e foram medicados novamente com a mesma substância por quatro dias, nas dose diárias de 22 mg/kg. No décimo dia, os bezerros começaram a morrer chegando a 48% de mortalidade no 14<sup>o</sup> dia. Nos achados histopatológicos, os rins continham nefrose do túbulo cortical e picnose nuclear. Os túbulos distais e ductos coletores na medula eram preenchidos por materiais hialino e granular e não apresentaram degeneração hepatocelular (Alexander et al.<sup>3</sup>, 1984).

### 2.2.3 Prenhez

Ratas submetidas à 85mg/kg, por dois a cinco dias, de tetraciclina, mostraram depósitos gordurosos localizados na periferia dos lóbulos hepáticos com aumento das figuras de mitoses, ausência de glicogênio e áreas centrais com perda mitocondrial. No rim, as alterações foram nos túbulos coletores da córtex e na junção cortical-

medular com degeneração; além de figuras de mitose e gotículas gordurosas (Steiner et al.<sup>73</sup>, 1965).

Ratas prenhas e não prenhas, submetidas a tetraciclina, via intravenosa, na dose de 100mg/kg durante três dias, mostraram que as concentrações lipídicas no fígado foram semelhantes (Lewis et al.<sup>44</sup>, 1967).

Os efeitos da clortetraciclina nas doses de 1 a 2g/kg ao dia por seis dias, administrada a porcas mini foram alterações nas mitocôndrias, tanto na forma quanto na quantidade, aumento no número de vacúolos autofágicos contendo restos de organelas e inclusões gordurosas com redução de glicogênio. Em algumas células, o retículo endoplasmático e as gotículas gordurosas encontravam-se aumentados (Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986).

#### 2.2.4 Adultos

As células hepáticas de ratos que receberam diariamente 50mg/kg de tetraciclina, por via oral no período de 22 dias, estavam dilatadas e entumescidas, com núcleo ora picnótico ora cariolítico; presença de degeneração vacuolar e células necróticas, com sinusóides estreitos e comprimidos. Ao redor dos espaços porta e duto biliar haviam células inflamatórias. As veias centrais e intralobulares estavam dilatadas e repletas de eritrócitos, com células de Kupffer dilatadas e algumas descamando para dentro dos espaços sinusóides. No rim, além da

proliferação intersticial, encontravam-se glomérulos ampliados e congestos, com raras figuras de mitoses endoteliais e degeneração vacuolar no epitélio tubular (Hayashi<sup>33</sup>, 1961).

Produtos tóxicos da tetraciclina foram estudados em ratos com doses únicas de 1000mg/kg, via oral e em cães com doses intravenosas de 10mg/kg administradas no primeiro dia e 20mg/kg no segundo dia. A maioria dos ratos apresentou proteinúria e glicosúria após 24, 48 e 72 horas. As alterações microscópicas consistiram de necrose nos túbulos proximais e picnose nuclear. Em cães, foi encontrada quantidade acima do normal de uréia no sangue, após 96 horas da segunda dose e a maioria dos túbulos estavam completamente preenchidos por material necrótico e granular. Em algumas regiões, o núcleo encontrava-se picnótico e, em outras, o citoplasma mostrava-se vacuolizado (Benitz & Diermeier<sup>9</sup>, 1964).

Doses de 10 a 40mg/kg de minociclina por trinta dias, via endovenosa, provocou anemia hemolítica em cães, escurecimento da glândula tireóide em macacos (30mg/kg - via oral), cães (40, 20, 10 e 5mg/kg - via intravenosa) e ratos (75, 25 e 8mg/kg - via oral). Ratos e cachorros apresentaram depósitos de pigmentos na tireóide, às vezes associados a hiperplasia, raramente visto em macacos. Nos ratos, o comprimento dos fêmures indicou que a tetraciclina não alterou o crescimento do esqueleto, embora tenham apresentado uma cor amarelada (Benitz et al.<sup>10</sup>, 1967).

A administração intravenosa de 100mg/kg do cloridrato de tetraciclina em ratos mostrou acúmulo de triglicerídeos no fígado, com aumento de 67% em três horas (Breen et al.<sup>15</sup>, 1972).

A administração intraperitoneal do cloridrato de tetraciclina a ratas levou ao desenvolvimento de vacuolização nos hepatócitos. Essas mudanças foram observadas em todos os animais que receberam 200 e 300mg/kg, discretas nas 24h, alcançando o máximo em 48h. Nos animais que receberam 100mg/kg, os hepatócitos só apresentaram alterações nas 72 e 96h, com moderado grau de vacuolização. No entanto, nos que receberam 50mg/kg, só foi possível detectar acúmulo de gordura na microscopia eletrônica (Shauer et al.<sup>69</sup>, 1974).

Exame de urina em cães cuja dose diária de tetraciclina foi de 40mg/kg num período de 14 dias, mostrou traços de proteinúria, piúria e hematúria. As células apresentaram degeneração hidrópica, lúmen dos túbulos proximais dilatados, espessamento da membrana basal, núcleo picnótico e células necróticas. Embora os túbulos tenham sido vistos quase sempre normais, as mitocôndrias estavam entumescidas e retículo endoplasmático dilatado; todavia, os glomérulos não apresentaram alterações (Öbek et al.<sup>53</sup>, 1974).

Cães que receberam 130mg/Kg de oxitetraciclina, por dois dias, apresentaram glicosúria, albuminúria, hematúria, neutrofilia, linfopenia, monocitose e moderada desidratação, além de necrose tubular

aguda com vacuolização epitelial na junção corticomedular (Stevenson<sup>74</sup>, 1980).

Em culturas primárias de hepatócitos de cães, na presença do cloridrato de tetraciclina, nas concentrações de 25 a 200 µg/ml, apresentaram aumento de inclusões lipídicas dependentes da concentração (Amacher & Martin<sup>4</sup>, 1997).

## **2.3 Tetraciclinas em humanos**

### **2.3.1 Período intra-uterino**

Charles<sup>16</sup>, 1954, citado por Cohan et al.<sup>17</sup>, 1963, observou que espécimes de ossos como fêmur, costelas, mandíbulas e dentes de um prematuro, cuja mãe recebeu durante três semanas antes do parto um grama de tetraciclina, mostraram intensa fluorescência nas regiões mineralizadas causadas pelo medicamento.

A administração maternal diária de 600mg/kg, via oral, de demetilclortetraciclina por três a seis dias antes do parto, mostrou que os níveis médios do medicamento encontrados no cordão umbilical foram maiores do que os atingidos em recém-nascidos a termo e prematuros após 10 dias de administração diária de 48mg/kg da substância (Gibbons & Reichelderfer<sup>26</sup>, 1960).

Um recém-nascido apresentou deformidade bilateral de mãos, cuja mãe recebeu tetraciclina por quatro dias, no início da gravidez (Cohan, et al.<sup>17</sup>, 1963).

Mulheres em trabalho de parto, que receberam 500mg/kg de oxitetraciclina intravenosa, apresentaram níveis sanguíneos do medicamento no cordão umbilical nas primeiras horas após a administração. Nos nascimentos ocorridos após 13 horas foram encontrados ainda níveis da substância no cordão fetal (Monfort et al.<sup>49</sup>, 1963).

O fígado de um prematuro, cuja mãe recebeu tetraciclina, revelou vacúolos no citoplasma, com núcleo central, sinusóides comprimidos e áreas portais com características de normalidade (Davis & Kaufman<sup>21</sup>, 1966).

Um estudo demonstrou que o nível de tetraciclina no cordão umbilical e no fluído amniótico alcança respectivamente 60 e 20% do nível materno (Leblanc & Perry<sup>42</sup>, 1967).

Fetos cujas mães foram medicadas com tetraciclina mostraram fluorescência na tíbia. Além disso, uma criança a termo, um prematuro e um natimorto apresentaram fluorescência no quinto artelho (Tötterman & Saxén<sup>77</sup>, 1969).

Uma mulher que recebeu terapia com tetraciclina em doses que variaram de 170 a 340mg/Kg durante oito semanas, após a última menstruação, deu à luz a uma criança que, além do baixo peso, apresentou orelhas de implantação baixa, pregas epicânticas proeminentes, micrognatia com hipoplasia mandibular, escápulas

deformadas, contração generalizada das juntas com desenvolvimento muscular deficiente, cardiomegalia, hipoplasia genital e complicações respiratórias (Corcoran & Castles<sup>18</sup>, 1977).

### 2.3.2 Infância

Wallman & Hilton<sup>80</sup>, 1962 citados por Cohan et al.<sup>17</sup>, 1963, observaram que crianças tratadas com tetraciclina durante o período neonatal, apresentaram maior grau de pigmentação nos dentes decíduos além de maior incidência de deformidades associadas ao esmalte (hipoplasia), incisivos, caninos e molares do que aquelas que receberam como tratamento a oxitetraciclina.

Avaliando uma série de crianças entre seis e 12 anos acompanhadas desde a infância, que receberam tetraciclina (6mg/kg) e demetiltetraciclina (10mg/kg) por seis dias, constataram-se manchas nos dentes incisivos quando estes foram administrados durante o período de formação da coroa. Depois dos quatro anos e meio para meninas e cinco para meninos, não houve correlação entre a coloração do incisivo e a exposição às tetraciclinas (Grossman et al.<sup>29</sup>, 1971).

Fendas labiais em crianças, acompanhadas ou não de fissuras palatinas, foram observadas num grupo de mulheres que receberam durante os primeiros meses de gestação, antibióticos dentre os quais, as tetraciclinas (Saxén<sup>65</sup>, 1975).



### 2.3.3 Gestação

Quatro pacientes grávidas (vinte a 22 semanas) com pielonefrite, medicadas com altas doses de tetraciclina (2, 4, 3 e 6g/dia por três a nove dias - via intravenosa), apresentaram icterícia, azotemia, acidose e choque terminal, indo a óbito alguns dias após a terapia. Os achados microscópicos revelaram pequenas gotículas de gordura envolvendo todas as porções dos lóbulos hepáticos com ausência de necrose e reação inflamatória, havendo no rim de uma delas, gordura no epitélio tubular (Schultz et al.<sup>68</sup>, 1963).

Cinco pacientes grávidas, variando de seis a 39 semanas, com pielonefrite tratadas com um a dois gramas da tetraciclina apresentaram disfunções hepáticas e pancreáticas. Espécimes de fígado mostraram pequenas gotículas gordurosas, predominantemente na região centrolobular, ausência de infiltrado inflamatório ou necrose celular. Na paciente que foi a óbito ocorreu lesão difusa envolvendo inteiramente o lóbulo, grandes gotículas intracelulares e estase biliar com predomínio neutrofílico nas áreas de acúmulo da bile (Whalley et al.<sup>82</sup>, 1964).

Mulheres grávidas que receberam terapia com tetraciclina (1g a 4g/d por um a nove dias) apresentaram icterícia e azotemia. Os hepatócitos mostraram gotículas de gordura dispersas no citoplasma celular por todo o lóbulo, com focos inflamatórios e fenômenos

hemorrágicos e degeneração gordurosa nas células tubulares (Davis & Kaufman<sup>21</sup>, 1966).

Um grupo de mulheres grávidas saudáveis, variando do primeiro ao terceiro trimestre, tratadas com tetraciclina nas doses de 0,6 a 2g/d durante três dias, revelaram nos hepatócitos a presença de conteúdo gorduroso dose-dependente (Allen & Brown<sup>2</sup>, 1966).

Devido à persistência de febre, náusea, vômito e dor abdominal em grávida, a medicação foi mudada para tetraciclina, com doses diárias de 2 a 4g durante seis dias. O medicamento induziu falência hepática e renal revelando vacuolização gordurosa nos hepatócitos, focos de necrose e sinusóides periportais preenchidos por hemácias. O rim exibiu extensa necrose caracterizada por eosinofilia e cariorrexe nuclear, envolvendo um quinto dos túbulos proximais e a maioria dos ramos descendentes dos raios medulares; além de pequenas gotículas gordurosas nas células tubulares proximais com glomérulos repletos de hemácias (Lew & French<sup>43</sup>, 1966).

Sessenta e cinco por cento da dose de 500mg de tetraciclina, via intravenosa, administrada em mulheres grávidas e não grávidas, foi recuperada em 24 horas na urina e 10% ainda se achava presente após 48 horas. Os níveis do medicamento no fígado foram maiores do que os níveis séricos, não havendo diferenças significantes entre os grupos estudados (Whalley et al.<sup>83</sup>, 1966).

#### 2.3.4 Adultos

Uma mulher com pneumonia foi medicada com 3 g, intravenosa, de tetraciclina por cinco dias, passando a 1g por três dias e 1g de oxitetraciclina por três dias. Como resultado, apresentou o parênquima hepático vacuolizado, na maioria vacúolos grandes e únicos, com deslocamento nuclear, ausência de necrose e estase biliar sem aumento de fibrose tissular. Nos rins, as alterações limitaram-se aos túbulos renais e as células epiteliais exibiram pequenos vacúolos gordurosos e núcleos aumentados (Horwitz & Marymont Junior<sup>34</sup>, 1964).

Durante o tratamento com tetraciclina, nas doses de um a três gramas num período de cinco a 14 dias, seis mulheres desenvolveram falência renal por oligúria, aumento de nitrogênio no sangue, icterícia, seguida de choque ou coma e morte. Os achados microscópios foram semelhantes, constando de vacuolização na parte centrolobular do fígado, com células periféricas parcialmente necrosadas. Duas dessas pacientes mostraram também dissociação dos cordões hepáticos, bile nos pequenos ductos das áreas portais e vacuolização gordurosa, distribuída de maneira uniforme por todo o parênquima (Schiffer<sup>66</sup>, 1966).

Mulheres que receberam terapia com tetraciclina nas doses diárias de um a três gramas, num intervalo de dois a 13 dias, por via oral e parenteral, mostraram alterações hepáticas severas nas regiões centrais dos lóbulos. Estas constaram de pequenas

vacuolizações, dissolução parcial das membranas intercelulares, resíduos necróticos e debris celulares nas células de Kupffer (Peters et al.<sup>58</sup>, 1967).

Pacientes administradas com um grama de cloridrato de tetraciclina por via intravenosa mostraram alterações renais semelhantes, com presença de numerosos cristais de oxalato de cálcio localizados nos túbulos proximais e distais da córtex e nos túbulos da medula. Alguns túbulos da córtex mostraram degeneração, infiltrado inflamatório intersticial difuso, com predomínio de linfócitos e plasmócitos e fibrose glomerular (Kuzucu<sup>40</sup>, 1970).

A terapia intravenosa com cloridrato de tetraciclina, em idoso, na dose de 3g/d por nove dias, mostrou nos hepatócitos gotículas gordurosas envolvendo todas as porções lobulares, com discreto infiltrado linfocitário e ausência de necrose. No rim, observaram necrose tubular e vacuolização gordurosa nas células epiteliais dos túbulos proximais (Robinson & Rywlin<sup>62</sup>, 1970).

A dose de 1g/d de minociclina por cinco dias, desenvolveu numa mulher, após dez dias, febre, letargia, dor lombar bilateral, náusea, glomerulonefrite aguda com leucocitose, neutrofilia e proteinúria. O quadro histopatológico revelou inflamação intersticial intensa, constituída de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, com alguns túbulos infiltrados principalmente de linfócitos. As estruturas glomerulares apresentaram características de normalidade e células inflamatórias

mononucleares encontravam-se dispersas em alguns capilares. Na imunofluorescência notou-se a presença de IgA depositada entre as bordas de alguns túbulos proximais e parede arteriolar (Walker et al.<sup>79</sup>, 1979).

Uma jovem tratada oralmente com 100 a 150mg diárias de minociclina por três anos, apresentou pigmentação cutânea generalizada de coloração azul acinzentada escuro. Estudos laboratoriais indicaram normalidade no sistema hepático, renal, hematopoiético e endócrino. Biopsias de diversas áreas mostraram aumento de pigmento na porção basal da epiderme e pigmento marrom escuro dispersos nos macrófagos da derme, revelado como melanina (Simons & Morales<sup>72</sup>, 1980).

Por períodos de tempo variados, quatro pessoas receberam 200mg de minociclina oral e todos apresentaram pigmentação azul acinzentada. Histologicamente foi demonstrada a presença de macrófagos carregados de hemossiderina dispersos na derme (Fenske et al.<sup>23</sup>, 1980).

Três homens submetidos de 100 a 200mg diárias de minociclina por vários meses apresentaram pigmentação nas pernas que variaram de marrom a azul acinzentado. Uma abundância de pigmentação marrom escuro era evidente na derme. Os grânulos compostos de ferro encontravam-se nas células mononucleares perivasculares (McGrae Junior & Zelickson<sup>46</sup>, 1980).

A dose diária de 200mg de minociclina mostrou, após alguns meses, pigmentações nas pernas, tornozelos, unhas, dentes, inclusive em cicatrizes. Biopsias das regiões pigmentadas mostraram depósitos de ferro no citoplasma de macrófagos (Ridgway et al.<sup>61</sup>, 1982).

Um jovem medicado com altas doses de cloridrato de tetraciclina e minociclina por três anos revelou coloração amarelo brilhante nos ossos do crânio. Cortes histológicos dos linfonodos abdominais e torácicos mostraram fluorescência no citoplasma dos macrófagos. A tireóide variou de marrom a azul escuro, sugestivo de hemorragia antiga ou ocronose, cujas células epiteliais mostraram pigmentos intracitoplasmáticos fluorescentes (White & Besanceney<sup>84</sup>, 1983).

Após doses altíssimas de minociclina em homem associada a grande exposição solar, notou-se pigmentações na face, pernas, dentes, unhas, esclerótica e clavícula, tendo sido revelados grânulos de ferro localizados no citoplasma de histiócitos perivasculares na derme (Wolfe & Reichmister<sup>86</sup>, 1984).

Pacientes tratados com minociclina mostraram macrófagos carregados de pigmentos de ferro, principalmente os localizados nas regiões perivasculares. A análise de raio X, que dispersa energia, revelou que esses depósitos eram compostos não só de ferro, mas de tetróxido de ósmio, cálcio, cloro, enxofre e potássio (Gordon et al.<sup>28</sup>, 1985).

Pelo que foi citado na literatura, é clara a atividade patogênica da tetraciclina, restando a dúvida da capacidade de recuperação dos órgãos afetados, o que influenciou na decisão de realizar o presente trabalho.

### **3 PROPOSIÇÃO**

Este trabalho tem por objetivo observar a morfologia hepática e renal de filhotes de ratas, após administração do cloridrato de tetraciclina no décimo dia de gestação, verificando os possíveis fenômenos regenerativos e/ou cicatriciais que podem ocorrer nos órgãos estudados.



## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Material**

#### **4.1.1 Animais**

Esta pesquisa foi realizada de acordo com a proposta ao Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa de nº 10/99- PA/CEP.

Foram utilizadas 15 ratas adultas, virgens, da raça Wistar (*Rattus norvegicus*, var. albinus) com noventa dias de idade, pesando em torno de 200 a 250 g. Os machos utilizados no acasalamento e as fêmeas foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, e mantidos sob boas condições higiênicas, alimentícias e de temperatura.

### **4.2 Metodologia**

#### **4.2.1 Acasalamento dos animais**

As fêmeas eram colocadas junto aos machos sempre ao final do dia para o acasalamento, com os quais permaneciam até a manhã do dia seguinte. A prenhez foi verificada pela presença de espermatozóides e células da fase estro no material vaginal colhido.

#### 4.2.2 Diagnóstico da prenhez

O esfregaço vaginal das ratas foi realizado com auxílio de uma alça de platina que, após flambada, foi mergulhada numa solução fisiológica ( NaCl 0,9%) esterilizada e em seguida introduzida no canal vaginal.

A secreção colhida de cada rata foi espalhada numa lâmina histológica com a própria alça de platina. Enviadas ao laboratório e com o auxílio do microscópio de luz, pôde - se observar a presença de espermatozóides e as células da fase estro. A partir deste teste, foi considerado o dia zero da gestação.

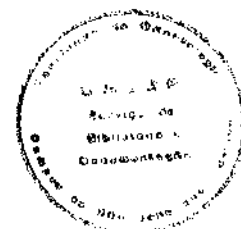
#### 4.2.3 Tratamento dos animais

Após o diagnóstico positivo da prenhez, as ratas foram separadas ao acaso em grupos tratados e um grupo não tratado (controle).

Três ratas, fizeram parte do grupo controle e 12 dos grupos tratados, sendo três ratas em cada grupo.

Todas as ratas, no décimo dia de gestação, foram submetidas a doses únicas de tratamento, sendo que as ratas do grupo controle receberam 0,5ml de solução fisiológica (NaCl 0,9%) estéril. As 12 ratas restantes, dos grupos tratados, receberam o cloridrato de tetraciclina, por via intraperitoneal. No primeiro grupo (G1), a dose foi de 25mg/kg, no segundo (G2) de 50mg/kg, no terceiro (G3) de 75mg/kg e no

L. 1409



quarto (G4) de 100mg/kg.

#### 4.2.4 Medicamentos

Utilizamos o cloridrato de tetraciclina\* diluído em solução fisiológica (NaCl 0,9%) esterilizada nas doses de 25, 50, 75 e 100mg/kg para os grupos tratados.

Para o sacrifício dos animais, foi utilizado o cloridrato de cetamina - 2-[0-clorofenil]2-[metilamino] cloridrato de ciclohexanona\*\*, um anestésico geral, não barbitúrico e o cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3 tiazina\*\*\* um sedativo, analgésico e relaxante muscular na proporção de 1:0,5 ml, na dose de 0,1ml/100g, via intramuscular.

#### 4.2.5 Procedimento

Após 21 dias de gestação, dois filhotes de cada rata, tanto do grupo controle quanto dos grupos tratados, foram sacrificados ao nascimento e aos dez, vinte e trinta dias de vida.

Após a anestesia, os animais foram sacrificados, postos em decúbito dorsal e, com o auxílio de uma tesoura, foi realizado uma incisão desde a região genital até a torácica. O fígado e um dos rins dos filhotes foram retirados e fixados em formol 10%.

---

\*Ao Farmacêutico

\*\*Ketalar - Parker Davis

\*\*\*Rompun - Bayer

Em seguida, os rins foram hemi-seccionados e dos fígados retirados fragmentos significativos para a análise histológica realizada no microscópio de luz. Para realização deste estudo, os espécimes foram submetidos à técnica histológica, que consiste na desidratação, diafanização, inclusão em parafina e execução dos cortes seriados de cinco micrômetros utilizando o micrótomo (Leica RM 20 25).

Todas as lâminas confeccionadas foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (H.E.). O Periodic Acid Shchiff (PAS) foi a histoquímica utilizada para complementar a análise histopatológica.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Análise histológica dos fragmentos hepáticos**

Todos os dados referentes a análise histológica dos fragmentos hepáticos encontram-se na Tabela 1.

#### **5.1.1 Recém-nascidos**

Os cortes histológicos de fígado de recém-nascidos (RN) de ratas controle (RNC) apresentaram focos dispersos de vacúolos no interior do citoplasma em quantidade moderada, variando de tamanho pequeno a médio. A arquitetura hepática apresentou discreta dilatação sinusoidal e não foram vistos sinais de necrose ou inflamação (Figura 1a).

Os animais tratados com a dose de 25mg/kg (RNGI) apresentaram vacuolização difusa, moderada, composta por vacúolos pequenos e médios semelhantes aos recém-nascidos controle (RNC). Observou-se ainda moderada dilatação nos sinusóides, sem ocorrência de necrose ou inflamação.

Nos animais com a dose de 50mg/kg (RNGII) foi observada vacuolização intensa, com distribuição difusa, sendo os vacúolos de tamanhos variados. Completam o quadro histológico

dilatação sinusoidal, necrose moderada e discreta inflamação (Figura 3 a).

Os animais com a dose de 75mg/kg (RNGIII) apresentaram vacuolização intensa e difusa, mais acentuada na região subcapsular, composta de vacúolos médios e grandes. Os sinusóides encontravam-se intensamente dilatados, com moderada necrose e inflamação. Neste grupo, os animais começaram a apresentar uma pequena quantidade de células de Kupffer.

A análise histológica dos animais com a dose de 100mg/kg (RNGIV) mostrou quadro semelhante aos animais submetidos à dose de 75mg/kg (Figura 3 b).

Não foram observados indícios de regeneração e nem grânulos de glicogênio nos recém-nascidos, tanto do grupo controle como do tratado. Observaram-se focos de hematopoiese extra-medular em todos os animais recém-nascidos.

#### 5.1.2 Animais com dez dias de vida

Os animais do grupo controle (10dC) apresentaram pequena quantidade de grânulos de glicogênio em alguns hepatócitos e em células de Kupffer e ausência de vacuolização (Figura 1b).

Aqueles com a dose de 25mg/kg (10dGI) apresentaram vacuolização discreta composta de vacúolos de tamanho médio, células de Kupffer e pequenas quantidades de hepatócitos hipertrofiados e

mitoses. Não foram observadas necrose, inflamação e dilatação sinusoidal.

Os filhotes com a dose de 50mg/kg (10dGII) apresentaram vacuolização discreta, com vacúolos pequenos e pouca quantidade de sinusóides dilatados, além de necrose, inflamação, células de Kupffer, hipertrofia de hepatócitos e mitoses (Figura 4 a).

Aqueles com a dose de 75mg/kg (10dGIII) exibiram os mesmos aspectos histológicos observados nos 10dGII, vários hepatócitos com aspectos grumosos do citoplasma, associada à vacuolização discreta e também quantidade aumentada de hepatócitos hipertrofiados.

Nos animais tratados com a dose de 100mg/kg (10dGIV) as únicas diferenças no quadro histológico foram o aumento na quantidade de células de Kupffer e uma grande quantidade de hepatócitos hipertrofiados (Figura 4 b).

Em todos os grupos tratados observaram-se pequenos grânulos de glicogênio em vários hepatócitos e em células de Kupffer, além de alguns focos de hematopoiese extra-medular tanto nos animais controle quanto nos tratados.

### 5.1.3 Animais com vinte dias de vida

Nos filhotes de ratas do grupo controle (20dC) observou-se ausência de vacuolização, necrose, inflamação e dilatação sinusoidal. Verificou-se pequena quantidade de células de Kupffer e ausência de

hepatócitos hipertrofiados e mitose. Os cordões hepáticos começaram a ficar organizados (Figura 2 a).

Os animais com a dose de 25mg/kg (20dGI) apresentaram discreta vacuolização, composta de pequenos e médios vacúolos, concentrados na região subcapsular associada a aspecto grumoso do citoplasma e ainda discreta dilatação dos sinusóides, inflamação localizada no espaço porta, focos de hepatócitos hipertrofiados, poucas mitoses e células de Kupffer e ausência de necrose.

Nos filhotes com a dose de 50mg/kg (20dGII) notou-se discreta vacuolização, composta de vacúolos médios e grandes, localizados principalmente na região subcapsular, vários hepatócitos com citoplasma grumoso, focos de dilatação sinusoidal e de inflamação próximos ao espaço porta e ausência de necrose. Em quantidade moderada foram vistas células de Kupffer e mitoses, além de hepatócitos hipertrofiados em maior quantidade que no grupo anterior (Figura 5 a).

Nos animais com a dose de 75mg/kg (20dGIII) observou-se na região subcapsular discreta vacuolização, composta de pequenos vacúolos, citoplasma grumoso em vários hepatócitos, leve inflamação e dilatação sinusoidal. Foram vistas células de Kupffer e hepatócitos hipertrofiados em quantidade moderada, poucas mitoses e ausência de necrose.



Nos filhotes com a dose de 100mg/kg (20dGIV) notou-se discreta vacuolização com vacúolos pequenos e médios, citoplasma grumoso em alguns hepatócitos, discreta inflamação, dilatação sinusoidal e mitose. As células de Kupffer e os hepatócitos hipertrofiados encontravam-se nas mesmas quantidades vistas nos animais do grupo anterior. A necrose estava ausente em todos os animais deste grupo (Figura 5 b).

Em todos os grupos foram encontrados grânulos de glicogênio em quantidade moderada em vários hepatócitos e células de Kupffer, tanto nos animais tratados quanto nos controles. Os hepatócitos hipertrofiados apresentaram grande quantidade de glicogênio, sendo mais acentuado no grupo II. Nenhum animal de vinte dias apresentou hematopoiese extramedular.

#### 5.1.4 Animais com trinta dias de vida

Nos animais controle com trinta dias de vida (30dC) não foram observadas vacuolização, necrose, inflamação, dilatação dos sinusóides, mitoses ou hipertrofia de hepatócitos e os cordões hepáticos encontravam-se organizados (Figura 2 b).

Naqueles com a dose de 25mg/kg (30dGI) notou-se discreta vacuolização, composta de pequenos e médios vacúolos na região subcapsular, moderada dilatação dos sinusóides, inflamação e

hepatócitos hipertrofiados, além de pequena quantidade de mitoses e ausência de necrose.

Os animais com a dose de 50mg/kg (30dGII) apresentaram discreta vacuolização com vacúolos de todos os tamanhos, ausência de necrose, discreta inflamação e dilatação dos sinusóides, além de moderada quantidade de mitoses e hipertrofia de hepatócitos (Figura 6 a).

Os filhotes tratados com a dose de 75mg/kg (30dGIII) apresentaram discreta quantidade de inflamação, dilatação de sinusóides e mitoses. Verificou-se também hipertrofia de hepatócitos em grande quantidade, ausência de vacuolização e de necrose.

Os animais com a dose de 100mg/kg (30dGIV) mostraram discretos focos de inflamação, dilatação sinusoidal e mitoses. Neste grupo observamos grande quantidade de hepatócitos hipertrofiados, ausência de vacuolização e necrose (Figura 6 b).

Em todos os animais com trinta dias de vida encontramos moderada quantidade de grânulos de glicogênio em células de Kupffer e vários hepatócitos, sendo que os hepatócitos hipertrofiados coraram-se mais intensamente. A ocorrência de células de Kupffer foi observada de forma semelhante tanto nos animais tratados quanto nos controles.

## **5.2 Análise histológica dos rins**

Os dados referentes aos achados histológicos do rim encontram-se na Tabela 2.

### **5.2.1 Animais recém-nascidos**

Os animais controle (RNC) não apresentaram necrose tubular e nem mitoses nos túbulos contorcidos e alça de Henle. Nos recém-nascidos dos grupos 1 e 2 (RNGI e II) foram observadas necrose em algumas células epiteliais dos túbulos. Os animais dos grupos 3 e 4 (RNGIII e IV) mostraram grande quantidade de células necrosadas descamando-se em direção à luz dos túbulos, sendo mais intensa no grupo 4.

Todos os animais recém-nascidos, tratados ou não, apresentaram glomérulos em fase final de formação na região cortical, vacuolizações nos túbulos contorcidos e alça de Henle e ausência de mitoses nos túbulos.

### **5.2.2 Animais com dez dias de vida**

Os animais controle (10dC) mostraram pequena quantidade de vacuolizações nos túbulos contorcidos e alça de Henle, com ausência de necrose e mitoses tubulares. Os animais dos grupos tratados cujas doses foram de vinte e cinco e 50 mg/kg do cloridrato de tetraciclina (G1 e 2) apresentaram aumento de mitoses na alça de Henle

com relação aos grupos de animais que receberam setenta e cinco e 100mg/kg do medicamento (G3 e 4). Todos os animais tratados apresentaram vacuolizações numa quantidade maior do que as observadas nos animais controle. Verificamos em todos os grupos tratados com a tetraciclina discreta necrose no epitélio tubular e mitoses nos túbulos contorcidos (Figuras 7a e 7b).

### 5.2.3 Animais com vinte dias de vida

Nos animais controle não foram observadas vacuolizações e mitose tubulares. Somente ocorreu discreta presença de mitoses na alça de Henle.

Os animais tratados com as doses de 25 e 50mg/kg (G1 e 2) não mostraram vacuolizações e necroses tubulares. Os animais do grupo 1 apresentaram mitoses na alça de Henle e os do grupo 2, além da alça de Henle, apresentaram mitoses nos túbulos contorcidos. Os animais dos grupos 3 e 4 mostraram discretas vacuolizações e mitoses tanto nos túbulos contorcidos como nas alça de Henle.

### 5.2.4 Animais com trinta dias de vida

Todos os animais tanto do grupo controle quanto dos grupos tratados não mostraram quaisquer alterações histológicas observadas nos demais períodos estudados, ou seja, todos os animais

tratados sacrificados com trinta dias de vida apresentaram aspectos de normalidade nas estruturas renais.

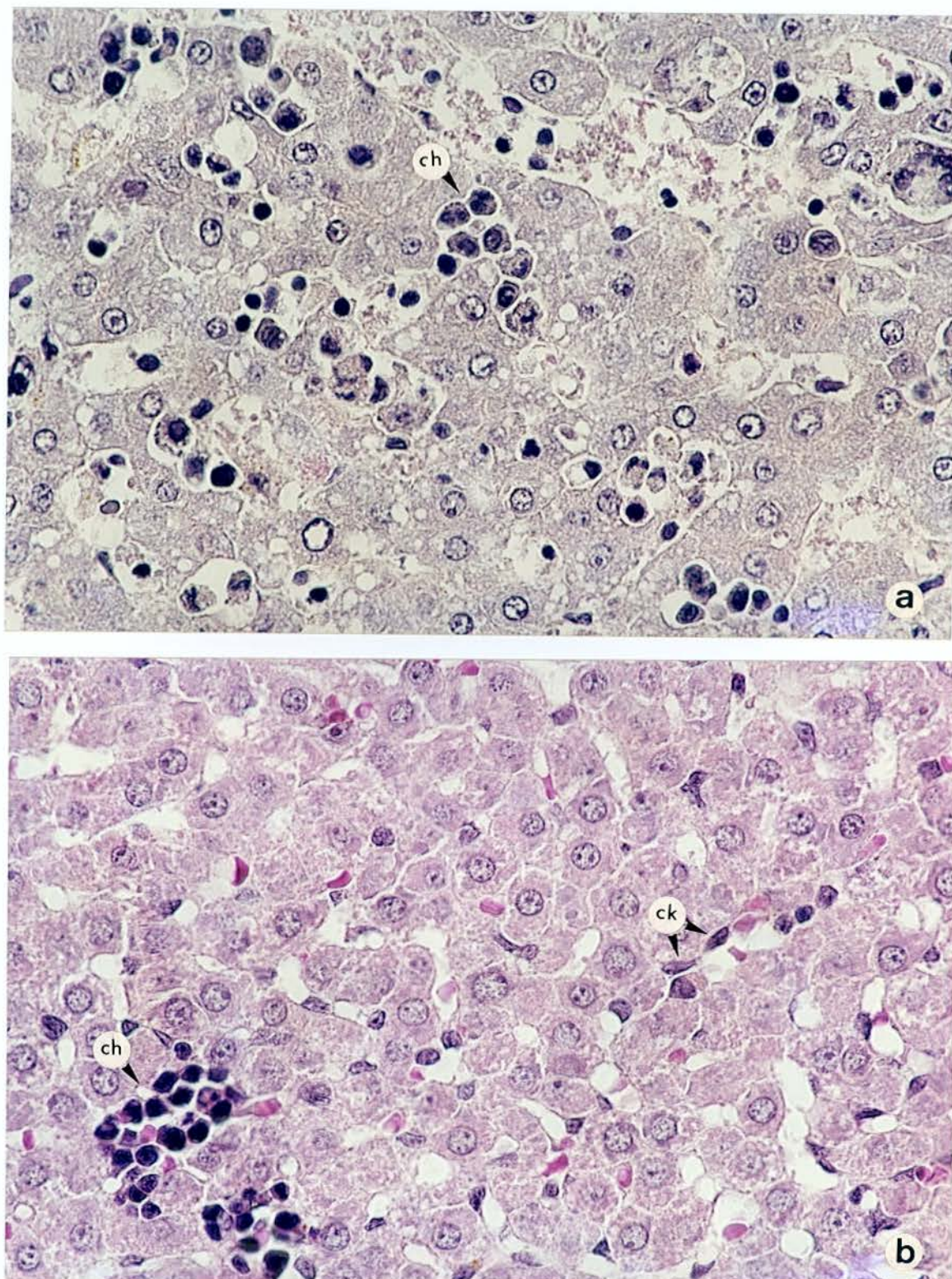


FIGURA 1- a) RNC – Fígado: órgão imaturo com grande quantidade de células hematopoiéticas (ch) e cordões hepáticos mal definidos. H.E. 630X; b) 10dC- Fígado: órgão com maturação quase completa, focos de células hematopoiéticas (ch) e algumas células de Kupffer (ck). H.E. 630X

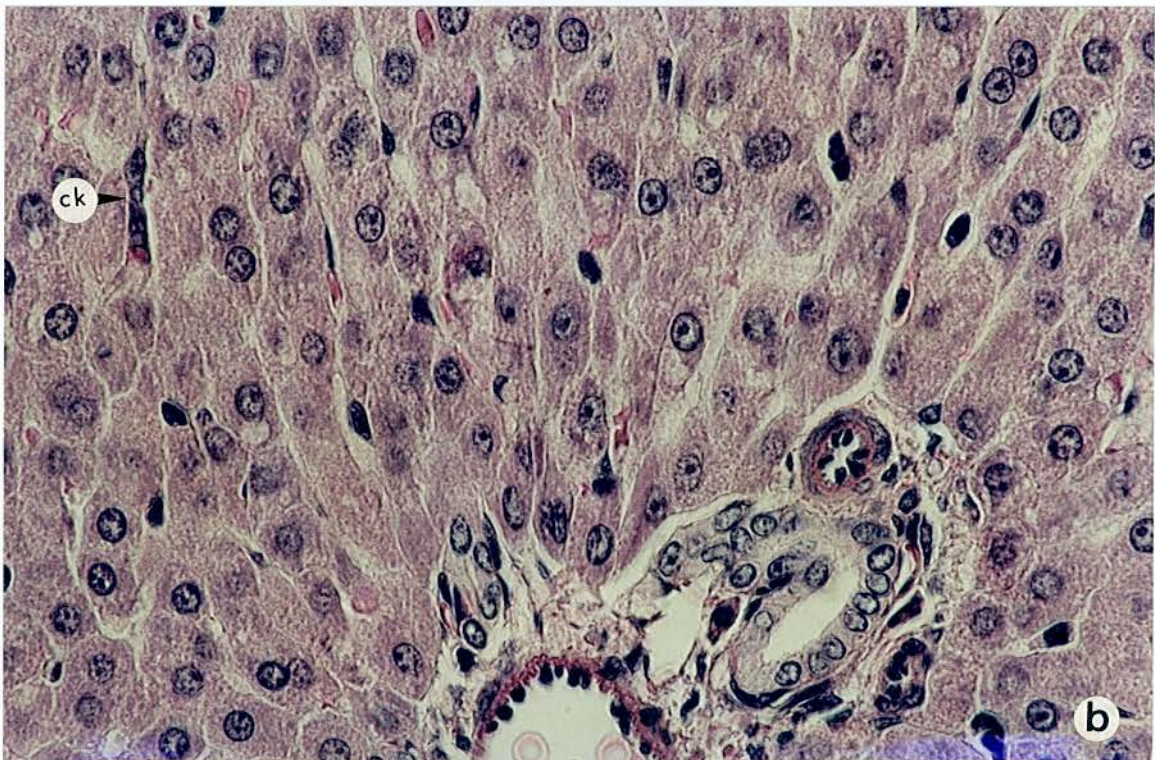
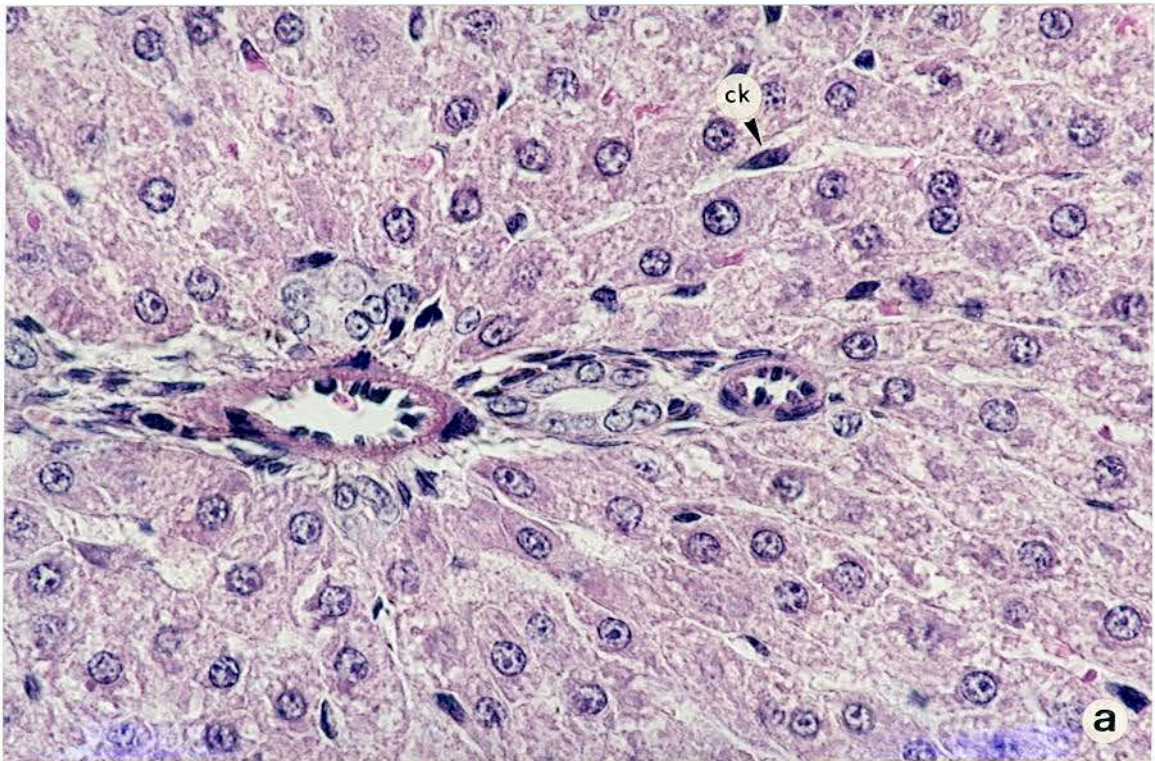


FIGURA 2- a) 20dC – Fígado: órgão maduro com hepatócitos em cordões e várias células de Kupffer (ck). H.E. 630X; b) 30dC – Fígado: órgão maduro com cordões de hepatócitos bem organizados e várias células de Kupffer (ck). H.E. 630X

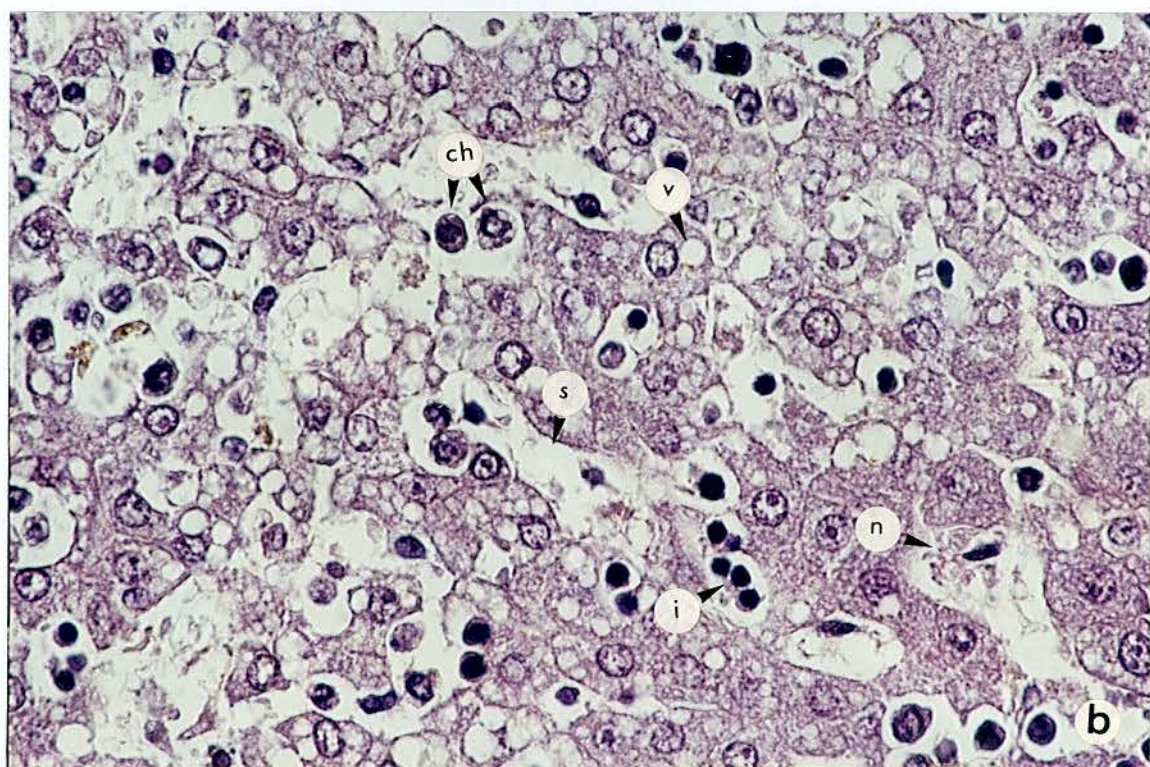
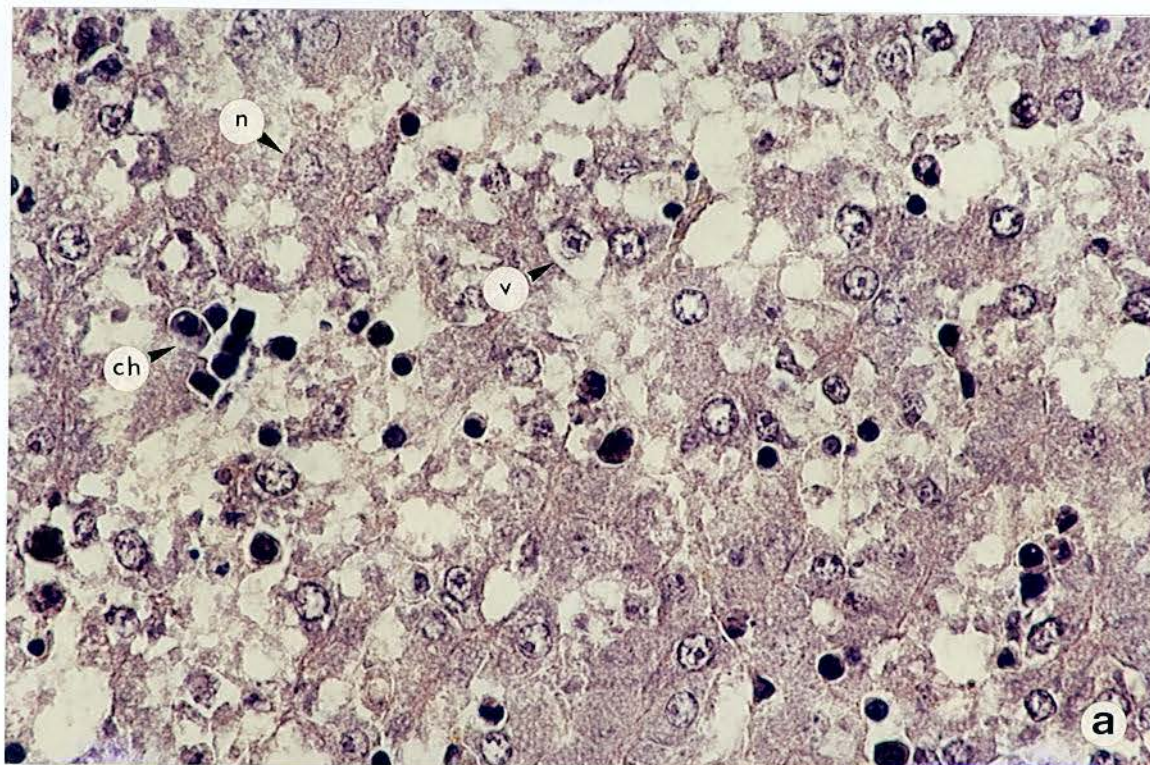


FIGURA 3- a) RINGII – Fígado: vacuolização intensa de hepatócitos (v), necrose de hepatócitos (n) e algumas células hematopoiéticas (ch). H.E. 630X; b) RINGIV – Fígado: hepatócitos com vacúolos de tamanhos variados (v), sinusóides dilatados (s), necrose (n), focos de inflamação (i) e focos de células hematopoiéticas (ch). H.E. 630X



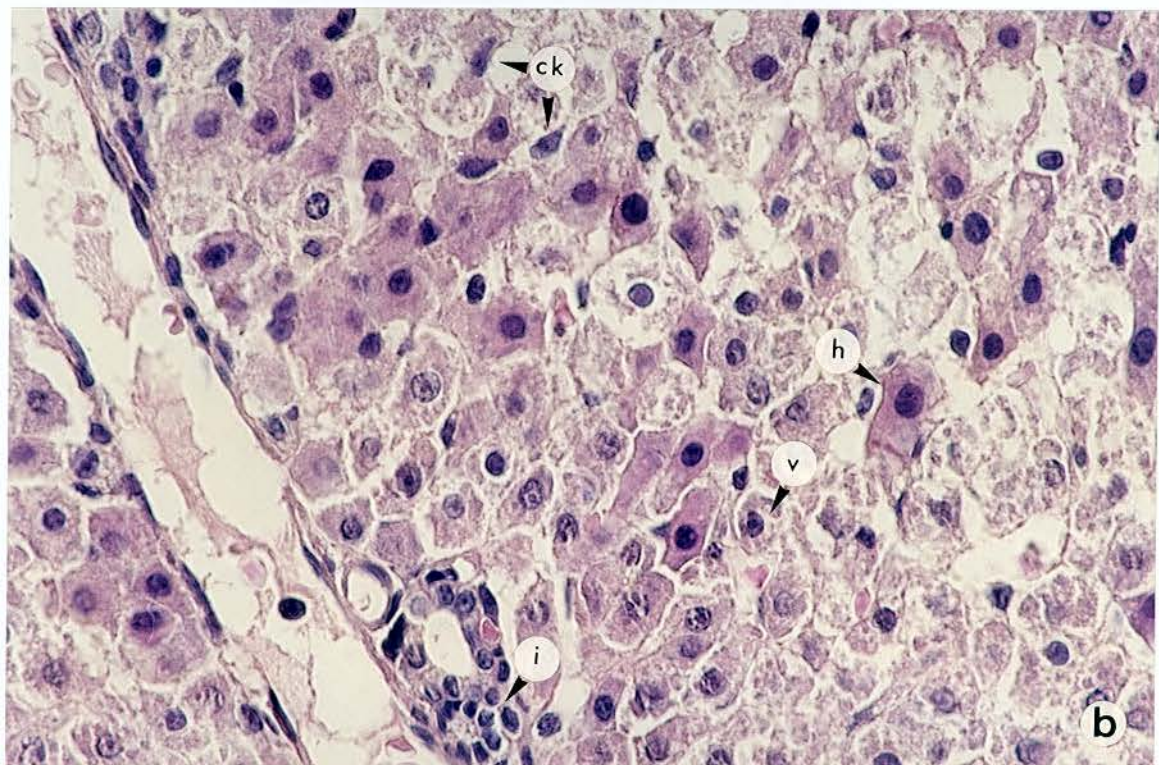
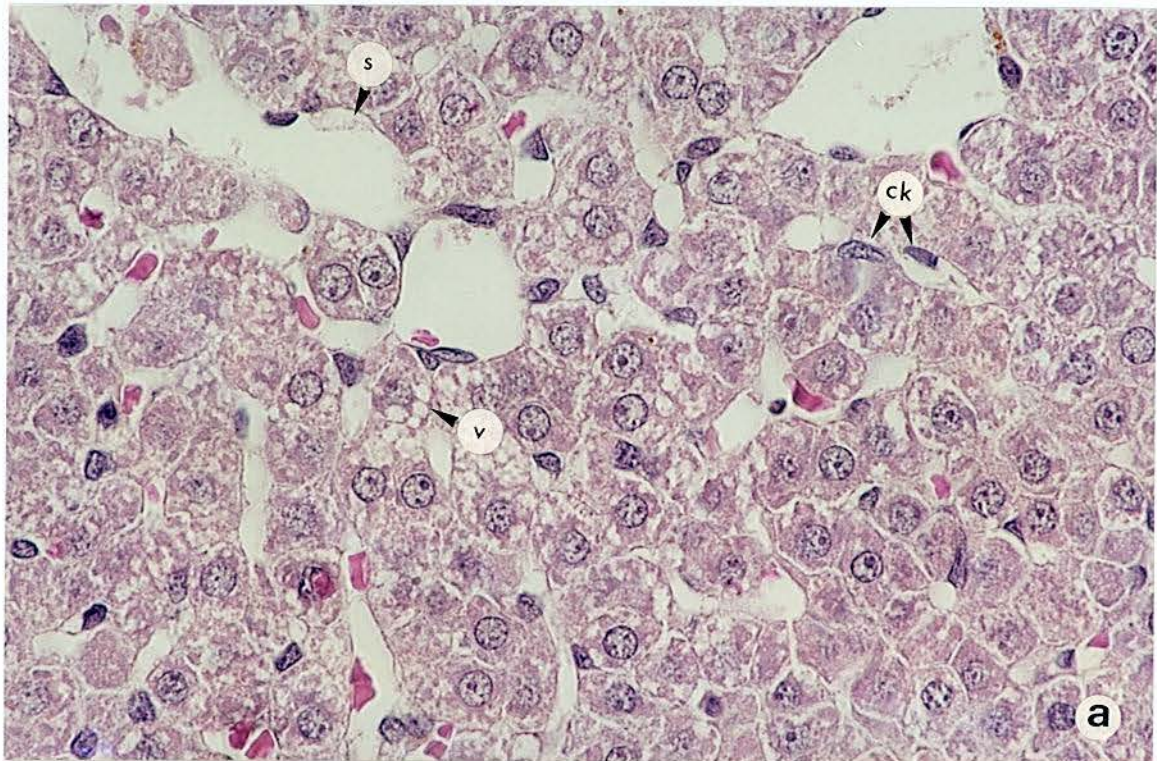


FIGURA 4- a) 10dGII – Fígado: hepatócitos com vacúolos pequenos (v), dilatação dos sinusóides (s) e várias células de Kupffer (ck). H.E. 630X; b) 10dGIV – Fígado: hepatócitos com citoplasma grumoso e rara vacuolização (v), vários hepatócitos hipertrofiados (h), pequeno foco inflamatório (i) e células de Kupffer (ck). H.E. 630X

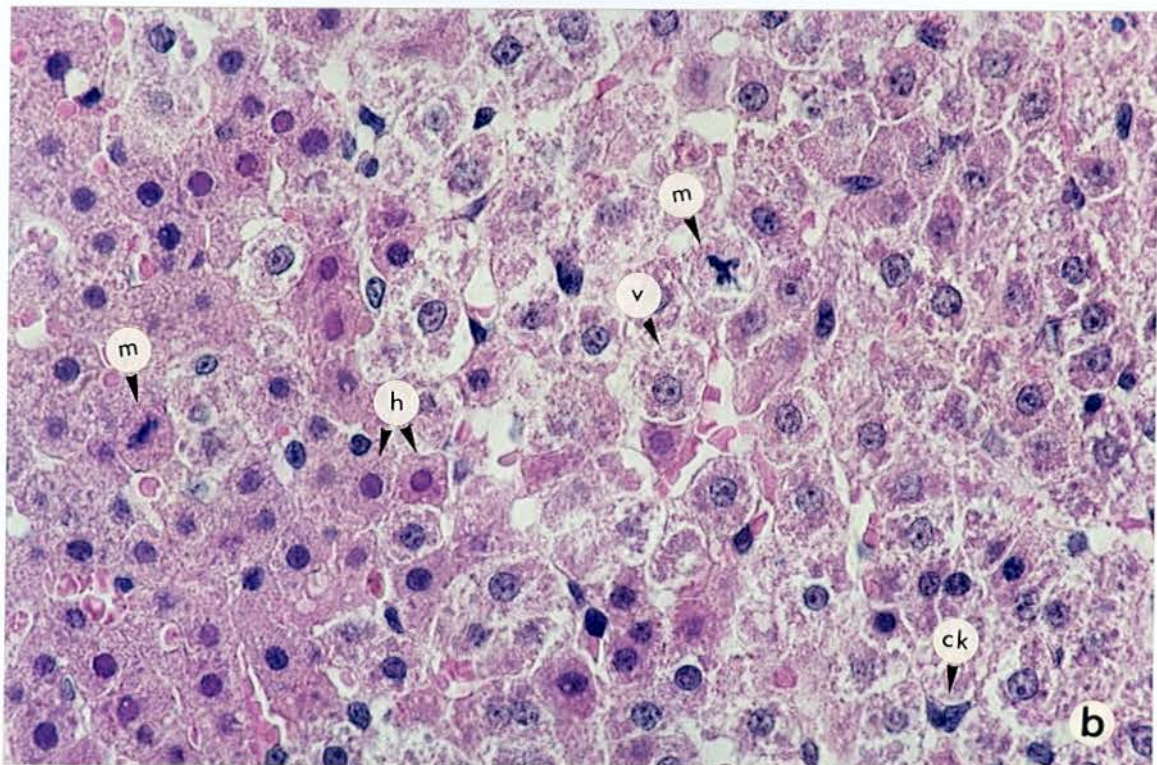
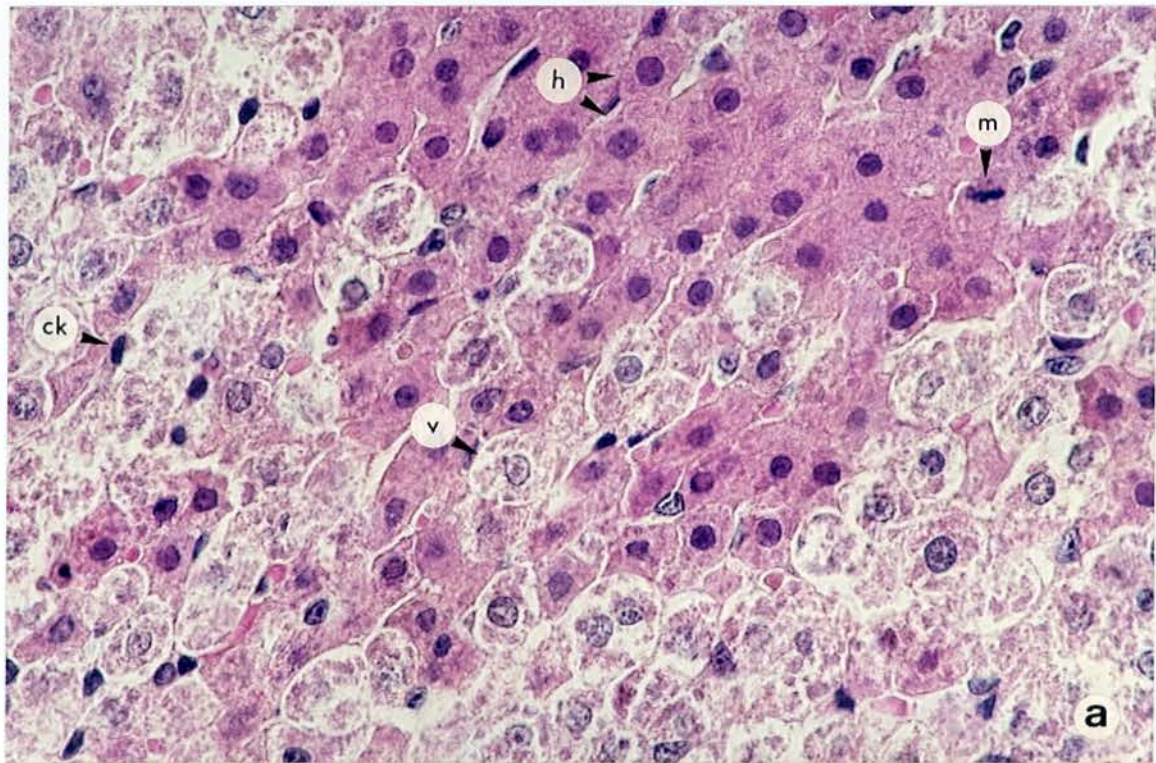


FIGURA 5- a) 20dGII – Fígado: hepatócitos com citoplasma grumoso e vacuolização discreta (v), vários hepatócitos hipertrofiados (h), mitoses (m) e várias células de Kupffer (ck). H.E. 630X; b) 20dGIV – Fígado: mesmo aspecto da foto anterior. H.E. 630X

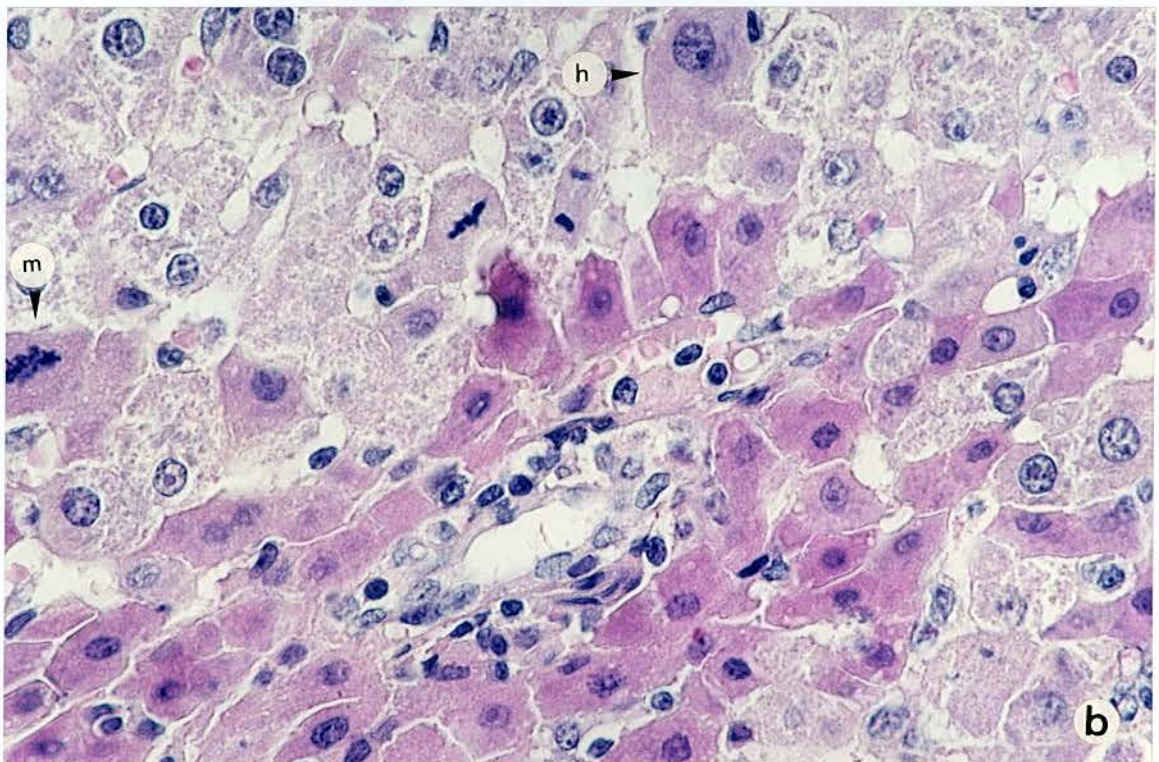
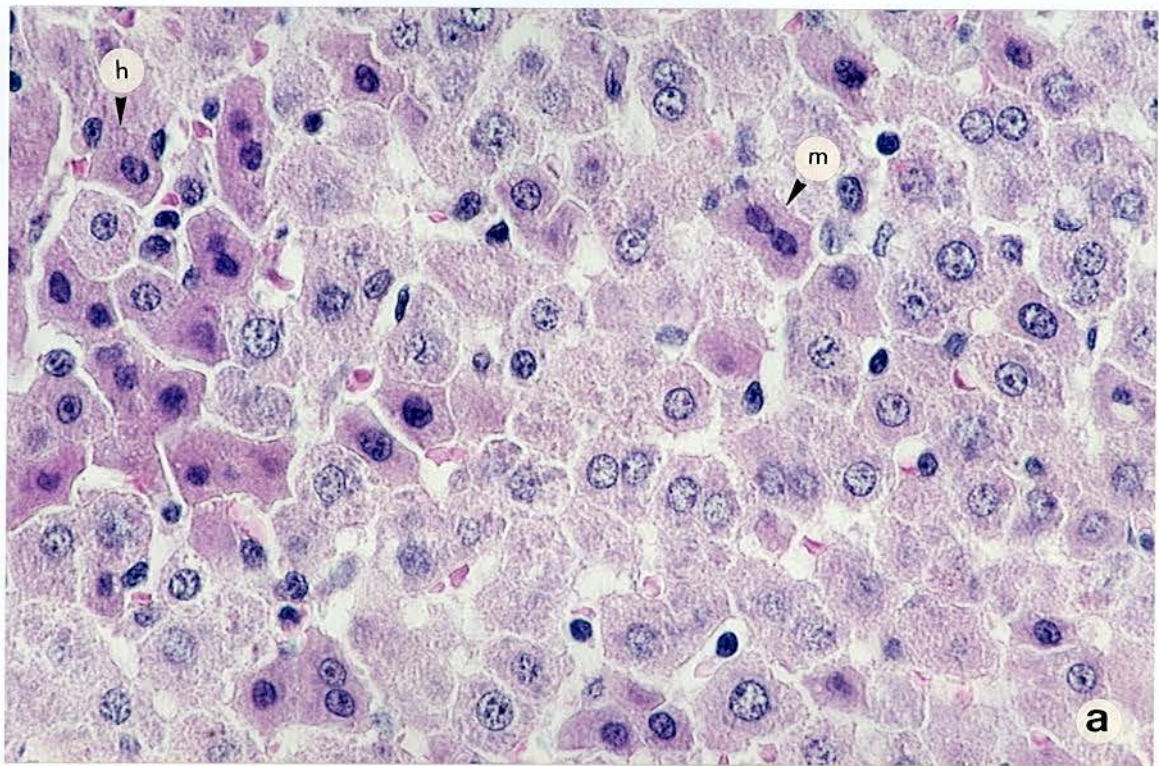


FIGURA 6- a) 30dGII – Fígado: hipertrofia de hepatócitos (h) e mitoses (m). H.E. 630X; b) 30dGIV – Fígado: vários hepatócitos hipertrofiados (h) e várias mitoses (m). H.E. 630X

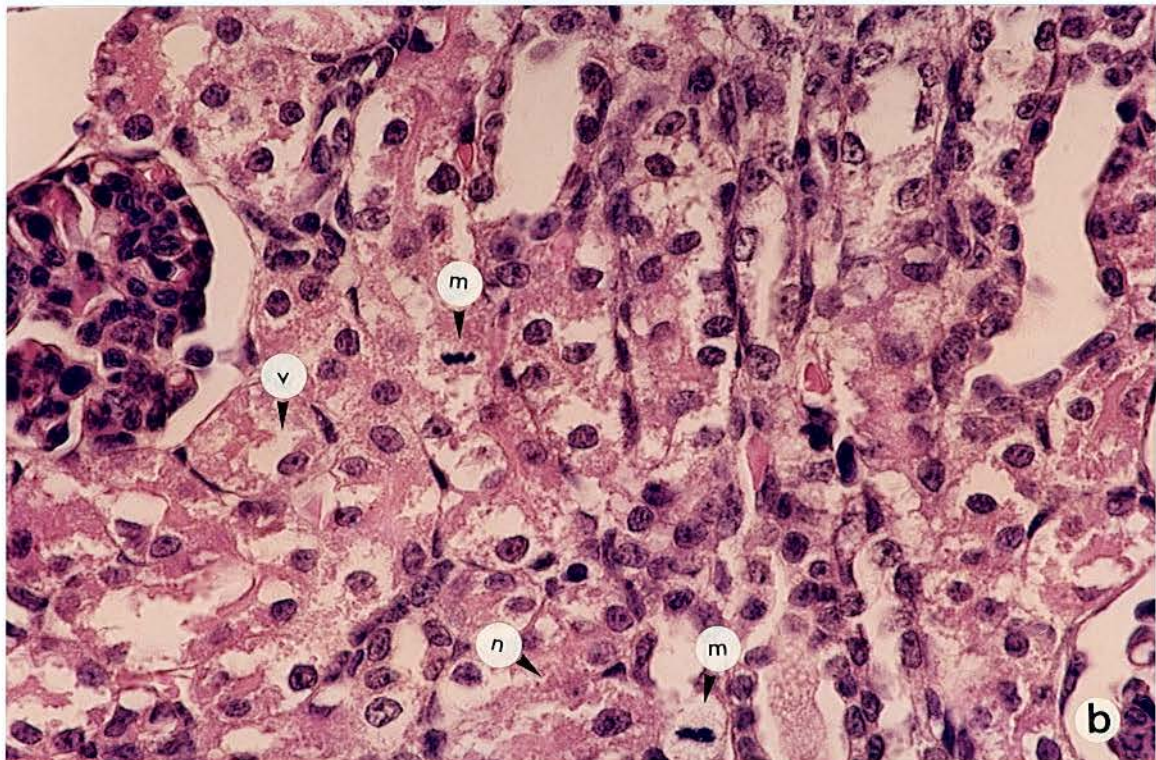
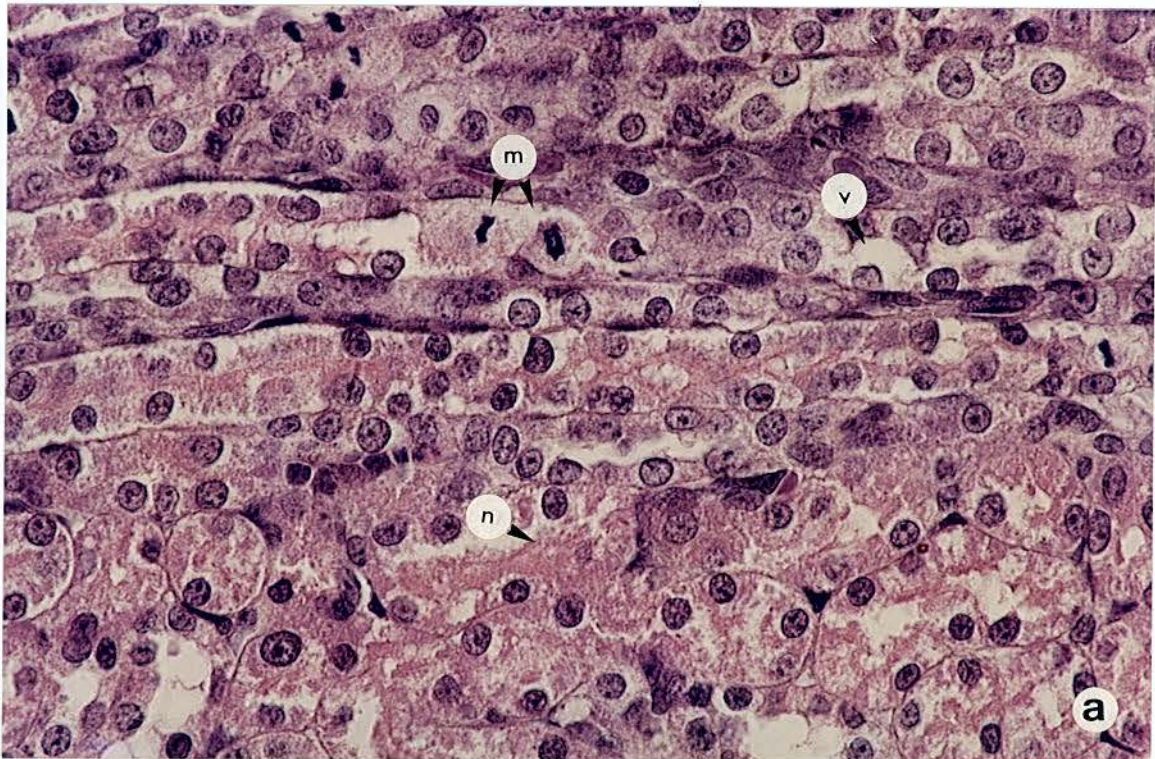


FIGURA 7- a) 10dGII – Rim: vacuolização nos túbulos contorcidos e alças de Henle (v), necrose (n) e várias mitoses de células tubulares (m) H.E. 630X; b) 10dGIV – Rim: vacuolização nos túbulos contorcidos (v), necrose de células tubulares (n) e mitoses (m). H.E. 630X

Tabela 1 - Alterações microscópicas observadas no fígado de filhotes de ratas tratadas com tetraciclina

RATO	Tetraciclina (dose mg)	Vacuolização Hepatócitos	Necrose Hepatócitos	Inflamação	Dilatação Sinusóides	Células de Kupffer	Mitoses Hepatócitos	Hipertrofia Hepatócitos	Glicogênio (PAS+) *
RN C	0	++ p m	0	0	+	0	0	0	0
RN GI	25	++ p m	0	0	++	0	0	0	0
RN GII	50	+++ p m g	++	+	++	0	0	0	0
RN GIII	75	+++ m g	++	++	+++	+	0	0	0
RN GIV	100	+++ m g	++	++	+++	+	0	0	0
10d C	0	0	0	0	0	+	0	0	+ poucas céls
10d GI	25	+ m	0	0	0	+	+	+	+
10d GII	50	+ p	+	+	+	+	+	+	+
10d GIII	75	+ p	+	+	+	+	+	++	+
10d GIV	100	+ p	+	+	+	++	+	+++	+
20d C	0	0	0	0	0	+	0	0	++
20d GI	25	+ p m	0	+	+	+	+	+	++
20d GII	50	+ m g	0	+	+	++	++	+++	+++
20d GIII	75	+ p	0	+	+	++	+	++	++
20d GIV	100	+ p m	0	+	+	++	+	++	++
30d C	0	0	0	0	0	++	0	0	++
30d GI	25	+ p m	0	++	++	++	+	++	++
30d GII	50	+ p m g	0	+	+	++	++	++	++
30d GIII	75	0	0	+	+	++	+	+++	++
30d GIV	100	0	0	+	+	++	+	+++	++

RN = recém nascido, C = controle, G I – IV = grupo I a IV, d = dias, p = vacúolo pequeno, m = vacúolo médio, g = vacúolo grande, 0 = ausência, + = quantidade discreta, ++ = quantidade moderada, +++ = quantidade intensa, \* Todos os hepatócitos hipertrofiados são fortemente PAS+, n = 6 filhotes por grupo

Tabela 2 - Alterações microscópicas observadas nos rins de filhotes de ratas tratadas com tetraciclina

RATO	Tetraciclina (dose mg)	Vacuolização tub. contorcido	Vacuolização alça de Henle	Necrose epitélio tubular	Mitoses tub. contorcido alça de Henle
RN C	0	++	++	0	0
RN GI	25	++	++	+	0
RN GII	50	++	++	+	0
RN GIII	75	++	++	++	0
RN GIV	100	++	++	+++	0
10d C	0	+	+	0	0
10d GI	25	++	++	+	+
10d GII	50	++	++	+	+
10d GIII	75	++	++	+	+
10d GIV	100	++	++	+	+
20d C	0	0	0	0	0
20d GI	25	0	0	0	+
20d GII	50	0	0	0	+
20d GIII	75	+	+	0	+
20d GIV	100	+	+	0	+
30d C	0	0	0	0	0
30d GI	25	0	0	0	0
30d GII	50	0	0	0	0
30d GIII	75	0	0	0	0
30d GIV	100	0	0	0	0

RN = recém nascido, C = controle, G I – IV = grupos I a IV, d = dias, 0 = ausência, + = quantidade discreta, ++ = quantidade moderada, +++ = quantidade intensa, n = 6 filhotes por grupo

## 6 DISCUSSÃO

A prescrição e o uso de antibióticos durante a gestação deve ser ponderado pois danos ao feto devem ser evitados, mas por outro lado, tanto a mãe como o bebê não podem ser prejudicados por infecção inadequadamente tratada.

Pesquisas sobre o uso de medicamentos durante a gestação apresentam dificuldades éticas, legais e emocionais e, em muitos casos, o conhecimento é baseado em estudos feitos em animais e os resultados devem ser vistos com cautela, não podendo ser generalizados para a espécie humana.

As destruições tissulares mais acentuadas ocorridas no fígado foram observadas nos grupos dos recém-nascidos principalmente com as doses de 50, 75 e 100 mg/kg. Houve ocorrência de intensa vacuolização difusa com muitos vacúolos pequenos, médios e grandes, muitas vezes único, no citoplasma, sugerindo acúmulo de substância. Estas informações coincidem com os achados de Oliveira e Silva & Rocha<sup>56</sup>, 1995. No entanto, Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986 não observaram aumento da vacuolização mesmo usando doses maiores durante seis dias. Nesses trabalhos, os autores preocuparam-se em administrar a droga por volta da metade do período gestacional, quando

a organogênese é maior. É importante esclarecer que o trabalho de Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986 foi feito em mini porcos.

Steiner et al<sup>73</sup>, 1965 fizeram uso da medicação no 14<sup>o</sup> dia da gestação e observaram a ocorrência de abortos, degeneração placentária e involução de embriões, o que também foi verificado nos achados de Oliveira e Silva & Rocha<sup>56</sup>, 1995. Em Cohlman et al.<sup>17</sup>, 1963, a aplicação da droga entre o oitavo e o 15<sup>o</sup> dia de gestação ocasionou redução no peso fetal.

Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986 não observaram alterações na distribuição de glicogênio no fígado após o uso de tetraciclina coincidente com o nosso trabalho. Ainda no fígado, observamos nos recém-nascidos dilatação nos sinusóides, variando de moderada a intensa, dependendo da dose. Os focos de necrose e os de inflamação encontraram-se em quantidade moderada com as doses de setenta e cinco e 100 mg/kg.

Nos animais tratados, sacrificados após dez dias, observou-se ainda uma pequena quantidade de vacúolos pequenos e médios. Nos estudos de Hagel-Lewicka et al.<sup>30</sup>, 1980 animais com idade semelhante tratados por longo período mostraram muitos vacúolos gordurosos grandes e únicos e maior quantidade de fibras colágenas nos espaços porta e próximo aos vasos sinusoidais, provavelmente devido à continuidade do tratamento. Em nossos achados, houve um discreto aumento das fibras colágenas somente no espaço porta mas



não próximo aos sinusóides, talvez porque a lesão não tenha sido suficiente para provocar fibrose verdadeira, uma vez que esse aspecto não foi observado no parênquima nas áreas correspondentes.

Encontramos pequenos grânulos de glicogênio em vários hepatócitos e células de Kupffer. Já Hagel-Lewicka et al.<sup>30</sup>, 1980 observaram quantidade moderada desses grânulos.

A hipertrofia de hepatócitos foi uma característica marcante nos animais que receberam doses de 75 e principalmente de 100 mg/Kg do cloridrato de tetraciclina.

Nos animais com vinte dias de vida, os grupos tratados ainda apresentaram uma discreta vacuolização, focos de hepatócitos hipertrofiados e quantidade moderada de células de Kupffer, alterações estas que foram dose dependente. Focos de inflamação e mitoses ainda estavam presentes em todos os animais tratados. Aqueles com as doses de 75 e 100 mg/kg apresentaram uma discreta dilatação sinusoidal e um ligeiro aumento nas fibras colágenas do espaço porta. Muitos grânulos de glicogênio foram vistos em vários hepatócitos, principalmente nos hipertrofiados e nas células de Kupffer dos grupos tratados, mostrando que pode estar ocorrendo reparação desses tecidos.

Os animais com trinta dias ainda exibiam sinais de lesão hepática como raros focos de vacuolização e de inflamação e discreta dilatação sinusoidal. No entanto, muitos hepatócitos apresentavam-se hipertrofiados, com mitoses e as células de Kupffer eram numerosas,

mostrando que os animais apresentaram reparação evidente, principalmente com as doses maiores.

Em nível de microscopia eletrônica, Damjanov & Solter<sup>20</sup>, 1971 verificaram que 3 horas após doses endovenosas de 250 mg, já começam a aparecer sinais indicativos de alteração metabólica no fígado como dilatações de mitocôndrias e do retículo endoplasmático, assim como acúmulo de gotículas gordurosas. Hagel-Lewicka et al.<sup>30</sup>, 1980 com tratamento prolongado com dose de 80mg por dia puderam verificar pequenos vacúolos gordurosos já no quarto dia, enquanto que Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986 ao usarem um grama por dia, durante seis dias, também verificaram variação mitocondrial.

No nosso material os rins dos recém-nascidos exibiram vacuolizações nos túbulos contorcidos e alça de Henle em todos os grupos. Necrose no epitélio tubular foi mais acentuada nas doses de 100 mg/kg, diferindo dos outros grupos e sendo nitidamente dose dependente. Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Alexander et al.<sup>3</sup>, 1984, realizados em bezerros.

Nos animais de dez dias, as vacuolizações ainda eram abundantes nos túbulos e ainda havia a presença de focos de necrose. Com relação ao grupo controle, os túbulos contorcidos e alça de Henle nos animais tratados apresentaram maior número de mitoses, principalmente com as doses de 25 e 50 mg/kg.

Nos animais de vinte dias observamos vacuolizações

tubulares discretas apenas nos grupos com doses de 75 e 100 mg/kg. A ocorrência de mitoses foi discreta, discordando dos estudos de Lindquist & Fellers<sup>45</sup>, 1966, onde as mitoses foram freqüentes sete dias após o início do tratamento, retornando a níveis normais no decorrer do mesmo.

Estudos feitos em ratas prenhas por Steiner et al.<sup>73</sup>, 1965 e Romert & Matthiessen<sup>64</sup>, 1986, mostraram depósitos gordurosos localizados nos lóbulos hepáticos, com redução ou ausência de glicogênio e alterações mitocondriais. Steiner et al.<sup>73</sup>, 1965 também verificaram alterações nos túbulos coletores da córtex e junção cortico-medular com degeneração.

Lewis et al.<sup>44</sup>, 1967 verificaram que as concentrações lipídicas no fígado de ratas prenhas e não prenhas foram semelhantes, mostrando não haver diferenças entre os estados fisiológicos de um grupo e outro de animais após a administração do medicamento.

Em ratos adultos Hayashi<sup>33</sup>, 1961 observou após tratamento prolongado com 50mg de tetraciclina a ocorrência de hepatócitos dilatados com alterações nucleares e vacúolos, células necróticas, sinusóides estreitos e comprimidos, células de Kupffer dilatadas e áreas portais com células inflamatórias.

A aplicação do medicamento por tempo prolongado causa danos na morfologia do fígado. Com doses únicas Breen et al.<sup>15</sup>, 1972; Shauer et al.<sup>69</sup>, 1974 e Amacher & Martin<sup>4</sup>, 1997, puderam verificar após algumas horas aumento de vacuolização e ausência de outras alterações

como por exemplo células necróticas e inflamação. Talvez estas alterações precisem de administração prolongada ou de maior tempo de observação, para que o órgão possa responder contra os efeitos do medicamento. Este fato concorda pelo menos em parte com nossos achados, pois com doses únicas nas mães, principalmente nas de setenta e cinco e 100 mg/kg, observamos nos recém-nascidos necrose e inflamação no dia do nascimento, que ocorreu 11 dias após a aplicação. Talvez a imaturidade do órgão tenha contribuído para essas observações, portanto, nas primeiras horas, as tetraciclinas poderiam estar causando alterações metabólicas com acúmulo de substâncias nos hepatócitos, quando a substância passa por via placentária para o feto.

Hayashi<sup>33</sup>, 1961, Benitz & Diermeier<sup>9</sup>, 1964, Öbek et al.<sup>53</sup>, 1974 e Stevenson<sup>74</sup>, 1980 encontraram resultados semelhantes nos rins de animais quanto a degeneração vacuolar, observadas também por Steiner et al.<sup>73</sup>, 1965 em ratas prenhas. O material necrótico só não estava presente nos achados de Hayashi<sup>33</sup>, 1961 provavelmente porque após vários dias de terapia o órgão já estava se recuperando, fenômeno comprovado pelas mitoses que surgiram nos túbulos sinalizando regeneração. Este fato foi também observado por Steiner et al.<sup>73</sup>, 1965 em ratas prenhas, e por nós mesmos com doses únicas, principalmente em animais com dez e vinte dias, onde mitoses encontravam-se nos túbulos contorcidos e em alças de Henle.

Picnose nuclear no epitélio tubular renal estava presente

tanto nos achados de Benitz & Diermeier<sup>9</sup>, 1964 quanto de Öbek et al.<sup>53</sup>, 1974 que também verificaram um entumescimento mitocondrial e dilatação do retículo endoplasmático. Outros autores observaram essas mesmas alterações em hepatócitos. Portanto, em nível de microscopia eletrônica as organelas atingidas pelo uso das tetraciclinas são as mitocôndrias e retículo endoplasmático.

Estudos recentes, como o de Fromenty & Pessayre<sup>25</sup>, 1997 mostram que esses antibióticos conseguem inibir as enzimas da beta oxidação mitocondrial e quando isto acontece leva a um acúmulo de triglicerídeos em forma de pequenas vesículas, explicando a esteatose encontrada nos órgãos.

Mikhail et al.<sup>47</sup>, 1996 estudando o metabolismo anormal do zinco e do cobre que ocorre em fígado gorduroso induzido pela tetraciclina, mostraram que há uma diminuição sérica do zinco concomitante com o aumento da concentração do cobre e também que o zinco diminui significativamente no fígado e coração. Em compensação, este achava-se concentrado nos rins cujos aspectos histopatológicos como degeneração nos túbulos e áreas de necrose coincide com a maioria dos autores. Estes animais também apresentaram microvesículas de lipídio no fígado e um aumento na lipoproteína de baixa densidade (LDL) com redução significativa da lipoproteína de alta densidade (HDL).

Em humanos os primeiros efeitos da tetraciclina foram vistos por Charles<sup>16</sup>, 1954 citado por Cohan et al.<sup>17</sup>, 1963 em prematuro,

cuja mãe havia recebido a terapia dias antes do parto. Neste foi detectado depósitos do medicamento em fêmur, costelas, mandíbulas e dentes e Tötterman & Saxén<sup>77</sup>, 1969 mostraram em tíbias e artelho.

Gibbons & Reichelderfer<sup>26</sup>, 1960 comprovaram a passagem da demetilclortetraciclina através da placenta, mostrando níveis do medicamento no cordão umbilical. Já Monfort et al.<sup>49</sup>, 1963 detectaram que a oxitetraciclina permanece no cordão umbilical horas após o consumo da mesma pela mãe.

Existem relatos que mostram os possíveis efeitos teratogênicos deste antibiótico quando administrado no início da gestação. Em recém-nascidos, Cohlán et al.<sup>17</sup>, 1963 reportaram deformidades em mãos e Corcoran & Castles<sup>18</sup>, 1977 relataram uma série de anormalidades que tornou inviável a sobrevivência do recém-nascido. Esses dois casos demonstraram o efeito teratogênico dependente do tempo, pois o recém-nascido com maiores complicações foi justamente aquele cuja mãe recebeu o medicamento por tempo mais prolongado, embora em menor dose.

Davis & Kaufman<sup>21</sup>, 1966 revelaram vacúolos citoplasmáticos no fígado e Saxén<sup>65</sup>, 1975 observou fendas labiais acompanhadas ou não de fissuras palatinas em recém-nascidos de mães que fizeram uso das tetraciclina.

Wallman & Hilton<sup>80</sup>, 1962 citados por Cohlán et al.<sup>17</sup>, 1963 demonstraram que a tetraciclina administrada no período neonatal teve

uma influência maior sobre o desenvolvimento e pigmentações dentais do que a oxitetraciclina. Nos estudos de Grossman et al.<sup>29</sup>, 1971 comprovou-se que além da tetraciclina a demetiltetraciclina também provocou manchas nos incisivos de crianças que receberam-nas no período da formação da coroa.

Mulheres que foram medicadas com altas doses de tetraciclina na gestação mostram gotículas gordurosas nas porções hepáticas com ausência de necrose e inflamação, aspectos esses que foram observados por Schultz et al.<sup>68</sup>, 1963, Whalley et al.<sup>82</sup>, 1964, Allen & Brown<sup>2</sup>, 1966, sendo que esses últimos observaram o efeito dose dependente. Focos inflamatórios e necrose foram observados não só por Davis & Kaufman<sup>21</sup>, 1966, mas por Lew & French<sup>43</sup>, 1966, talvez pelo excesso nas doses do medicamento chegando até 4g por dia, embora nas observações de Schultz et al.<sup>68</sup>, 1963, a dose tenha chegado a seis gramas ao dia e as gestantes não tivessem apresentado tais alterações. Possivelmente o órgão dessas pacientes não tivesse tempo suficiente para tais alterações já que faleceram dias após a terapia.

Os autores Schultz et al.<sup>68</sup>, 1963 e Davis & Kaufman<sup>21</sup>, 1966 observaram alterações microscópicas nos rins como a presença de gotículas gordurosas no epitélio túbular. Lew & French<sup>43</sup>, 1966 além dessas alterações observaram também extensa necrose tubular.

Alterações bioquímicas como icterícia e azotemia constaram nos estudos de Schultz et al.<sup>68</sup>, 1963 e Davis & Kaufman<sup>21</sup>,

1966, comprovando a deficiência funcional tanto do fígado quanto do rim sofridas pelas gestantes com o uso da tetraciclina.

É importante lembrar a existência de uma alteração hepática séria que pode ocorrer em gestantes por volta do último trimestre, caracterizada por náusea, vômito, dor abdominal e dor de cabeça associados a icterícia e aumento nos níveis de uréia no sangue. Nestes casos, a mortalidade materna é por volta de 75 a 85% e é causada normalmente por coagulação intravascular disseminada, com grande hemorragia e falência renal (Kunelis et al.<sup>39</sup>, 1965; Joske et al.<sup>36</sup>, 1968; Sherlock<sup>70</sup>, 1983; Kaplan<sup>37</sup>, 1985; Hautekeete et al.<sup>32</sup>, 1990). Histologicamente, essa síndrome consiste de alterações gordurosas no citoplasma de hepatócitos formando vesículas, ficando vacuolizado, com ocorrência mínima de necrose e inflamação, aspectos semelhantes àqueles exibidos não só pelas gestantes mas por pessoas que foram medicadas pela tetraciclina. O fígado não é o único órgão envolvido na toxemia gravídica, pois o acúmulo de triglicerídios pode ser encontrada nos túbulos renais e ocasionalmente no miocárdio e pâncreas.

Em não gestantes também pode ser observado vacuolizações hepáticas como nos achados de Schiffer<sup>66</sup>, 1966 e Peters et al.<sup>58</sup>, 1967 acompanhadas de resíduos necróticos. Já nos achados de Horwitz & Marymont Junior<sup>34</sup>, 1964, Robinson & Rywlin<sup>62</sup>, 1970, os quadros histopatológicos foram acompanhados de ausência de necrose talvez por causa do menor tempo de terapia.



A vacuolização gordurosa nos túbulos renais também foi observada em não gestante como consta nos trabalhos de Kuzucu<sup>40</sup>, 1970 acompanhada de infiltrado inflamatório e fibrose glomerular. Em Robinson & Rywlin<sup>62</sup>, 1970 além do infiltrado, os rins exibiram necrose tubular.

Dentre as tetraciclinas, a minociclina é muito utilizada no tratamento contra acne por período prolongado. Alguns pacientes podem exibir pigmentações em várias partes do corpo, principalmente na pele que Simons & Morales<sup>72</sup>, 1980 demonstraram tratar-se de melanina. Já em McGrae Junior & Zelickson<sup>46</sup>, 1980 e Wolfe & Reichmister<sup>86</sup>, 1984 os grânulos encontrados no citoplasma de macrófagos revelaram tratar-se de ferro. Gordon et al.<sup>28</sup>, 1985, por métodos mais acurados constataram que os grânulos acumulados nos macrófagos eram formados não só de ferro, mas de outros íons como cálcio, potássio e cloro. Esses acúmulos vistos no interior de macrófagos podem ser explicados talvez pela alta afinidade que as tetraciclinas possuem para determinados íons, principalmente o ferro, formando quelatos, após uso prolongado do medicamento.

As tetraciclinas, especialmente o cloridrato, a oxitetraciclina e a doxiciclina são comumente usadas não só em medicina veterinária como em aditivos na alimentação dos animais que consumimos. Os resíduos encontrados desses medicamentos em órgãos de animais como por exemplo músculo, fígado e rins levaram

recentemente pesquisadores a desenvolverem métodos para detectar resíduos desses antibióticos em produtos alimentícios. O método mais utilizado é a cromatografia (HPLC - High Performance Liquid Chromatograph) que aumenta o poder de detecção das tetraciclina nos alimentos consumidos pela população (Oka et al.<sup>54</sup>, 1991; Croubels et al.<sup>19</sup>, 1997; Oka et al.<sup>55</sup>, 1997; Posyniak et al.<sup>59</sup>, 1998).

Apesar das tetraciclina serem antibióticos bacteriostáticos de amplo espectro, sua eficácia tem diminuído em virtude do surgimento de cepas de microrganismos resistentes. Atualmente o uso desses medicamentos parece cada vez mais restrito à área da periodontia, devendo ser empregada com precaução em pacientes com histórico de doença hepática e renal, por serem tóxicas a esses órgãos quando administradas em altas doses e/ou por tempo prolongado, além de não ser recomendada durante a gestação e em crianças no estágio de desenvolvimento ósseo e dentário.

## 7 CONCLUSÕES

A avaliação histológica dos animais tratados e controle levou às seguintes conclusões:

- a) doses únicas de cloridrato de tetraciclina na gestação são suficientes para provocar alterações no fígado e rim de filhotes de ratas, sendo dose dependentes;
- b) o fígado foi o órgão que mais sofreu com o medicamento;
- c) apesar das alterações ocorridas no fígado e nos rins, os mesmos foram capazes de se regenerar;
- d) o período de trinta dias não foi suficiente para que ocorresse a regeneração total do fígado;
- e) no período de trinta dias observamos que o rim de todos os animais apresentaram características de normalidade.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS \*

- 1 AL-ALI, W., BISSADA, N.F., GREENWELL, H. The effect of local doxycycline with and without tricalcium phosphate on the regenerative healing potential of periodontal osseous defects in dogs. *J. Periodontol.* , v.60, n. 10, p. 582-90, Oct. 1989
- 2 ALLEN, E.S., BROWN, W.E. Hepatic toxicity of tetracycline in pregnancy. *Am. J. Obst. Gynec.*, v.95, n.1, p.12-8, May 1966.
- 3 ALEXANDER, A.F. et al. Oxytetracycline-associated nephrotoxicosis in feedlot calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.185, n.7, p.793-5, Oct. 1984.
- 4 AMACHER, D.E., MARTIN, B. A. Tetracycline - induced steatosis in Primary canine hepatocyte cultures. *Fundam. Toxicol.*, v.40, n.2, p.256-63, 1997.
- 5 ANDRADE, E.D. Uso clínico dos antibióticos. In: \_\_\_\_\_. *Terapêutica Medicamentosa em odontologia*. São Paulo: Artes Médicas, 1999. p. 65-92

---

\*Baseado em:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro. *Referências Bibliográficas NBR 6023*. Rio de Janeiro, 1989. 19p.

- 6 BAKER, P.J. et al. Tetracycline and its derivatives strongly bond to and are released from the tooth surface in active form. *J. Periodontol.*, v.54, n. 10, p. 580-5, Oct. 1983.
- 7 BALLIGAN, F.J., HALE, T.M. Analgesic and antibiotic administration during pregnancy. *Gen. Dent.*, v.41, n.3, p.220-25, May/June 1993.
- 8 BECKMAN, D.A., BRENT, R.L. Mechanisms of teratogenesis. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, v.24, p.483-500, 1984.
- 9 BENITZ, K.F., DIERMEIER, H.F. Renal toxicity of tetracycline degradation products. *Proc. Soc. Biol. Med.*, v.115, p.930-5, 1964.
- 10 BENITZ, K.F., ROBERTS, G.K.S., YUSA, A. Morphologic effects of minocycline in laboratory animals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v.11, n.1, p.150-70, 1967.
- 11 BEVELANDER, G., GOLDBERG, L., NAKAHARA, H. The effect of tetracycline on skeletal development in the larval and dollar (*Echinarachnius parma*). *Arch. Oral Biol.*, v.2, p.127-30, 1960.
- 12 BEVELANDER, G., NAKAHARA, H., ROLLE, G.K. The effect of the tetracycline on the development of the skeletal system of the chick embryo. *Dev. Biol.*, v.2, p.298-312, 1960.
- 13 BEVELANDER, G., ROLLE, G.K., COHLAN, S.Q. The effect of the administration of tetracycline on the development of teeth. *J. Dent. Res.*, v.40, n.5, p.1020-24, Sept./Oct. 1961.

- 14 BLANCHFLOWER, W.J. et al. Confirmatory assay for the determination of tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline and its isomers in muscle and kidney using liquid chromatography-mass-spectrometry. *J. Chromatog. B*, v.692, n.2, p.351-360, 1997.
- 15 BREEN, K., SCHENKER, S., HEIMBERG, M. The effect of tetracycline on the hepatic secretion of triglyceride. *Biochim. Biophys. Acta*, v.270, n.1, p.74-80, 1972.
- 16 CHARLES, D. Placental transmission of antibiotics. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Em.* v.61, p. 750, 1954, apud COHLAN, S.Q., BEVELANDER, G., TIAMSIC, T. Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Am. J. Dis. Child.* v.105, p.65-73, May 1963.
- 17 COHLAN, S.Q., BEVELANDER, G., TIAMSIC, T. Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Am. J. Dis. Child.* v.105, p.65-73, May 1963.
- 18 CORCORAN, R., CASTLES, J.M. Tetracycline for acne vulgaris and possible teratogenesis. *Br. Med. J.* v.24, p.807-08, Sept. 1977.
- 19 CROUBELS, S.M., VANOOSTHUYZE, K.E.I., VAN PETEGHEM, C.H. Use of metal chelate affinity chromatography and membrane-based ion-exchange as clean-up procedure for trace residue analysis of tetracyclines in animal tissue and egg. *J. Chromatog. B*, v.690, n.1, p.173-9, 1997.
- 20 DAMJANOV, I., SOLTER, D., Ultrastructure of acute tetracycline induced liver changer. *Experientia*, v.27, n.10, p.1204-5, 1971.

- 21 DAVIS, J.S., KAUFMAN, R.H. Tetracycline toxicity: a clinicopathologic study with special reference to liver damage and its relationship to pregnancy. *Am. J. Obst. Gynec.*, v.95, n.4, p.523-9, June 1966.
- 22 DeLUCIA, R. *Farmacodinâmica*. In: VALLE, L.B.S., OLIVEIRA, R.M., DeLUCIA, R., OGA, S. *Farmacologia integrada: fundamentos farmacológicos da terapêutica*. Rio de Janeiro: Atheneu, 1991. p.645-62.
- 23 FENSKE, N.A., MILLNS, J.L., GREER, K.E. Minocycline-induced pigmentation at sites of cutaneous inflammation. *J. Am. Med. Assoc.*, v.244, n.10, p.1103-06, Sept. 1980.
- 24 FRIEDMAN, J.M. et al. Potencial human teratogenicity of frequently prescribed drugs. *Obstet. Gynecol.*, v.75, n.4, p.594-9, Apr. 1990.
- 25 FROMENTY, B., PESSAYRE, D. Impaired mitochondrial function in microvesicular steatosis: effects of drugs, ethanol, hormones and cytokines. *J. Hepatol.*, v.26, n.2, p. 43-53, 1997.
- 26 GIBBONS, R.J., REICHELDERFER, T.E. Transplacental transmission of demethylchlortetracycline and toxicity studies in premature and full term, newly born infants. *Antibiot. Med. Clin. Ther.*, v.7, n.10, p.618-22, Oct. 1960.
- 27 GIBSON, J., MCGOWAN, D.A. Oral contraceptives and antibiotics: important considerations for dental practice. *Br. Dent. J.*, v. 177, p. 419-22, Dec. 1994.

- 28 GORDON, G., SPARANO, B. M., IATROPOULS, M. J.  
Hyperpigmentation of the skin associated with minocycline therapy.  
*Arch. Dermatol.*, v. 121, n.5, p. 618-23, May 1985.
- 29 GROSSMAN, E.R., WALCHEK, A., FREEDMAN, H. Tetracyclines  
and permanent teeth: the relation between dose and tooth color.  
*Pediatrics*, v.47, n.3, p.567-70, Mar. 1971.
- 30 HAGEL-LEWICKA, E. et al. Ultrastructural investigations of the liver  
in young (suckling) rats receiving tetracycline hydrochloride. *Mat.  
Med. Pol.*, v.4, n.44, p.259-62, 1980.
- 31 HANRETTY, K.P., WHITTLE, M. J. Identificação de anomalias. In:  
RUBIN, P. *Como prescrever drogas na gravidez*. Trad. C. Finger.  
2.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1996. Cap. 2, p. 8-21.
- 32 HAUTEKEETE, M.L., DEGOTT, C., BENHAMOU, J.P. Microvesicular  
steatosis of the liver. *Acta Clin. Belgica*, v.45, n.5, p.311-25, 1990.
- 33 HAYASHI, K. Experimental studies on histopathological changes in  
the liver and kidney of rats following antibiotics administration.  
*Tokushima J. Exp. Med.*, v.8, p.156-62, 1961.
- 34 HORWITZ, S.T., MARYMONT JUNIOR, J.H. Fatal liver disease  
during pregnancy associated with tetracycline therapy. *Obstet.  
Gynecol.*, v.23, n.6, p.826-9, June 1964.
- 35 JAWETZ, E. *Cloranfenicol e tetraciclinas*. KATZUNG, B.G.  
*Farmacologia básica e clínica*. Trad. P.J. Voeux. 6.ed. Rio de  
Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.528-32.



- 36 JOSKE, R.A., McCULLY, D. J., MASTAGLIA, F.L. Acute fatty liver of pregnancy. *Gut.*, v.9, p.489-93, 1968.
- 37 KAPLAN, M.M. Acute fatty liver of pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, v. 313, n. 6, p. 367-70, Aug. 1985.
- 38 KAPUSNIK-UNER, J.E., SANDE, M.A., CHAMBERS, H.F. Fármacos antimicrobianos: tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina e outros fármacos antimicrobianos. In: GOODMAN, L.S., GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. Trad. P. Silva. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. p.826-48.
- 39 KUNELIS, C.T., PETERS, J.L., EMONDSON, H. A . Fatty liver of pregnancy and its relationship to tetracycline therapy. *Am. J. Med.*, v. 38, p. 359-77, Mar. 1965.
- 40 KUZUCU, E. Y. Methoxyflurane, tetracycline and renal failure. *J. Am. Med. Assoc.*, v.211, n.7, p.1162-4, Feb. 1970.
- 41 LANDERS, D.V., GREEN, J.R., SWEET, R.L. Antibiotic use during pregnancy and the postpartum period. *Clin. Obstet. Gynecol.*, v.26, n.2, p.391-406, June 1983.
- 42 LEBLANC, A. L., PERRY, J.E. Transfer of tetracycline across the human placenta. *Tex. Rep. Biol. Med.*, v.25, n.4, p.541-5, Winter 1967.
- 43 LEW, H.T., FRENCH, S.W. Tetracycline nephrotoxicity and nonoliguric acute renal failure. *Arch. Intern. Med.*, v.118, p.123-7, Aug. 1966.

- 44 LEWIS, M., SCHENKER, S., COMBES, B. Studies on the pathogenesis of tetracycline-induced fatty liver. *Am. J. Dig. Dis.*, v.12, n.5, p. May 1967.
- 45 LINDQUIST, R.R., FELLERS, F.X. Degraded tetracycline nephropathy: functional, morphologic and histochemical observations. *Lab. Invest.*, v.15, n.5, p.864-76, 1966.
- 46 McGRAE JUNIOR, J.D., ZELICKSON, A.S. Skin pigmentation secondary to minocycline therapy. *Arch. Dermatol.*, v.116, n.11, p.1262-5, Nov. 1980.
- 47 MIKHAIL, T. H. et al. Abnormal zinc and copper metabolism in hepatic steatosis. *Boll. Chem. Farm.*, v.135, n.10, p.591-7, Nov., 1996.
- 48 MOELLERING, R.C. Special consideration of the use of antimicrobial agents during pregnancy, post partum, and in the newborn. *Clin. Obst. Gynecol.*, v.22, n.2, p.373-8, June 1979.
- 49 MONFORT, J.A. et al. Maternal and fetal blood levels after administration of oxytetracycline. *N. Y. State J. Med.*, v.15, p.263-6, Jan. 1963.
- 50 MONTGOMERY, E.H. Antibacterial antibiotics. In: YAGIELA, J.A., NEIDLE, E. A., DOWD, F.J. *Farmacology and therapeutics for dentistry*. 4.ed. St. Louis: Mosby, 1998. Cap.37, p.496-533.
- 51 NEU, H.C. A symposium on the tetracyclines: a major appraisal. *Bull. N. Y. Acad. Med.*, v.54, n.2, p.141-55, Feb. 1978.

- 52 NEUVONEN, P.J. Interactions with the absorption of tetracyclines. *Drugs*, v.11, n.1, p.45-54, 1976.
- 53 ÖBEK, A. et al. Effects of tetracycline on the dog kidney: a functional and ultrastructural study. *Isr. J. Med. Sci.*, v.10, n.7, p.765-71, July 1974.
- 54 OKA, H. et al. Limited survey of residual tetracyclines in tissues collected from diseased animals in Aichi prefecture, Japan. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v.74, n.6, p.894-6, 1991.
- 55 OKA, H. et al. Improvement of chemical analysis of antibiotics XXIII<sup>1</sup>. Identification of residual tetracyclines in bovine tissue by electrospray high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, v.693, n.2, p.337-44, 1997.
- 56 OLIVEIRA E SILVA, J.R., ROCHA, R.F. Efeitos do cloridrato de tetraciclina em fetos de ratas tratadas com o antibiótico. *Rev. Odontol. UNESP*, São Paulo, v.24, n.1, p.109-15, 1995.
- 57 ORY, E.M. The tetracyclines. *Med. Clin. North Am.*, v.54, n.5 p.1173-86, Sept. 1970.
- 58 PETERS, R.L. et al. Tetracycline-induced fatty liver in nonpregnant patients. *Am. J. Surg.*, v.113, p.622-31, May 1967.
- 59 POSYNIK, A. et al. Determination of tetracycline residues in animal tissues by liquid chromatography. *Biomed. Chromatogr.*, v.12, n.5, p.294-99, 1998.

- 60 PROBER, C. Fármacos antimicrobianos que afetam a síntese de proteínas celulares. In: KALANT, H., ROSCHALU, W.H.E. *Princípios de farmacologia médica*. Trad. P. Silva. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.457-65.
- 61 RIDGWAY, H.A. et al. Hyperpigmentation associated with oral minocycline. *Br. J. Dermatol.*, v.107, p.95-102, 1982.
- 62 ROBINSON, M.J., RYWLIN, A.M. Tetracycline-associated fatty liver in the male: report of an autopsied case. *Dig. Dis.*, v.15, n.9, p.857-62, Sept. 1970.
- 63 ROLLE, G.K., BEVELANDER, G., FISHER, H. Appearance and persistence of tetracycline: induced fluorescence in the bones of embryonic and growing chicks. *Am. J. Vet. Res.*, v.23, p.315-9, Mar. 1962.
- 64 ROMERT, P., MATTHIESSEN, M.E. Tetracycline-induced oranges in hepatocytes of mini-pigs and mini-pigs foetuses as revealed by electron microscopy. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A*, v.94, p.125-31, 1986.
- 65 SAXÉN, I. Associations between oral clefts and drugs taken during pregnancy. *Int. J. Epidemiol.*, v.4, n.1, p.37-44, 1975.
- 66 SCHIFFER, M.A. Fatty liver associated with administration of tetracycline in pregnant and nonpregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.96, n.3, p.326-32, Oct. 1966.

- 67 SCHÜLER, L. et al. Fármacos e gestação. FUCHS, F.D., WANNMACHER, L. *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. Cap. 62, p.602-8.
- 68 SCHULTZ, J.C. et al. Fatal liver disease after intravenous administration of tetracycline in high dosage. *N. Engl. J. Med.*, v.269, n.19, p.999-1004, 1963.
- 69 SHAUER, B. A., LUKACS, L., ZIMMERMAN, H.J. Biochemical indices of tetracycline hepatic injury in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.147, n.3, p.868-72, 1974.
- 70 SHERLOCK, S. Acute fatty liver of pregnancy and the microvesicular fat diseases. *Gut.*, v.24, n.4, p.265-9, 1983.
- 71 SILVANY FILHO, A.M. *Drogas na gravidez*. SILVA, P. *Farmacologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980. cap. 23, p.161-7.
- 72 SIMONS, J.J., MORALES, A. Minocycline and generalized cutaneous pigmentation. *Am. Acad. Dermatol.*, v.3, n.3, p.244-7, Sept., 1980.
- 73 STEINER, G., BRADFORD, A.B., CRAIG, J.M. Tetracycline-induced abortion in the rat. *Labor. Invest.*, v.14, n.8, p.1456-63, 1965.
- 74 STEVENSON, S. Oxytetracycline nephrotoxicosis in two dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.176, n.6, p.530-1, Mar. 1980.

- 75 TAVARES, W. Tetraciclina. In: \_\_\_\_\_. *Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos*. 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1996. Cap.22, p. 511-20.
- 76 TERRANOVA, V. P. et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J. Periodontol. Res.* v. 21, n.4, p. 330-7, 1986.
- 77 TÖTTERMAN, L.E., SAXÉN, L. Incorporation of tetracycline into human foetal bones after maternal drug administration. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v.48, n.4, p.542-9, 1969.
- 78 VAALA, W.E., EHLEN, S.J., DIVERS, T.J. Acute renal failure associated with administration of excessive amounts of tetracycline in a cow. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.191, n.12, p.1601-3, 1987.
- 79 WALKER, R.G. et al. Minocycline-induced acute interstitial nephritis. *Br. Med. J.*, v.24, p.524, Feb. 1979.
- 80 WALLMAN, I.S., HILTON, H.B. Teeth pigmented by tetracycline. *Lancet.*, v. 1, p. 827, 1962, apud COHLAN, S.Q., BEVELANDER, G., TIAMSIC, T. Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Am. J. Dis. Child.* v.105, p.65-73, May 1963.
- 81 WANNMACHER, L., FERREIRA, M.B.C. Uso de fármacos durante a gestação e lactação. In: \_\_\_\_\_. *Farmacologia clínica para dentistas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p.169-71.

- 82 WHALLEY, P.J., ADAMS, R.H., COMBES, B. Tetracycline toxicity in pregnancy. *J. Am. Med. Assoc.*, v.189, n.5, p.103-8, Aug. 1964.
- 83 WHALLEY, P.J. et al. Tetracycline disposition in normal pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, v.28, n.1, p.103-10, July 1966.
- 84 WHITE, S.W., BESANCENEY, C. Systemic pigmentation from tetracycline and minocycline therapy. *Arch. Dermatol.*, v.119, n.1, p.1-2, Jan. 1983. (Letters).
- 85 WIKESJÖ, U.M.E. et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment condition dentin surfaces. *J. Periodontol. Res.*, v. 21, n. 4, p. 322-9, 1986.
- 86 WOLFE, I.D., REICHMISTER, J. Minocycline hiperpigmentation: skin, tooth, nail and bone involvement. *Cutis*, v.33, n.5, p.457-8, May 1984.

MACHADO, A.L.S. *Influência da tetraciclina no desenvolvimento hepático e renal de filhotes de ratas*. São José dos Campos, 2000. 80p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da tetraciclina administrada a ratas prenhas no desenvolvimento hepático e renal de filhotes. Foram utilizadas quinze ratas sendo três controles e 12 tratadas. As ratas controle receberam injeções de solução fisiológica, enquanto as dos grupos experimentais foram tratadas com cloridrato de tetraciclina nas doses de 25, 50, 75 e 100mg/kg, via intraperitoneal, em dose única, no décimo dia da gestação. Os filhotes foram sacrificados ao nascer, com dez, vinte e trinta dias de vida. A análise histológica do fígado mostrou vacuolização, necrose, inflamação e dilatação sinusoidal principalmente em recém-nascidos. Mítoses, aumento precoce da população de células de Kupffer, hipertrofia de hepatócitos com maior síntese de glicogênio foram mais acentuadas nos filhotes com dez e vinte dias. No rim verificamos vacuolização tubular e necrose discretas, que ficaram mais evidentes nos recém-nascidos, e sinais de regeneração tubular aos dez e vinte dias. Os resultados sugerem que os órgãos estudados sofreram alterações morfológicas transitórias durante o desenvolvimento, mas revelaram indícios de regeneração ao longo do tempo.

Palavras-chave: Gestação, desenvolvimento; cloridrato de tetraciclina, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade.



MACHADO, A.L.S. *Influence of tetracycline in hepatic and renal development of rats offspring* São José dos Campos, 2000. 80p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista.

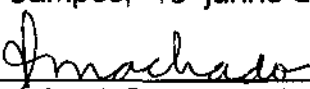
#### **ABSTRACT**

*This study aims to evaluate the possible effects of tetracycline administered to pregnant rats on kidney and liver development of their offspring. Fifteen rats were used - three controls and twelve treated ones. The control group received saline injections while the experimental groups were administered tetracycline chlorhidrate in the doses of 25, 50, 75 and 100mg/kg, intraperitoneally, in a single injection, on the tenth day of pregnancy. The suckling were sacrificed at birth and after ten, twenty and thirty days of life. The liver specimes showed vacuolizations, necrosis, inflammation and sinusoidal dilatations, more evident in the newborn. Mitosis, early increase of Kupffer cells population and hipertrophy of hepatocytes with greater synthesis of glycogen were present in the 10<sup>th</sup> and twentieth days of life. The kidney specimens showed slight tubular vacuolizations and necrosis, more prominent in the newborn, as well as signs of tubular regeneration at the tenth and twentieth days. These results suggest that the organs studied went through several transitory morphological changes during development but presented signs of regeneration along the first days of life.*

*Key words: Pregnancy, development; tetracycline chlorhidrate, hepatotoxicity, nephrotoxicity*

Autorizo a reprodução xerográfica deste trabalho.

São José dos Campos, 16 junho de 2000.

---

ANA LOURDES DA SILVA MACHADO