

Efeitos da Exposição Alcoólica e Desnutrição sobre as Células de Purkinje em Cerebelos de Ratos: uma Revisão Sistemática

Effects of Alcohol Exposure and Malnutrition on the Purkinje Cells in the Cerebellum of Rats: a Systematic Review

Thiago Luiz de Almeida Silva⁽¹⁾, Juliana Carla Serafim da Silva⁽²⁾, Thaísa de Carvalho Macaúbas⁽³⁾, Maria Julliana Galvão Nunes⁽⁴⁾, Mário Ribeiro de Melo Júnior⁽⁵⁾, Nicodemus Teles de Pontes Filho⁽⁶⁾

RESUMO

Objetivo: Revisar na literatura os efeitos do álcool associado à desnutrição, na morfologia quantitativa nas células de Purkinje em cerebelos de ratos. Métodos: Foi feita um revisão sistematizada em busca de artigos na base de dados LILACS, SciELO, PubMed e MEDLINE. Foram selecionados artigos que retratavam-se em estudos com animais e com seres humanos, e que avaliasse a morfologia quantitativa das células de Purkinje. Resultados: Para o efeito do alcoolismo, foram encontrados 83 artigos na BVS (Biblioteca Virtual de Saúde) onde esta engloba os periódicos; LILACS, SciELO e MEDLINE, 03 artigos na Revista Elsevier, e 12 na PubMed, totalizando 98 artigos, desses foram selecionados 5 artigos. Para os efeitos da desnutrição foram encontrados 17 artigos distribuídos na BVS, destes foram 2 selecionados. O total de artigos coletados e analisados foram 115, onde destes, foram filtrados um total de 7 artigos para esta revisão. Conclusão: Para o presente órgão estudado o cerebelo, as duas variáveis; alcoolismo e a desnutrição demonstraram uma total influência na morfologia do cerebelo, alterando a disposição das células de Purkinje.

PALAVRAS-CHAVE: Alcoolismo; desnutrição; cerebelo; e células de Purkinje; revisão sistemática.

Pós-graduação em Patologia - Universidade Federal de Pernambuco
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami-LIKA-UFPE

^(1*) Mestrando em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco/UFPE

⁽²⁾ Mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco/UFPE

⁽³⁾ Aluna de Iniciação Científica-LIKA/ UFPE

⁽⁴⁾ Aluna de Iniciação Científica-LIKA/ UFPE

⁽⁵⁾ Doutor em Ciências Biológicas

Professor Titular da ASCES

⁽⁶⁾ Doutor em Nutrição pela UFPE

Professor Titular da UFPE

Correspondência^(1*): R. Francisco Porfírio nº 63, Afogados, CEP: 50.770-500, Recife-PE, Brasil

Telefone: (81) 8867.8442

e-mail: thiagot2@gmail.com

ABSTRACT

Objective: To revise in literature the effect of the alcohol associated with the malnutrition, in the quantitative morphology in the cells of Purkinje in cerebellums of rats. Methods: A revision systemize in article search was made in the database LILACS, SciELO, PubMed and MEDLINE. Articles had been selected that apologized in studies with animals and discarded studies in human beings, and that it did not evaluate the quantitative morphology of the Purkinje cells. Results: For the effect of alcoholism, 83 articles in the BVS had been found (Virtual Library of Health) where this engloba the periodic ones; LILACS, SciELO and MEDLINE, 03 articles in the Magazine Elsevier, and 12 in the PubMed, totalizing 98 articles, of these had been selected 5 articles. For the effect of the malnutrition 17 articles distributed in the BVS had been found, of these had been 2 chosen teams. The collected and analyzed article total had been in 115, where of these, form filtered a total of 7 articles for this revision. Conclusion: For the present studied agency the cerebellum, the two variables; alcoholism and the malnutrition had demonstrated to one total influence in the morphology of the cerebellum, modifying the disposal of the Purkinje cells.

KEY WORDS: Alcoholism; malnutrition; cerebellum; e Purkinje cells; systematic revision.

INTRODUÇÃO

As células de Purkinje pertencem filogeneticamente ao neocórtex cerebelar, evolutivamente a região mais recente e com uma citoarquitetura caracterizada por três camadas: molecular, Purkinje e granular^(12,28). A célula de Purkinje é o elemento dominante do processo de informação cerebelar e pode apresentar alterações degenerativas na senescência que podem ser notadas por métodos de coloração simples como o Hematoxilina e Eosina (H.E.)⁽³¹⁾.

A ingestão crônica de álcool leva a doenças sociais e degenerativas de importância, como; tolerância a dependência, graves distúrbios neurológicos e mentais, muitas vezes com decréscimo das células cerebrais e cerebelares em humanos e animais^(9,38).

Uma região do sistema nervoso central sensível a exposição precoce ao álcool é o cerebelo⁽⁵⁾.

O álcool induz a redução das células de Purkinje, bem como a densidade de volume dessas células, durante o período pós natal em exposição alcoólica⁽³⁾.

Em ratos recém-nascidos que recebem cronicamente álcool por via aérea foi observado que as células-alvo foram as células de Purkinje que

diminuíram em número, depois foram atingidas as células granulares⁽⁵⁾.

O etanol causa danos nos órgãos em geral e nos neurônios adultos ou em desenvolvimento⁽²⁾ e induz importantes efeitos neurotóxicos no desenvolvimento do sistema nervoso central^(7,3). A exposição ao etanol pode provocar distúrbios na interação neurônio-glia e também contribuir para anormalidades, observados na síndrome do alcoolismo fetal, na porção central do sistema neural⁽³⁰⁾.

A maturação do Sistema Nervoso Central (SNC) depende de diretrizes genéticas, da complexidade e do grau da estimulação ambiental e de alimentação adequada⁽²⁵⁾, sendo a desnutrição um dos principais fatores não genéticos que afetam o desenvolvimento do SNC⁽²⁵⁾.

São fatores críticos na determinação do como e em que extensão o agravo afetará o Sistema Nervoso, a idade na qual a desnutrição ocorre, associada à duração e à gravidade da mesma^(25,26).

A depender do período de desnutrição (fase embrionária, fetal, pós-natal precoce ou tardia), os efeitos na proliferação de diferentes tipos de neurônios (macro e micro) ou de células gliais (astroglia e oligodendroglia) serão diferentes^(26,25). Embora a desnutrição em período específico pré ou

pós-natal, por exemplo, possa causar alterações específicas no SNC, determinadas pela fase na qual o agravo é imposto, em combinação os efeitos podem ser aditivos⁽²¹⁾, como demonstrado em estudos em animais e humanos. A maior parte dos estudos, porém, mostra que a desnutrição pré-natal resulta em deficiências mentais mais importantes e permanentes que a desnutrição pós-natal⁽²⁵⁾.

Muitas são as pesquisas que visam mostrar que a desnutrição induz efeitos deletérios em diferentes áreas do sistema nervoso. Entre essas áreas destacam-se o cerebelo, por mostrar-se particularmente vulnerável a esta condição^(27, 45).

Sob o ponto de vista histológico, observa-se que a desnutrição imposta nos períodos de gestação e lactação, provoca alterações na constituição morfológica do cerebelo e mais especificamente leva a uma sensível redução na espessura das camadas corticais do cerebelo^(27,45,39). No quesito proliferação das células neuronais, a desnutrição promove uma redução dessas células, devido a necessidade nutricional, uma vez que essas células precisam produzir o Ácido Desoxirribonucléico (DNA) em grande quantidade⁽²⁷⁾.

REVISÃO DE LITERATURA

Foi realizada uma busca de artigos nas bases de dados BVS(Biblioteca Virtual de Saúde), mas precisamente nos seguintes periódicos; LILACS, SciELO, e MEDLINE, e na Revista Elsevier. Para essas bases de dados foram utilizados os termos “alcoolismo” + “cerebelo”, “alcoolismo” + “células de Purkinje”, para o efeito do alcoolismo, e para os efeitos da desnutrição “desnutrição” + “cerebelo”, “desnutrição” + “células de Purkinje”. Na base

PubMed, os termos escolhidos foram em inglês “alcoholism + cells Purkinje”, “malnutrition + cells Purkinje”, para os efeitos no cerebelo “alcoholism + cerebellum”, “malnutrition + cerebellum”, nesta mesma base.

Usamos para a elaboração deste trabalho de revisão os critérios de inclusão e exclusão, de conteúdos envolvendo os efeitos danosos provocados pela ação conjunta do álcool e desnutrição.

Foram excluídos artigos de revisão e que não avaliassem os efeitos da ingestão alcoólica associada à desnutrição sobre a morfologia do córtex cerebelar, juntamente com a disposição das células de Purkinje, e incluso artigos envolvendo experimentos com seres humanos, tendo em vista uma semelhança entre o SNC nos mamíferos.

Para os efeitos da ingestão alcoólica foram encontrados 83 artigos distribuídos na BVS, 12 na base PubMed e 3 na Revista Elsevier. Estabelecendo os critérios de inclusão e exclusão foram selecionados um total de 5 artigos.

Para os efeitos da desnutrição foram encontrados 17 artigos distribuídos na BVS, nenhum na base PubMed. Aplicando também os mesmos critérios forma selecionados um total de 2 artigos.

O total de artigos coletados e analisados para esta revisão foi em número 115, onde 7 forma escolhidos para esta revisão sistemática.

Os artigos selecionados e utilizados para esta revisão foram organizados segundo o autor, amostragem, o método utilizado e os resultados obtidos.

Na **tabela 1** identificamos a ingestão alcoólica, som seus respectivo efeitos sobre a disposição das células de Purkinje.

Tabela 1- Estudos que avaliaram os efeitos do álcool sobre as células de Purkinje.

Autor	Amostragem	Métodos avaliativos da disposição e citoarquitetura das Células de Purkinje	Resultados
Alencar ⁽²⁾	n= 24 pacientes necrosados Homens n = 24 Mulheres n = 2	Cortes histológicos corados com H.E., Nissl, Cresil-Violeta e Tricrômico Gomori	Entre os grupos controle e tratados , o efeito tóxico sobre o corpo das células de Purkinje, diferenças entre a densidade de superfície e a densidade volumétrica das células de Purkinje, bem como a sua redução.
Apfal ⁽³⁾	n = 60 ratos da linhagem <i>Wistar</i>	Estereologia	Atrofia celular evidente notada no <i>vermis</i> cerebelar. As células de Purkinje encontravam-se rarefeitas, devido a vulnerabilidade deste neurônio a múltiplos agentes agressores.
Birgitte ⁽⁷⁾	n= 20 homens, tendo idade média entre; 42. 5 e 45.5	Estereologia	Perda e atrofia das células de Purkinje nos grupos tratados com a ingestão de álcool.
Thomas ⁽⁴²⁾	n= 45	Métodos estereológicos	Perda e atrofia celular, dependendo do tempo de exposição dos grupos tratados.
Wei- Jung ⁽⁴⁶⁾	n= 37	Estereologia	O álcool provocou uma significativa perda das células de Purkinje nos grupos tratados, comparados com o grupo controle.

Dos 5 trabalhos encontrados decorrente à busca na base de dados, todos eles avaliaram a disposição das células de Purkinje pelo método estereológico, também chamado de morfometria, desses estudos 3 foram destinados, a experimentação com animais ratos da linhagem *Wistar*, onde o tempo de vida desses animais variou entre o período pós natal, e idade adulta, enquanto os outros dois foram direcionados a experimentação

com seres humanos, obtidos de pacientes necropsiados. Os efeitos causados pela exposição alcoólica nessas células, em ambos experimentos foram; diminuição na densidade celular, atrofia e uma considerável perda celular e redução nas sinapses nervosas na neurópila.

Na **tabela 2** verificamos os efeitos da desnutrição sobre as células de Purkinje, localizadas no córtex cerebelar.

Tabela 2 - Estudos que avaliaram os efeitos da desnutrição sobre as células de Purkinje.

Autor	Amostragem	Métodos avaliativos da disposição e citoarquitetura das Células de Purkinje	Resultados
Júnior ⁽¹⁹⁾	n = 45	Análise morfológica e morfométrica	Agravante retardo na migração neuronal das células localizadas no córtex cerebelar.
Schweigert ⁽³⁴⁾	n = 30 filhotes	Análise morfológica	Redução do peso corporal, redução dos dendritos das células de Purkinje, provocando perda das sinapses nervosas com outros neurônios, localizados na neurópila.

Em ambos os estudos citados nesta tabela, houve um decréscimo de células cerebelares, principalmente de células de Purkinje localizadas na sua respectiva camada, decorrentes ao retardamento de migração dos precursores neuronais, bem como a deficiência das sinapses nervosas, provocadas pela redução desses neurônios.

DISCUSSÃO

Efeitos do álcool nas Células de Purkinje

Diversos estudos experimentais em animais e seres humanos vem informando-nos sobre a morfologia e organização celular, no SNC mas precisamente o cérebro e o cerebelo durante o período pré e pós-natal em ratos submetidos a esta droga.⁽¹²⁾

A exposição alcoólica em ratos submetidos a esta droga, seja qual for a dosagem, e tempo de vida do animal, seja intra ou extra uterina, provocam graves efeitos sobre a citoarquitetura do cerebelo⁽²⁸⁾. O etanol bloqueia a proliferação de precursores neuronais^(26,27), bem como a tardia migração dessas células para o seu local definitivo, prejudicando a formação dos circuitos neuronais⁽²⁵⁾.

Diversos autores^(1,24,28) já mostrava que a influência crônica do álcool provocaria um degeneração progressiva e atrofia das células de Purkinje no córtex cerebelar. Efeitos secundários até mesmo são encontrados em outros órgãos, como por exemplo o fígado, envolvidos em alcoolismo⁽¹⁰⁾.

Em relação ao parâmetro morfométrico, ou seja, quantitativo, a exposição ao álcool demonstrou significativamente um redução do número total de células de Purkinje no *vermis* cerebelar⁽⁴⁵⁾.

Utilizando grandes concentrações⁽⁵⁾ de álcool inalado (239mg/100ml) em ratos recém-nascidos com, (3 a 20 dias) sabidamente mais susceptíveis a intoxicação alcoólica. Nestes animais, o crescimento corporal foi alterado e o crescimento do cerebelo foi inibido mais de duas vezes que o resto do cérebro. Ao microscópio óptico, eles observaram que das duas populações celulares maiores do cerebelo - Purkinje e granular - as primeiras foram afetadas precocemente após dois dias de tratamento.

Um estudo experimental histopatológico realizados com seres humanos, utilizando 42 indivíduos alcoólicas crônicas, evidenciou degeneração na camada de células granulares, só raramente acompanhadas de alterações nas células

de Purkinje, sendo o *vermis* a região mais atingida⁽²⁸⁾.

Em apenas sete dias exposição ao álcool, durante o período neonatal onde ocorre o crescimento do cérebro, há perda induzida pelo álcool nas células de Purkinje dependendo do tempo à exposição. As células Purkinje são bastante vulneráveis a perda em número decorrente ao álcool^(24,28).

Quanto a densidade volumétrica das células de Purkinje, foi observado que em 12 semanas de exposição, houve uma perda considerável deste parâmetro, em relação ao grupo tratado e controle⁽³⁾.

A concentração de álcool (teor alcoólico) é muito importante, e não o dia inicial da exposição e a duração da exposição. Estas duas últimas variáveis não foram identificadas como críticas⁽³⁰⁾.

Havendo controvérsias sobre o tempo de exposição⁽³⁹⁾, e a concentração do álcool^(3,5,30), conclui-se que; os efeitos severos sobre a perda das células de Purkinje depende sim do tempo da exposição alcoólica.

Estudos sobre ingestão de álcool e peso cerebral relacionado à gestação - lactação e/ou lactação são escassos e as conclusões divergentes; enquanto, na gestação - lactação é inibida a proliferação da matriz celular e de alguns tipos específicos de células⁽³⁹⁾, na lactação a ingestão de baixas doses de etanol poderá provocar efeitos deletéricos no Sistema Nervoso Central, seguido de uma redução na expressão de neurotrofina. De um modo geral, a administração crônica de etanol, neste período, poderá influenciar a plasticidade do Sistema Nervoso Central durante o desenvolvimento⁽¹⁶⁾.

Efeitos da desnutrição nas Células de Purkinje

Um dos fatores de risco mais prováveis para a malformação do Sistema Nervoso Central em recém-nascidos é a desnutrição materna,⁽³⁷⁾ na verdade a desnutrição é uma variável intimamente associada a questão do alcoolismo.

O consumo do etanol gera desnutrição por vários mecanismos. Em primeiro lugar, substitui as calorias vazias, mas não parecem ser aproveitadas para crescimento corporal e não são acompanhadas de vitaminas e sais minerais⁽²³⁾

Tanto os estudos com desnutrição apenas protéica⁽⁴⁵⁾, quanto aqueles que utilizaram modelos de privação de quantidade total de ração oferecida sem alterar sua qualidade⁽³⁶⁾, concluíram que o etanol tem efeitos sobre o feto desnutrido que são mais graves do que causados no feto não desnutrido.

Em outros estudos⁽¹²⁾, o esqueleto fetal teve seu desenvolvimento atrasado pelo etanol apenas nos fetos desnutridos, e em relação ao peso fetal, em um dos estudos só foi diminuído pelo etanol, na presença da desnutrição.

Estudos experimentais com animais de laboratório mostraram que a desnutrição no início da vida pós-natal reduz a taxa de crescimento do Sistema Nervoso Central e o número de neurônios e produz um córtex cerebral mais fino, mielinização deficiente, arborização dendrítica pobre e várias alterações nas espinhas dendríticas⁽⁶⁾. Lactentes que sofreram desnutrição grave apresentam distúrbios de neurointegração e graus variáveis de retardo mental documentados anos após a recuperação⁽¹¹⁾.

A desnutrição protéico-calórica materna não produz déficit neurológico ou intelectual permanente no feto porque o crescimento cerebral não é afetado⁽³⁹⁾. Contudo, durante os primeiros 24 meses de vida pósnatal, a desnutrição exerce sua lesão neurológica mais grave⁽¹⁴⁾.

Um estudo recente analisou a densidade e morfologia das espinhas dendríticas em neurônios corticais de 13 lactentes que morreram de desnutrição grave, em comparação com sete lactentes eutróficos que morreram por outras causas⁽¹¹⁾. Os autores encontraram alterações marcantes nas espinhas dos dendritos apicais, semelhantes às descritas no recém nascidos por outras causas, e concluíram que embora não fosse possível demonstrar que essas alterações são a causa de - e não uma relação coincidente com -

retardo mental, elas podem representar a base da disfunção sináptica associada à desnutrição grave em baixa idade.

Estudos experimentais indicam regiões do Sistema Nervoso Central que são mais sensíveis aos efeitos da desnutrição, tais como algumas camadas corticais, córtex cerebelar e hipocampo⁽¹³⁾.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, R. D.; VICTOR, M. ; MANCALL, E. L. Central pontine myelinolysis. Arch Neural Psychiat v. 81, p. 154, 1959.
2. ALENCAR, A. A.; AZEVEDO, B. A.; SCHAFFER, G. V. Nota sobre as alterações dos córtices cerebral e cerebelar no alcoolismo crônico / Cerebral and cerebellar cortices changes in chronic alcoholism. Ver. Bras. Neurol. 24(3), v.7, p. 1-5, 1998
3. APFEL, M.R. *et al.* Estudo estereológico das células de Purkinje cerebelares submetidas à intoxicação alcoólica em ratos *wistar*. Associação Arquivos de Neuro-Psiquiatria.
4. BARNES, D. E. ; WALKER, D.W. Prenatal ethanol exposure permanently reduces the number of pyramidal neurons in rat hippocampus. Dev Brain Res; V.1; p. 333-340, 1981.
5. BAUER, M. C.; ALTMAN, J. The effect of ethanol chronically administered to preweanling rats on cerebellar development: a morphological study. Brain Res; 119 p. 249-268, 1977.
6. BENÍTEZ-BRIBIESCA, L.; ROSA-ALVAREZ, I.; MANSILLA, O. A Dendritic spine pathology in infants with severe protein-calorie malnutrition. Pediatrics.; 104(2): e 21, 1999.
7. BIRGITTE B. A. Reduction of Purkinje cell volume in cerebellum of alcoholics. Brain Research 1007, p. 10-18, 2004.
8. CLOS, J. *et al.* Effects of undernutrition on cell formation in the rat brain and specially on cellular composition of the cerebellum. Brain Res; 123 p. 13-26, 1977.
9. CHEN, W.J.A.; PARMELL, S.E. ; WEST, JR. Neonatal alcohol and nicotine exposure limits brain growth and depletes cerebellar Purkinje cells. Alcohol 15:33– 41, 1998
10. CHEN, W-J. A.; PARNELL, SE.; WETS, JR. Early posnatal alcohol exposure produced long-term deficits in brain weigh, but not the number of neurons in the locus coeruleus. Develop Brain Res; 118 ; p.33-38, 1999
11. CRAVIOTO, J.; ARRIETA, M.; Efecto de la desnutrición sobre El desarrollo neurointegrativo del niño. Bol Med Hosp Inf Mex.; 39:708-24, 1982.
12. CROSSAN, AR, ; NEARY, D. Neuroanatomia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
13. DEL, A.-M.; AR, R.-C.; L, O.; E, PEREZ, V. M. Gonzalez-Burgos I. A tryptophan-deficient corn-based diet induces plastic responses in cerebellar cortex cells of rat offspring. Int J Dev Neurosci.; 19(4), p. 447-53, 2001.
14. DELONG, GR. Effects of nutrition on brain development in humans. Am J Clin Nutr., 57:286-90, 1993.
15. DLUGOS, C. A.; PENTNEY, R. J. Morphometric evidence that the total number of synapses on Purkinje neurons of old F344 rats is reduced after on-term ethanol treatment and restored to control levels after recovery. Alcohol; 32:161-172, 1997.

16. GERMANI, E.; SUCK, M.L.; DI GIULIO, A. M.; GORIO, A. Perinatal supplementation of low doses of ethanol enhances 5 - HT resoration in the central nervous system. *Journal of Neuroscience Research*, v. 58, n. 3, p. 449-455, Nov. 1999.
17. GONZALEZ, M. A, *et al.* Purkinje cell density in cerebella of alcoholized and non-alcoholized male rat offspring. *Arch Med Res*; 25 p. 427-434, 1994.
18. GOPINATH, G.V. *et al.* Undernutrition and developing cerebellar cortex in the rat. *J. Neuroapoths. Exp. Neural* v.35, p.125-130, 1976.
19. JÚNIOR, J. C. B. ; MELLOE, V. S. L. ; LEPRI, E. R. Efeitos da dieta hipoprotéica no desenvolvimento de ratos Wistar, com ênfase no córtex cerebelar. *Anais do XVI EAIC-26 a 29 de Setembro*, 2007.
20. KARHUNEN, P.J. ; ERKINJNTII T. ; LAIPPALA, P. Moderate alcohol consumption and loss of cerebelar Purkinje cells. *Br Med J* 1994; 308:1663-1667.
21. Kehoe, P. Mallinson K, Bronzino J, McCormick CM. Effects of prenatal protein malnutrition and neonatal stress on CNS responsiveness. *Dev Brain Res.*; 132(1):23-31, 2001.
22. LANDS, W. A Summary of the Workshop "Alcohol and Calories: A Matter of Balance". *J. Nutr.* 123; 1388-1341, 1993.
23. LIEBER, CS. The metabolism of alcohol. *Scientific American* 234, p. 25-33, 1976.
24. LYNCH, M. J. G. Brain Lesions in chronic alcoholism. *Arc Pathol*, v. 69, p. 342-356, 1960.
25. MILLER, M. W. Migration of cortical neurons is altered by gestational exposure to alcohol. *Alc. Clin. Exper. Res.* 17, p. 304-314, 1993.
26. MORGANE, J.P.; Mokler DJ, Galler JR. Effect of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Rev. Neurosci Biobehav*; v. 26(4): 471-83, 2002.
27. MORGANE, P. J. *et al.* Prenatal malnutritiom and development of the brain . *Neuroscience and Bioheviorel Reviews.* 17, 91-128, 1993.
28. NEUBUERGER, K. T. The changing neuropathologic pictures of chronic alcoholism. *Arch Path*, v. 63, p. 1-6, 1957.
29. PAKKENBERG, B.; GUNDERSEN, HJG. Total number of neurons and glial cells in human brain nuclei estimated by disector and the fractionator. *J Microsc* ; p. 150:1-20, 1988.
30. PALKOVITS, M.; MAGYAR, P. J. Szentágotahi. Quantitative histological analysis of the cerebellar cortex in the cat. II. Cell numbers and densities in the granular layer. *Brain Res*; 32:15-30, 1971.
31. PENTNEY, RJ. Measurements of dendritic path lengths provide evidence that ethanol-induced lengthening of terminal dendritic segments may result from dendritic regression. *Alcohol* ;30: p. 87-96, 1995.
32. PIERCE, DR.; WILLIAMS, D.K., Light KE. Purkinje cell vulnerability to developmental ethanol exposure in the rat cerebellum. *Alcohol Clin Exp Res* ;23:1650-1659, 1999.
33. ROGERS, J. Z. SF.; BLOOM, FE.; RONAL, I EM. Senescent microstructural changes in rat cerebellum. *Brain Res*; 292:23-32, 1984.
34. SCHWEIGERT, I. D.; SOUZA, D. O. G. S.; PERRY, M. L. S. Desnutrição e maturação do Sistema Nervoso Central e doenças

- neuropsiquiátricas. Rev. Nutr. vol.22 no. 2, 2009.
35. SILVA, N.F.R.; MENEZES, A.C.C.; MALLHEIROS, L. R. E. Effects of ethanol and malnutrition on neuromotor development of rats. Braz J. Med. Biol. Res. 27; p. 1377-1383, 1994.
 36. SILVA, A. Álcool e Teratogênese. Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina, 1981.
 37. SILVA, V. A. Efeitos do álcool e da desnutrição. Mundo e vida, v.2; 2000
 38. SIMA, A.; PERSON, L. The effect of pre and pos undernutrition on the development of rat cerebellar cortex. Part I (Morphological Observations). Neurobiol, v.5, p. 23-34, 1975.
 39. STEIN, Z. *et al.* Nutrition and mental performance: prenatal exposure to the Dutch famine of 1944-1945 seems not related to mental performance at age 19. Science, 178:708-13, 1972.
 40. SVANIDZE, I. K.; DIDIMOVA, E. V.; TSAISHVILI, T.S. Proliferative activity of the matrix cells in the lateral ventricles and granule cells in the dentate gyrus of the hippocampus in the rats after pre-and postnatal alcoholic intoxication. Izv Akad Nauk Ser Biol, v. 9, n. 1, p. 117-120, 2001.
 41. TABBAA S.; D. CA, Pentney RJ. The number of Granule cells and spine density on Purkinje cells in aged, ethanol-fed rats. Alcohol; 17, p.253-260, 1999.
 42. THOMAS, J. D. ; CHARLES, R. G. ; JAMES, R. W. Alcohol-induced purkinje cell loss depends on developmental timing of alcohol exposure and correlates with motor performace. Developmental Brain Research, v. 105, p. 159-166, 1998.
 43. TONETTE, S.S.Q; TRINDADE C; NOBREGA, F. J. Repercussão da desnutrição protéico-calórico intra-uterino, no Sistema Nervoso Central. In Nobrega, F.J. (ed). Desnutrição Intra-Uterina Pré e Pós Natal, SP, Panamed, 1981.
 44. WARREN, M. A.; BEDI, K. S. The effects of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the Granule- To- Purkinje Cell ratio in the rat cerebellum. J.- Anet.159, p. 147-153,1998.
 45. WAINWRIGHT, P.; WARD, GR.; BLOM, K. Combined effects of moderate ethanol consumption and a low-protein diet during gestation on brain development in mice. Experimental Neurology 90, p. 422-433, 1985.
 46. WEI-J, A. C. ; EVE, C. B. ; JAMES, R.W. Zinc supplementation does not attenuate alcohol-induced cerebellar Purkinje cell loss during the brain growth spurt period. Alcohol Clin Exp Res, v. 25, No 4, p. 600-605, 2001.
 47. WEST, MJ. ; GUNDERSEN, HJG. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. J Comp Neurol; 296:1-22, 1990.
 48. WEST, MJ. SLOMIANKA, L.; GUNDERSEN, HJG. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. Anat Rec 1991;231:482-497.

