

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

EFEITOS DA INGESTÃO CRÔNICA DE ÁLCOOL NA REGENERAÇÃO DA
GLÂNDULA SUBMANDIBULAR EM RATOS

Marcelo Dewes Hartmann

Prof(a). Orientadora: Dra. Anna Christina Medeiros Fossati

Porto Alegre, dezembro de 2009.

Marcelo Dewes Hartmann

EFEITOS DA INGESTÃO CRÔNICA DE ÁLCOOL NA
REGENERAÇÃO DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR EM RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Professora orientadora: Anna Christina Medeiros Fossati

Porto Alegre, Dezembro de 2009

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer à minha família -Valdir Hartmann, Marcia Elisa Dewes e Eduardo Hartmann- por ser a base de tudo, fonte inesgotável de apoio. Sou imensa e eternamente grato por todo carinho, amor e ajuda que sempre tive, tenho e sempre terei. Sem sombra de dúvida, o sonho de estar me formando Cirurgião-Dentista não seria possível sem vocês. Obrigado. Amo vocês.

Quero agradecer também à minha querida Manuela Bridi, minha namorada que sempre me apoiou com muito carinho nos momentos difíceis da realização do trabalho de conclusão de curso. Obrigado pela constante companhia e por todo amor. Eu te amo.

Não poderia deixar de agradecer à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Faculdade de Odontologia, por me acolherem e me proporcionarem uma excelente formação, como profissional e também como pessoa.

Agradeço à minha professora orientadora, Dra. Anna Christina Medeiros Fossati, por me acolher como iniciação científica, por ser exemplo para mim de profissional e de pessoa. Foi muito bom trabalhar contigo, tenho certeza de que criamos uma grande amizade a qual levarei para sempre. Muito obrigado pela ajuda, pela oportunidade e pela amizade.

Agradeço também pela amizade e pelo apoio de todos envolvidos de alguma maneira neste trabalho: professora Dra. Dalva Padilha, colega acadêmico Felipe Nör e os cirurgiões-dentistas Rafael Lamers e Peter Slongo.

Minha caminhada não seria possível sem grandes amizades. Alguns nomes: Alfredo Laydner, Rafael Saurin Pinto, Pedro Henrique Maurício de Jesus, Roberto Franco Lazzarotto, Bruno Bronzatto, Alessandro Antonello, Carolina Lemos, Cristian Santos, Jéferson Lagoas, Mayke Veronez, Lucas Portela, André Santos, Dyego Lemos, Alessandro Santana Almeida, Luiz Makito Osawa Gutierrez, Maurício Moreira, Gustavo von Diemen Ligocki e Rodrigo Petry. Agradeço a todos vocês e também a todos outros amigos e familiares.

SUMÁRIO

1. RESUMO	5
2. ABSTRACT	6
3. ARTIGO	
3.1 INTRODUÇÃO	7
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	9
3.3 RESULTADOS	11
3.4 DISCUSSÃO	11
3.5 CONCLUSÕES	13
3.6 REFERÊNCIAS	13
4. ANEXOS	
4.1 ANEXO A (Figuras)	15
4.2 ANEXO B (Comprovante de aprovação – Comitê de Ética)	17

RESUMO

Manter uma boa saúde bucal depende, entre outros fatores, de um fluxo salivar adequado. Visto que a saliva é secretada pelas glândulas salivares, a integridade destas se faz muito importante. Sendo assim, a regeneração destas estruturas, frente a alguma perda, é essencial para o restabelecimento de suas funções fisiológicas. Sabe-se que o consumo de álcool é danoso ao organismo e traz diversas alterações, inclusive no metabolismo glandular. Este estudo investiga o efeito do álcool na regeneração da glândula submandibular (GSM) em ratos. O grupo teste (GT) ingeriu etanol a 40°GL durante 45 dias e o grupo controle (GC) recebeu água *ad libitum* durante o mesmo período. Após este tempo, um terço do lobo esquerdo da GSM foi removido. Três e sete dias pós-cirúrgicos, a glândula inteira foi removida e analisada. As células características do processo inflamatório pareceram mais pronunciadas no GT ao terceiro dia, em comparação ao GC. O inverso foi observado no sétimo dia, associado com um desenvolvimento avançado do parênquima do GT. Mudanças na marcação do PAS foram observadas no GT em relação ao GC nos diferentes períodos observados. Estes achados tomados em conjunto, sugerem que provavelmente o álcool altera o processo de regeneração glandular, com avanço na morfogênese e atraso na citodiferenciação da glândula salivar.

Palavras-chave: glândula salivar, regeneração, álcool.

ABSTRACT

Keeping a good bucal health needs a good salivary flow. Since saliva is secreted by salivary glands, the integrity of these ones is very important. Wherefore, these structures's regeneration, opposite a loss, is essential to the restoration of its physiological functions. It is known that alcohol consumption is harmful to the body and brings several changes, including in the glandular metabolism. This study investigates the effect of alcohol in submandibular gland (SMG) regeneration in rats. The test group (TG) received ethanol 40°GL during 45 days and the control group (CG) water *ad libitum* during same period. After, one third of the left SMG lobe was removed. Three and seven days after, the whole gland was excised and analyzed. The inflammatory cells process seemed more pronounced in the TG on day 3, compared to CG. The inverse aspect was observed on day 7, associated with an advanced parenchyma development in TG. Changes in PAS marking was observed in the TG compared to CG in the different periods observed. These findings, together taken, suggest that alcohol changes the glandular regeneration process, with advanced morphogenesis and delay in cytodifferentiation in salivary gland.

Keywords: salivary gland, regeneration, alcohol.



Efeitos da Ingestão Crônica de Álcool na Regeneração da Glândula Submandibular em Ratos

Marcelo Dewes Hartmann

Felipe Nör

Profa. Dra. Dalva Maria Pereira Padilha

Profa. Dra. Anna Christina Medeiros Fossati

Manter uma boa saúde bucal depende, entre outros fatores, de um fluxo salivar adequado. O fluido composto presente na boca em contato com os dentes e mucosa oral, referido como saliva integral, é derivado predominantemente de três pares de glândulas salivares maiores: parótida, submandibular (GSM) e sublingual. No entanto deriva-se também de glândulas salivares menores. A saliva é composta de água, restos celulares, bactérias, eletrólitos, proteínas, mucinas e restos alimentares.²⁶

Hartmann e Nör são graduandos da Faculdade de Odontologia– Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre – RS – Brasil.

Dra Padilha é professora adjunta do Departamento de Odontologia Preventiva e Social – Faculdade de Odontologia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre – RS – Brasil.

Dra. Fossati é professora adjunta do Departamento de Ciências Bológicas – Faculdade de Odontologia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre – RS – Brasil.

As múltiplas funções da saliva relacionam-se a características do fluido e componentes específicos. Exemplos dos primeiros são: efeito de lavagem, solubilização de substâncias que dão sabor aos alimentos, formação do bolo alimentar, limpeza do alimento e de bactérias, diluição de detritos, lubrificação dos tecidos moles orais, e facilitação da mastigação, deglutição e fonação. Exemplos relacionados aos componentes específicos são: proteção do dente pela neutralização de ácidos através de sua capacidade-tampão, manutenção de concentrações supersaturadas de cálcio e fosfato em relação à hidroxiapatita

(mantendo um bom equilíbrio no constante processo de desmineralização e remineralização dentária), e participação na formação da película adquirida do esmalte.²⁴

Os componentes salivares também participam no recobrimento da mucosa oral e na defesa antimicrobiana, bem como em funções digestivas. Assim, a saliva desempenha um papel primordial na saúde oral, e alterações que afetem as funções salivares podem comprometer os tecidos bucais moles e duros em suas funções.¹³

Cerca de dois terços do volume de saliva secretada é produzido pelas GSMs. Estas são glândulas mistas que se constituem de células serosas e mucosas. Embora sejam glândulas predominantemente serosas secretam uma saliva mais viscosa e rica em mucina.⁴

As mucinas neutras (MN) são moléculas hidrofílicas que retêm muita água, resistindo à desidratação e, portanto, sendo efetivas na lubrificação e manutenção da superfície da mucosa úmida. Além disso, mucinas apreendem algumas bactérias, o que sugere que tais espécies devem ser excluídas da boca. Alguns oligossacarídeos das mucinas mimetizam aqueles da célula da superfície da mucosa e assim, competitivamente, inibem a adesão de células bacterianas aos tecidos moles pelo

bloqueio de grupos reativos, as adesinas, que estão nas superfícies das células bacterianas. Dessa forma, as mucinas também interagem com os tecidos duros dentários e podem mediar a adesão de bactérias específicas à superfície do dente.⁹

A perda de alguma porção da glândula salivar, por obstrução, por traumas, remoção cirúrgica de tecido tumoral ou outra alteração patológica, poderá acarretar em prejuízo do fluxo salivar, trazendo conseqüências danosas ao organismo ao alterar o equilíbrio da cavidade bucal. Portanto, a regeneração é essencial para o restabelecimento de suas funções fisiológicas. Assim sendo, a integridade da GSM tem grande importância para a manutenção de um bom fluxo salivar, determinante essencial para uma adequada saúde bucal e geral do indivíduo.

Fossati, *et al.* (2004) demonstraram em seu estudo semelhanças entre o processo de regeneração da GSM de ratos com seu desenvolvimento embrionário, analisando cortes histológicos corados por hematoxilina-eosina (H/E). Neste trabalho, as MN são evidenciadas nos cortes histológicos a partir da técnica histoquímica do ácido periódico de Schiff (PAS). Através da sua expressão é possível concluir se as estruturas de síntese de saliva, ou seja, o

maquinário de síntese celular, está operante. Logo, a evidenciação das MN é utilizada para avaliar a citodiferenciação no processo de desenvolvimento e regeneração da GSM. Foi constatado pelos autores que o pico de produção de MN na regeneração da GSM em ratos sob condições normais ocorre no terceiro dia do processo.

O consumo de álcool pode trazer diversas alterações na cavidade bucal, podendo inclusive contribuir para o aparecimento de lesões neoplásicas. Além disso, pode modificar a estrutura e o metabolismo glandular, alterando a composição da saliva e do fluxo salivar, com conseqüências danosas ao organismo.⁶

Pelo exposto, o objetivo deste estudo é avaliar as alterações decorrentes da ingestão de álcool na regeneração da GSM, avaliando aspectos morfológicos e de citodiferenciação a partir das técnicas de H/E e de PAS, para evidenciação das MN do fluido salivar primário.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção da amostra

Para o presente estudo foram utilizados 12 ratos machos da raça Wistar de 60 dias de vida. O número de ratos foi randomizadamente dividido entre os grupos teste e controle, ambos com mesmo número

de integrantes. O grupo teste (GT) fez ingestão de álcool e o grupo controle (GC) apenas de água. Esta amostra faz parte de um estudo maior, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (número 2005408).

Preparo da amostra

O GT passou por um período de adaptação ao consumo de álcool, utilizando uma quantidade de sacarose e pequena quantidade de etanol. Nesta adaptação foi diminuída gradativamente a concentração de sacarose e aumentada a concentração de etanol até que se atingisse a concentração de 40° GL sem sacarose. O GC, nesta etapa recebeu a solução de adaptação placebo, que consiste em apenas as mesmas concentrações de sacarose sem etanol.

Foi utilizada ração padrão (Nutrival, CR-1 - Nutrival Nutrientes – Curitiba - Brasil), administrada a ambos os grupos. Maravalha esterilizada (Vet-Sul, Porto Alegre, Brasil) e ventilação apropriada com temperatura entre 20-22° C foi disponibilizada. Os ratos foram expostos a apropriado ciclo de claro/escuro (12 h em cada situação). Gaiolas plásticas esterilizadas (Beira Mar - São Paulo, Brazil) com armação metálica abrigaram cada grupo de 3 ratos durante o experimento.

Após a fase de adaptação, transcorreu-se a de consumo crônico de álcool (etanol a 40° GL) por um período de 45 dias pelos ratos do GT, e água *ad libitum* pelos ratos do GC.

Passado o período destes 45 dias, procedeu-se à cirurgia de remoção do terço inferior do lobo esquerdo da GSM de todos os ratos (Figura 1). O procedimento foi realizado sob anestesia, composta de Dopalen e Rompum 0,1 ml/100mg de peso corporal.

Após, os dois grupos foram subdivididos em dois novos grupos, os de 3 e os de 7 dias de regeneração, dando origem assim, a quatro subgrupos ao total. Transcorrido o período de regeneração, esses animais foram sujeitos à eutanásia e procedeu-se à remoção total da glândula.

As peças foram fixadas em solução de Metacarn por 3 horas, processadas e emblocadas em parafina. Foram realizadas secções de 5µm em um micrótomo rotatório. Foram obtidos assim, cortes seriados.

De cada bloco, foram obtidas 3 lâminas (correspondentes aos números 5, 10 e 15 da ordem dos cortes seriados) que contemplassem áreas de regeneração e áreas glandulares preservadas, destinadas à coloração de H/E, para observação morfológica; e à reação histoquímica do PAS, para evidenciação das MN.

Para a técnica do PAS, após desparafinização em estufa a 60° C, o material foi clarificado em xilol, desidratado em concentrações crescentes de álcool, e lavado com água destilada. Após, foi oxidado em ácido periódico a 5% e revelado com reagente de Schiff por 15 min. A contracoloração foi feita com hematoxilina de Harris, e feita a montagem da lâmina com Entellan.

Análise das amostras na microscopia de luz

Realizada esta etapa de processamento do material, as amostras foram analisadas em microscopia de luz, por um examinador devidamente calibrado, quando a análise foi repetida mensalmente. As lâminas coradas em H/E foram utilizadas para se avaliar a morfologia das glândulas nos dois estágios de regeneração, e assim foi possível comparar os diferentes aspectos da regeneração entre os ratos que ingeriram álcool e os que ingeriram apenas água. Já as

lâminas com evidenciação de MN pelo PAS, foram utilizadas para avaliar a quantidade de mucinas produzidas. A quantificação de destas serviu para avaliar o nível de diferenciação celular no processo de regeneração nas duas etapas dos dois grupos.

Análise quantitativa

A quantidade de MN foi quantificada através de um software de imagem (IMAGE J 1.38x) que avalia a quantidade de pigmentos do PAS e seus tons, através de um plugin (Colour Deconvolution) com vetores especificamente calibrados para tal técnica. O software realizou então a contagem da porcentagem média da área marcada por mucinas.

RESULTADOS

Analisando por meio da técnica de H/E, de forma descritiva, a porção da glândula onde está ocorrendo o processo regenerativo, observa-se na Figura 2 que aos 3 dias de regeneração, o aspecto do processo inflamatório do GT parece mais acentuado em relação ao GC. Situação esta que inverteu-se aos 7 dias. Nesse momento, pareceu existir uma conformação morfológica mais avançada no GT em relação ao GC.

Pela análise do PAS (Figura 3), que denota a marcação das MN, pode-se

verificar que no GC, a maior intensidade de marcação de MN ocorre aos 3 dias de regeneração, com a diminuição dessa intensidade aos 7 dias, resultados estes que correspondem a trabalhos anteriores estudados.¹¹ No GT ocorre o inverso, quando a maior intensidade de marcação ocorreu aos 7 dias, estando a glândula corada com pouca intensidade aos 3 dias de regeneração. A Figura 4 mostra o resultado da análise quantitativa segundo o software ImageJ.

DISCUSSÃO

Estudos prévios têm demonstrado que o consumo crônico de álcool leva a alterações no organismo, sendo este fato associado à incidência de inúmeras patologias.⁷ Os tempos de 3 e 7 dias de regeneração foram determinados neste estudo, por terem se mostrado bem mais marcantes, sendo aqueles que apresentaram maiores alterações durante o processo de regeneração normal da GSM.¹¹

Aos 3 dias de regeneração, observou-se que a presença das células participantes do processo inflamatório foi mais acentuada no GT, e isto nos sugere que esta alteração foi decorrente do ato cirúrgico potencializado pelo consumo do álcool. De acordo com este pensamento, estudos feitos sobre a ação do etanol no pâncreas, apontaram que os

metabólitos tóxicos derivados do consumo crônico provocam stress oxidativo, o que leva a uma autodigestão das células acinares e conseqüente necrose celular. Como resultado deste processo, mediadores químicos são liberados, promovendo um recrutamento e ativação de células inflamatórias. As citocinas normais do processo inflamatório parecem ter sua expressão aumentada, promovendo uma quimiotaxia exacerbada das células leucocitárias, e isto levando a um quadro de pancreatite.²¹

Devido ao curto tempo de observação (3 e 7 dias), não foi possível verificar se também na GSM estes eventos celulares e manifestações clínicas se tornam presentes frente ao consumo de álcool.

No entanto, foi possível constatar uma diferença acentuada no padrão morfológico da porção excisada, entre o GT e o GC. O padrão ramificado, característico das glândulas salivares, apresentou-se muito mais adiantado no GT, e aos 7 dias de regeneração, esta região mostrou um aspecto semelhante ao da glândula preservada. Ao contrário, o grupo que ingeriu água *ad libitum* apresentou na mesma região, ainda rudimentos glandulares. Quanto a este aspecto observado, tem sido mostrado pela literatura, que o consumo crônico de álcool

resulta em hiperregeneração da mucosa coloretal. Os mecanismos moleculares possíveis podem envolver os efeitos do acetaldeído e/ou dos radicais livres gerados durante o metabolismo do álcool.^{20,28} No mesmo enfoque, Carrard *et al.* (2004), mostraram que o consumo de 40% de álcool aumenta a proliferação das células epiteliais na porção dorsal da mucosa lingual de ratos. Em vista de tais observações, podemos sugerir que também na GSM de ratos, por algum mecanismo molecular, as citocinas inflamatórias influenciaram no processo regenerativo, promovendo também uma proliferação epitelial aumentada, o que resultaria no aspecto observado em H/E.

Em contraste à morfodiferenciação acentuada do GT, a citodiferenciação deste mesmo grupo, apresentou um provável atraso na síntese das MN pelas estruturas glandulares em formação, quando comparadas ao mesmo tempo de regeneração do GC. Este fato poderia explicar a propensão ao surgimento de alterações da saliva em indivíduos que consomem o álcool rotineiramente. As mucinas regulam a flora oral, por meio de sua atividade antibacteriana, promovendo a interação entre os leucócitos e as bactérias. Além disso, é responsável pela viscosidade e adesividade da saliva.^{22,25} Por outro lado, o

álcool ou seus derivados podem ter determinado uma alteração no padrão da mucina secretada, o que determinaria uma variação na marcação ao PAS. Já foram constatadas mudanças na composição de mucinas durante o desenvolvimento de glândulas parótidas em ratos e camundongos.^{14,23}

CONCLUSÕES

Os dados obtidos sugerem que nos estágios iniciais de regeneração – 3 e 7 dias,

o álcool provocou uma aceleração do padrão morfológico do processo regenerativo da porção excisada da GSM e paralelamente, observou-se que a citodiferenciação apresentou um atraso na sua evolução. Portanto, não consideramos o aspecto observado nos animais que ingeriram álcool uma completa regeneração, visto que a funcionalidade do órgão se mostrou alterada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELSON, D.C.; MANDEL, J.D.; KARMIOLO, M. Salivary studies in alcoholic cirrhosis. *Oral Surg*, v. 41, no 2, p. 188-192, fev. 1976.
- AMENÁBAR, J.M. et al. Uso da Esteriologia como Método na Pesquisa Histológica. *Revista da Faculdade de Odontologia, Porto Alegre*, v. 44, no 1, p. 62-65, jul. 2003.
- AMENÁBAR, J. M. Análise Morfológica das Glândulas Submandibulares de Camundongos Velhos Submetidos ao Consumo de Vinho Tinto e Sulfato de Atropina. 61f. Dissertação (Mestrado em Gerontologia Biomédica) - Pós Graduação em Gerontologia Biomédica, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2002.
- AVERY, J. Fundamentos da Histologia e Embriologia Bucal: Uma Abordagem Clínica. 2^a Ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan. p. 169-175. 2001.
- BANDERAS, J.; GAITAN, L.A.; PORTILLA, J.; AGUIRRE, A. Effects of chronic ethanol consumption on the rat parotid gland. *Arch Oral Biol*, v. 37, no 1, p. 69-72, Jan. 1992.
- CARRARD VC, MENDEZ M, NOLDE J, ALVES L, FOSSATI A, FILHO MS. Influência do consumo de etanol nas glândulas salivares. *Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 17, n. 2, p. 87-92, abr./jun. 2007.
- CARRARD, V.C., M.S. FILHO, P.V. RADOS, A.C. CHAVES and S. LAUZEN IDA. Quantification of silver-staining nucleolar organizer region in epithelial cells of tongue of mice after exposure to, or intake of, alcohol. *Alcohol* 34, 233. 2004
- COLOMBO, C. E. D. Atrofia e Regeneração da Glândula Parótida Após Ligadura do Ducto Excretor: Estudo Histológico, Histoquímico e Imuno-Histoquímico em Ratos. 131f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos. 2001.
- FEJERSKOV O, KIDD E. Cárie Dentária: A Doença e seu Tratamento Clínico. Editora Santos São Paulo. 2005.
- FIGUEIREDO, J.A.P.; BREW, M.C. Histologia Geral Para a Odontologia. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.33-53. 2003.
- FOSSATI, A.C.M.; SALGADO, F.L., GAIO, E.J. Study of the morpho and cytodifferentiation of the submandibular gland of rats submitted to partial excision of one of its lobes. *Rev. Bras. Otorrinolaringol*, vol.70, no.3, p.323-329. May/June 2004.
- FOSSATI, A. C. M. Integrinas e Proteínas da Matriz Extracelular Durante o Desenvolvimento da Glândula Submandibular de Ratos. 105f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000

13. KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. *Histologia e Embriologia Oral: Texto-Atlas-Correlações Clínicas*. 1 ed. São Paulo: Panamericana. p.119-150. 1999
14. IKEDA, R. and S. AIYAMA. Developmental changes in mucous cells of the early postnatal rat parotid gland: an ultrastructural and histochemical study, *Arch Histol Cytol* 60, 185. 1997.
15. MAIER, H. et al. The effect of ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, v. 10, no 28, p. 425-429, Mar. 1988.
16. MORIO, L.A., H. CHIU, K.A. SPROWLES and D.L. LASKIN. Functional heterogeneity of rat hepatic and alveolar macrophages: effects of chronic ethanol administration, *J Leukoc Biol* 68, 614. 2000.
17. OGDEN, G.R.; WIGHT, A.J. A etiology of oral cancer: alcohol. *British journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 36, no 4, p. 247-251, Nov. 1998.
18. SCOTT, J.; BURNS, J., FLOWER, E.A. Histological analysis of parotid and submandibular glands in chronic alcohol abuse: a necropsy study. *J. Clin Pathol*, v. 41, no 8, p. 837-840, Aug. 1988.
19. SIMANOWSKI, U.A. et al. Effect of alcohol on gastrointestinal cell regeneration as a possible mechanism in alcohol-associated carcinogenesis. *Alcohol*, v. 12, no 2, p. 111-115, Mar./Apr.1995.
20. SIMANOWSKI, U.A., N. HOMANN, M. KNUHL, L. ARCE, R. WALDHERR, C. CONRADT, F.X. BOSCH and H.K. SEITZ. Increased rectal cell proliferation following alcohol abuse, *Gut* 49, 418. 2001.
21. SZABO, G., P. MANDREKAR, S. OAK and J. MAYERLE. Effect of ethanol on inflammatory responses. Implications for pancreatitis, *Pancreatology* 7, 115. 2007
22. TABAK, L.A., M.J. LEVINE, I.D. MANDEL and S.A. ELLISON. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity, *J Oral Pathol* 11, 1. 1982.
23. TAKADA, K., S. AIYAMA and R. IKEDA. Morphological and histochemical changes in the secretory granules of mucous cells in the early postnatal mouse parotid gland, *Arch Histol Cytol* 64, 259. 2001.
24. TEN CATE, A. R. *Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função*. 5ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. p. 296-301. 2001.
25. THOMSSOM, K.A., B.L. SCHULZ, N.H. PACKER and N.G. KARLSSON. MUC5B glycosylation in human saliva reflects blood group and secretor status, *Glycobiology* 15, 791. 2005
26. THYLSTRUP A, FEJERSKOV O. *Cariologia Clínica*. 2ª Ed. São Paulo. Santos. p. 13-6. 1995.
27. VALENTINE, J.A.; SCOTT, J.; WEST, C.R.; ST HILL, C.A. A histological analysis of the early effects of alcohol and tobacco usage on human lingual epithelium. *J. Oral Pathol*, v. 14, no 8, p. 654-665, Sep. 1985.
28. VINCON, P., J. WUNDERER, U.A. SIMANOWSKI, M. KOLL, V.R. PREEDY, T.J. PETERS, J. WERNER, R. WALDHERR and H.K. SEITZ. Inhibition of alcohol-associated colonic hyperregeneration by alpha-tocopherol in the rat, *Alcohol Clin Exp Res* 27, 100. 2003.
29. WIGHT, A.J.; OGDEN, G.R. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer - a review. *Oral Oncology*, v. 34, no 6, p. 441-447, Nov. 1998.
30. WU-WANG, C.Y. et al. Effect of ethanol on prostaglandin E2 receptor in rat submandibular salivary glands. *Arch Oral Biol*, v. 37, no 11, p. 869-873, Nov. 1992.
31. WU-WANG, C.Y. et al. Impairment by Ethanol of Prostaglandin Production in Rat Salivary Glands. *Arch Oral Biol*, v. 36, no 1, p. 9-13, Jan.1991.

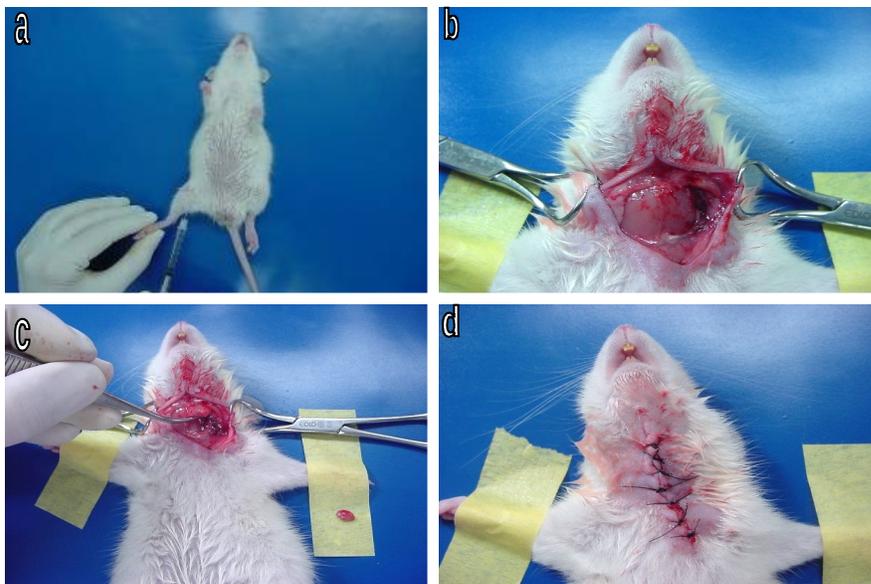


Figura 1. Procedimento de anestesia e sedação do rato (a). Após tricotomia e incisão, é feita a divulsão dos tecidos a fim de se ter acesso à GSM esquerda (b). É então removido o terço inferior da GSM (c). Sutura (d).

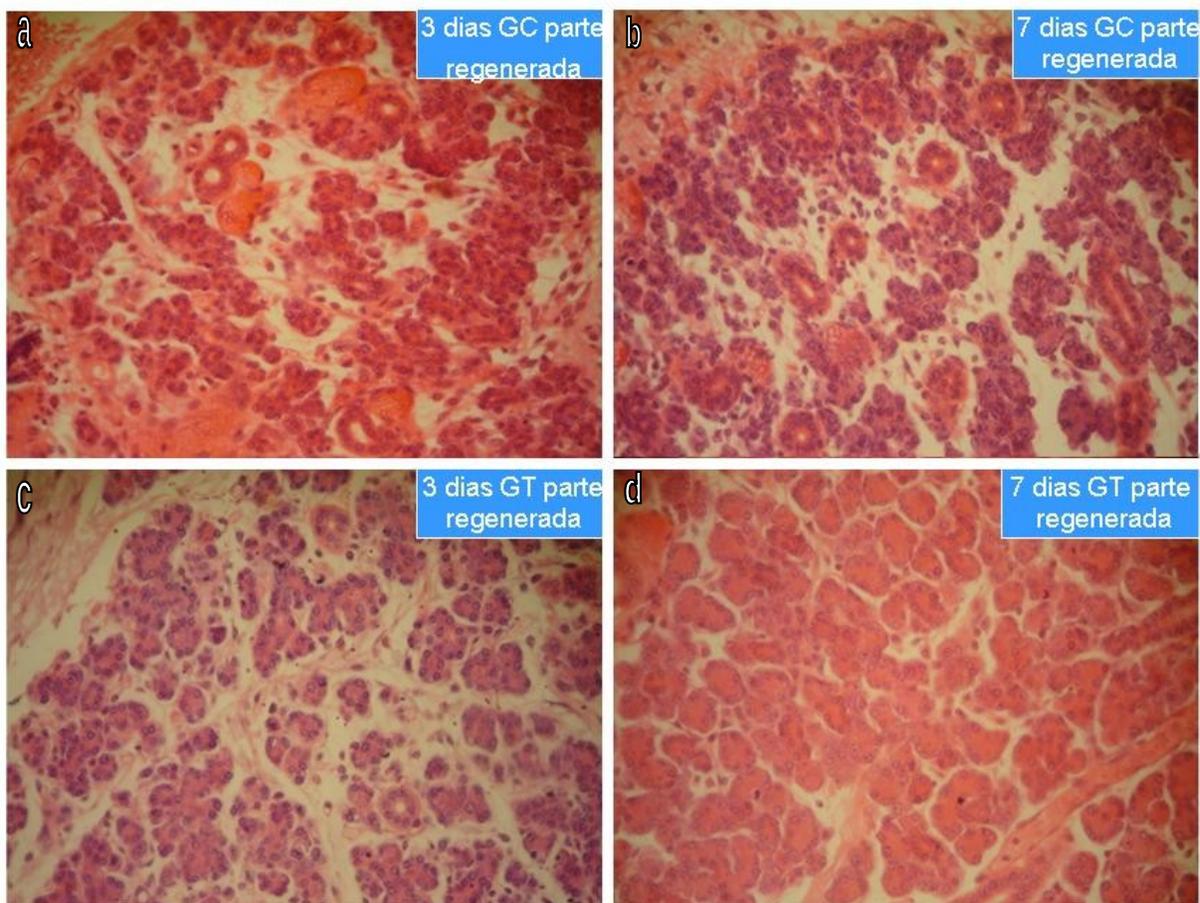


Figura 2. Pannel com imagens de microscopia de luz coradas em HE, das porções de regeneração da GSM de ratos com 3 dias de regeneração dos grupos controle (a) e teste (c); e com 7 dias de regeneração dos grupos controle (b) e teste (d).

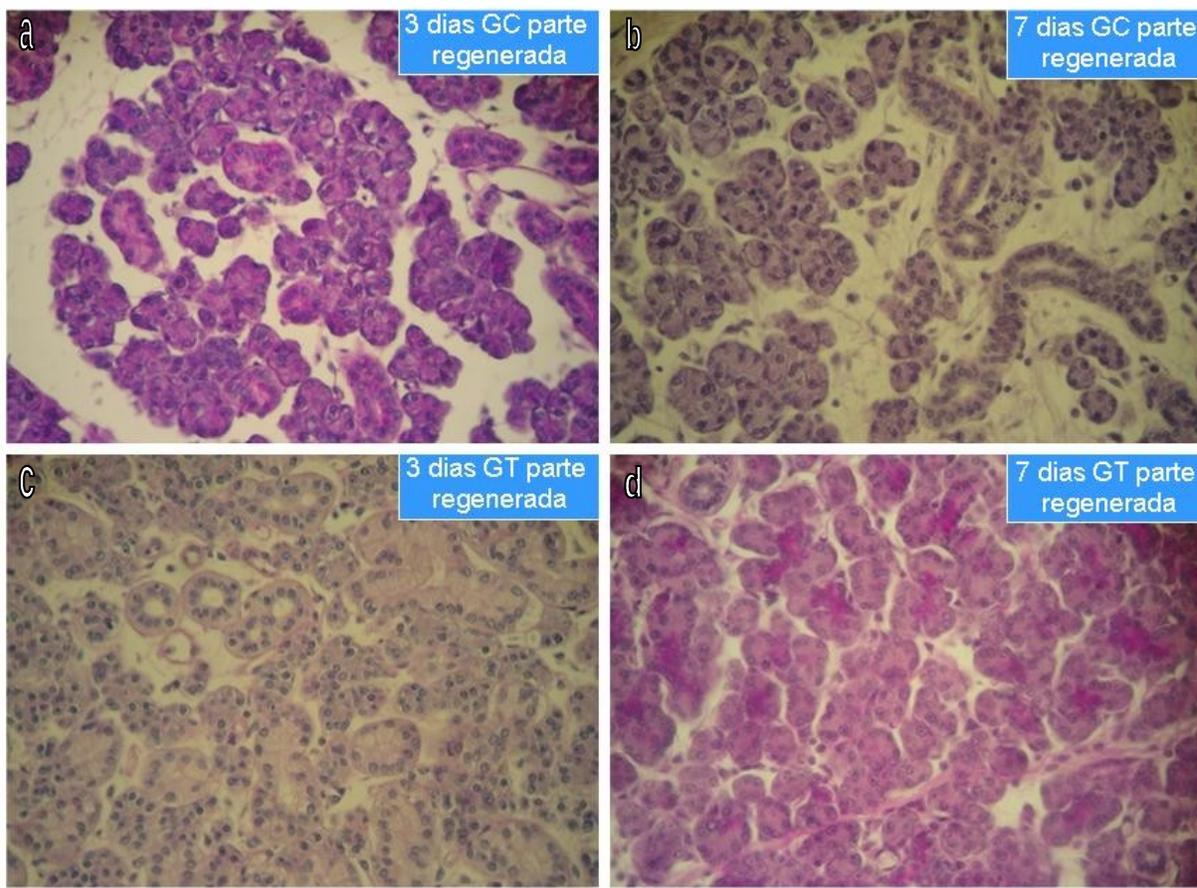


Figura 3. Painele com imagens de microscopia de luz marcadas em PAS, das porções de regeneração da GSM de ratos com 3 dias de regeneração dos grupos controle (a) e teste (c); e com 7 dias de regeneração dos grupos controle (b) e teste (d).

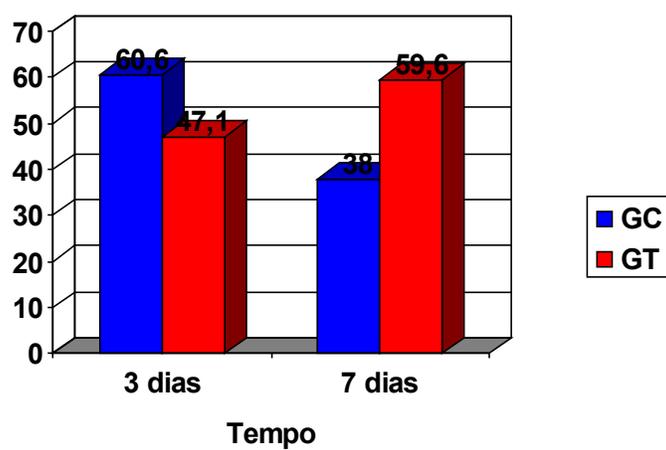


Figura 4. Tabela demonstrando a porcentagem de área marcada por PAS em ambos os grupos nos tempos de 3 e 7 dias, segundo a análise quantitativa realizada com o software ImageJ 1.38x.



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
CARTA DE APROVAÇÃO

pro*pesq

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

Número : 2005408

Título : EFEITOS DA INGESTÃO CRÔNICA DE ÁLCOOL NA REGENERAÇÃO DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE RATOS

Pesquisador (es) :

<u>NOME</u>	<u>PARTICIPAÇÃO</u>	<u>EMAIL</u>	<u>FONE</u>
ANNA CHRISTINA MEDEIROS FOSSATI	PESQ RESPONSÁVEL	annafo@ufrgs.br	33163146
DALVA MARIA PEREIRA PADILHA	PESQUISADOR	dalvapadilha@via-rs.net	33165015
PETER ROBSON SLONGO	PESQUISADOR	peterslongo@yahoo.com.br	
RAFAEL LAZZARON LAMERS	PESQUISADOR	rafalamers@yahoo.com.br	

O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, reunião nº 38 , ata nº 59 , por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, quinta-feira, 30 de junho de 2005



José Roberto Goldim
 Coordenador do CEP-UFRGS