

O efeito da dieta alcoólica sobre o desenvolvimento da glândula submandibular de *Rattus norvegicus* é definitivo?

The effect of alcohol diet in the development of the submandibular gland of *Rattus norvegicus* is definitive?

Jesus Carlos ANDREO

Professor – Centro de Pesquisa e Pós Graduação – USC – Bauru – SP – Brasil

Fabiane Bortoluci da SILVA

Bióloga – Especialista em Ciências – Laboratório de Biologia – USC – Bauru – SP – Brasil

Simone Maria Galvão de SOUSA

Pesquisadora Associada – PUC – Rio de Janeiro – RJ – Brasil

Nicolas Bertolaccini dos SANTOS

Mestrando – Programa de Pós Graduação – Biologia Oral – USC – Bauru – SP – Brasil

RESUMO

O álcool é uma das drogas mais comuns na sociedade em geral e pode provocar alterações morfológicas em diferentes tecidos. O objetivo deste trabalho foi observar, por meio da morfometria, se o álcool altera o desenvolvimento da glândula submandibular dos ratos e se esta alteração é definitiva. Para isso foram utilizados três grupos (n=10): grupo controle (GC), os animais receberam água e ração “ad libitum”; grupo alcoolizado (GA) receberam uma mistura de água e álcool numa concentração de 25%; e grupo isocalórico (GI), receberam uma solução de água e sacarose, com a mesma quantidade de calorias que os animais do grupo alcoolizado. Após 120 dias, cinco animais de cada grupo foram sacrificados. Os animais restantes passaram a receber apenas uma dieta de água e ração e os novos grupos formados passaram a ser denominados de: grupo controle1 (GC1), grupo desintoxicado (GD) e grupo antigo isocalórico (GAI). Os animais destes grupos foram sacrificados 120 dias após este novo tratamento. Os animais sacrificados tiveram suas glândulas submandibulares removidas bilateralmente para análise morfométrica. Utilizando-se de paquímetro digital as medidas foram devidamente tomadas e submetidas à análise estatística. Os resultados mostraram que o consumo de álcool produz um crescimento menor nas glândulas submandibulares no período de alcoolização e um aumento após o período de desintoxicação alcoólica. Baseado nestes resultados pode-se concluir que o álcool altera o desenvolvimento das glândulas salivares de ratos, mas esta alteração não é definitiva, se o animal for submetido a um período de desintoxicação alcoólica.

UNITERMOS

Glândula submandibular; álcool; técnicas histológicas, desintoxicação metabólica de drogas

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o alcoolismo é uma doença farmacodependente, que até o século passado já atingia de um a três milhões de pessoas no Reino Unido e cinco milhões de indivíduos nos Estados Unidos¹⁷. Vale a pena lembrar que estes números não são reais, porque muitos indivíduos omitem o uso desta droga⁶. No Brasil a maioria dos estudos tem encontrado prevalências para o alcoolismo entre 3 e 6%¹⁸. De acordo com Bikle² (1993), o alcoo-

lismo foi um dos maiores problemas médicos e sociais de quase todas as sociedades no século passado.

É de conhecimento geral que o uso prolongado de álcool em excesso causa uma multiplicidade de anormalidades clínicas, bioquímicas e eletrofisiológicas²¹.

O álcool atinge rapidamente a circulação sanguínea e todas as partes do corpo, inclusive o Sistema Nervoso provocando, mesmo em doses pequenas, a diminuição da coordenação motora e dos reflexos. Muitas doenças são causadas pelo uso contínuo dessa

droga: doenças neurais, musculares, hepáticas, gástricas e pancreáticas. Ademais sua ingestão pode alterar o funcionamento das glândulas salivares^{4-5, 15, 20, 23}.

Como o álcool é uma das drogas mais comuns na sociedade em geral, é de grande importância pesquisas que possam alertar e esclarecer sobre os danos por ele causados nos diversos tecidos do organismo humano. Assim como outras drogas que causam dependência, o álcool reforça o seu próprio consumo através da ativação do circuito de recompensa do cérebro.

Na literatura existem estudos sobre o efeito do álcool tanto na mucosa bucal como na glândula submandibular^{4-5, 12, 19, 23}. A diminuição no fluxo salivar e modificações na consistência da saliva, tornando-a mais viscosa, são sinais evidenciados em decorrência da ingestão dessa droga. Estas mudanças podem causar alterações nas glândulas salivares de uma forma direta ou indireta.

Segundo Faustino & Stipp⁴ (2003), mudanças morfológicas podem ser observadas tanto na porção condutora quanto na porção secretora da glândula alterada e essas, por sua vez, podem promover as alterações no fluxo salivar que, possivelmente, provocaram modificações morfológicas no parênquima glandular, ou vice-versa.

Gómez de Ferraris⁸ (1991) realizaram análise histológica e histoquímica das glândulas salivares maiores e menores de pacientes que faleceram de cirrose alcoólica. Na glândula parótida as células acinares apareceram com acúmulos de grânulos basófilos de diferentes tamanhos e distribuídos irregularmente e ocorreu infiltração adiposa no estroma glandular. A glândula submandibular apresentou ácinos mucosos sem granulações, condutos excretorios dilatados com epitélio atrófico, leve edema intersticial e congestão vascular. Foi notado nas glândulas salivares menores e sublingual hipertrofia acinar com ductos amplos contendo secreção ligeiramente basófila. Estes resultados sugerem que o parênquima e estroma das glândulas salivares, tanto maiores quanto menores, são afetados em diversos graus pelo consumo crônico de álcool.

Faustino & Stipp⁴ (2003) analisaram os efeitos do alcoolismo crônico e da desintoxicação alcoólica sobre a massa das glândulas submandibulares de ratos. Os animais foram divididos em três grupos de cinco animais cada um: grupo controle (dieta com água), grupo alcoolizado (dieta de álcool etílico à 20% até a 20ª semana) e grupo desintoxicado (passou pelo mesmo processo do Grupo alcoolizado, no entanto após a 20ª semana, os animais passaram por um período de desadaptação gradativa ao álcool, recebendo na 21ª semana

álcool etílico à 10%, na 22ª semana álcool etílico à 5% e da 23ª à 25ª semanas água). Os resultados indicaram uma diferença significativa no que se refere à massa corpórea dos animais e da glândula submandibular. Nestas, ocorreu redução tanto no grupo alcoolizado quanto no grupo desintoxicado em relação ao grupo controle. O grupo alcoolizado também apresentou menor volume absoluto de estruturas glandulares.

Outro fator que também pode influenciar na morfologia e função glandular é o tipo de dieta. Ferreira et al.⁵ (1985) e Junqueira & Carneiro¹⁰ (2001), demonstraram que ratos submetidos a uma dieta deficiente de proteína-caloria apresentam alterações na glândula submandibular, caracterizadas por atrofia acinar, subdesenvolvimento do ducto granular e atrofia do ducto granular, combinada com redução na quantidade de triptofano.

A morfometria tem a função de tornar mais objetiva e precisa a comparação de dados, apresentação e análise dos resultados das pesquisas, permitindo assim relacionar as diferentes estruturas anatômicas com suas funções. O paquímetro, régua, fita métrica, ultrassonografia, tomografia computadorizada e microscópio são alguns dos equipamentos que podem ser utilizados na morfometria^{3, 7, 9, 20, 22}.

Silva et al.²⁰ (2003) realizaram análise morfométrica da glândula submandibular de ratos submetidos à dieta alcoólica e isocalórica usando três tipos de instrumentos: foto, paquímetro convencional e paquímetro digital. Os resultados mostraram que no grupo alcoolizado as glândulas tiveram uma diminuição no sentido longitudinal, sendo o lado esquerdo o mais afetado e a largura manteve-se constante independente do instrumento utilizado para análise. Quanto aos instrumentos o mais sensível às alterações morfológicas das glândulas foi o paquímetro digital.

Em trabalho anterior foi analisado o efeito da ingestão crônica de álcool na morfologia da glândula submandibular²⁰, mas devido à grande importância das glândulas salivares na Biologia Oral e do consumo de álcool ser um problema social relevante, pensou-se na continuidade deste trabalho, que teve como objetivo verificar as alterações morfométricas em glândulas submandibulares de ratos submetidos ao alcoolismo crônico experimental e de ratos recuperados após processo de desintoxicação alcoólica.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 15 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, com 90 dias de idade

e com massa corporal de aproximadamente 200g, provenientes do Biotério da Universidade de São Paulo Campus de Bauru. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com comedouros e bebedouros individuais, para melhor controlar o consumo de sólido e líquido. A iluminação artificial foi comandada por “timer”, que controlou o ciclo claro/escuro de 12 horas e a temperatura média preestabelecida do ambiente, controlada por um termômetro (Incoterm), foi de 21° C.

Os animais foram separados em três grupos de dez animais cada grupo, assim distribuídos:

Grupo controle (GC) – os animais receberam água e ração “*ad libitum*”.

Grupo alcoolizado (GA) – os animais receberam uma mistura de álcool diluído em água numa concentração de 25%. As dietas líquida e sólida foram “*ad libitum*”. Os animais deste grupo foram submetidos a uma dieta crescente semanal de alcoólização 5%, 15% e 25%, para que eles fossem se adaptando. A metodologia adotada foi semelhante à pesquisa anteriormente realizada pelos autores²⁰ afim de que os dados pudessem ser comparados mais efetivamente.

Grupo isocalórico (GI) – os animais receberam como dieta líquida uma mistura de água com sacarose, e como dieta sólida ração. A quantidade da solução de água e sacarose e de ração foram às mesmas que os animais do grupo alcoolizados receberam no dia anterior.

Após um período de 120 dias (período de alcoólização) cinco animais de cada grupo foram sacrificados e os cinco animais restantes foram submetidos a um programa de desintoxicação, passando por um processo inverso de adaptação para a dieta líquida, tanto na alcoólica como isocalórica.

Decorrido o período adicional de 120 dias de desintoxicação os cinco animais restantes de cada grupo foram sacrificados, e os animais destes grupos passaram a ser denominados de:

Grupo Controle1 (GC1) os animais que receberam água e ração “*ad libitum*” durante os dois períodos do experimento.

Grupo Desintoxicado (GD) os animais que receberam como dieta líquida a solução de água e álcool e passaram a receber a dieta sem álcool

Grupo Antigo Isocalórico (GAI) – os animais que receberam como dieta líquida a solução de água e sacarose e passaram a receber a dieta sem sacarose.

No decorrer do experimento todos os animais receberam a mesma dieta sólida caracterizada pela ração Nuvilab CR 1 (NUVIAL).

O modelo de alcoolismo usado foi o “semi-voluntário”, onde a administração de álcool diluído foi o único alimento líquido disponível para o animal. O álcool utilizado nesta pesquisa foi o étílico absoluto, do laboratório MERCK (CH₃CH₂OH; PM 46.07).

O procedimento empregado para a eutanásia dos animais foi à injeção por via intraperitoneal de uma dose excessiva de Pentobarbital (Hypnol) na dose 100mg/kg. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Sagrado Coração – Bauru –SP.

As glândulas submandibulares foram removidas, dissecadas, identificadas e fixadas em formalina a 10%.

A análise morfométrica da glândula foi realizada através de paquímetro digital (Starret, n.727-6/150). As medições foram realizadas em todas as glândulas, em ambos os lados, analisando o comprimento e a largura das mesmas. Os dados referentes à análise morfométrica das glândulas submandibulares foram submetidos ao teste estatístico de ANOVA²⁴.

RESULTADOS

A média e desvio-padrão do comprimento e largura das glândulas submandibulares de ratos e o respectivo resultado do teste estatístico estão expressos respectivamente nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Média e desvio-padrão do comprimento (cm) da glândula e respectivo resultado do teste estatístico multivariado da comparação de grupos, momentos de sacrifício e lados

Grupo	Momento do Sacrifício	Glândula	
		Direita	Esquerda
GC	120 dias	1,52 ± 0,07 Aaα	1,49 ± 0,09 Aaβ
GC ₁	240 dias	1,60 ± 0,15 Aaα	1,78 ± 0,13 Abα
GA	120 dias	1,30 ± 0,22 Aaα	1,13 ± 0,09 Aaα
GD	240 dias	1,69 ± 0,36 Abα	1,83 ± 0,24 Abα
GI	120 dias	1,52 ± 0,09 Aaα	1,41 ± 0,05 Aaβ
GAI	240 dias	1,72 ± 0,12 Aaα	1,72 ± 0,08 Abα

Maiúscula: comparação de lados fixados grupo e momento (Direita – Esquerda)

Minúscula: comparação de momento fixado grupo e lado (120 dias – 240 dias)

Grega: comparação de grupos fixados momento e lado (GC – GA – GI) e (GC1 – GD – GAC)

Tabela 2 – Média e desvio-padrão da largura da glândula (cm) e respectivo resultado do teste estatístico multivariado da comparação de grupos, momentos de sacrifício e lados.

Grupo	Momento do Sacrifício	Glândula	
		Direita	Esquerda
GC	120 dias	0,79 ± 0,07 Aaα	0,74 ± 0,07 Aaα
GC1	240 dias	0,92 ± 0,05 Abβ	0,84 ± 0,02 Abα
GA	120 dias	0,78 ± 0,08 Aaα	0,73 ± 0,04 Aaα
GD	240 dias	0,79 ± 0,13 Aaα	0,84 ± 0,02 Abα
GI	120 dias	0,79 ± 0,06 Aaα	0,80 ± 0,05 Aaα
GAI	240 dias	0,78 ± 0,06 Aaα	0,81 ± 0,06 Aaα

Maiúscula: comparação de lados fixados grupo e momento (Direita – Esquerda)

Minúscula: comparação de momento fixado grupo e lado (120 dias – 240 dias)

Grega: comparação de grupos fixados momento e lado (GC – GA – GI) e (GC1 – GD – GAC)

Os dados demonstraram que a ingestão de álcool promove alterações na glândula submandibular. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística de medidas repetidas para perfis independentes com nível de 5% de significância.

O comprimento e a largura das glândulas submandibulares dos grupos alcoolizado (GA) e desintoxicado (GD) foram estatisticamente diferentes em relação ao grupo controle (GC). Nas glândulas submandibulares obtidas do período de 120 dias (período de alcoolização) ocorreu alteração, sendo que o índice de dimi-

nuição foi mais evidente no comprimento do que na largura. No entanto, após o período de desintoxicação alcoólica, as glândulas apresentaram índices de comprimento e largura semelhantes ao grupo controle. O lado esquerdo da glândula submandibular apresentou maior sensibilidade ao uso crônico de álcool, pois apresentou menor índice de crescimento em relação ao lado direito.

O grupo isocalórico também apresentou alterações mais evidentes no comprimento do que na largura, em ambos os períodos.

A largura das glândulas submandibulares não apresentou alterações significativas, ou seja, em todos os grupos os valores estavam bem próximos. Isso pode ter ocorrido pelo fato da quantidade e disposição dos tecidos, e estruturas, não interferirem diretamente na largura dessas glândulas.

DISCUSSÃO

De acordo com o trabalho anterior de Silva et al.²⁰ (2003), no qual os ratos foram submetidos à dieta alcoólica de 25%, por um período de 120 dias, os animais do grupo alcoolizado apresentaram um aumento menor no sentido longitudinal de suas glândulas, porém a largura manteve-se constante. No presente trabalho, ocorreu um aumento das glândulas submandibulares de ratos no grupo desintoxicado, em relação ao grupo alcoolizado, evidenciando assim que o uso de álcool pode ocasionar alterações nas glândulas submandibulares. Isto pode ser explicado pela descoberta de Lieber¹² (1991), pois segundo este pesquisador a sensação de saciedade provocada pelo álcool ocasiona uma diminuição na ingestão da dieta e, assim, há um menor estímulo das glândulas salivares, podendo levar a uma atrofia glandular. Ainda de acordo com Lieber^{13,14} (2000 e 2003), o álcool é uma droga psicoativa e em alguns experimentos representa cerca de 50% da dieta total, e como consequência ele pode substituir muitos nutrientes da dieta, resultando em má nutrição primária e secundária, além de má digestão ou má absorção causada por complicações no trato gastrointestinal.

Os resultados desta pesquisa também estão de acordo com os achados de Faustino & Stipp⁴ (2003), que obtiveram redução da glândula submandibular de animais tanto do grupo alcoolizado quanto no desintoxicado em relação ao grupo controle e um significativo aumento glandular do grupo desintoxicado em relação ao grupo alcoolizado.

No estudo de Tirapelli et al.²³ (2001) foram utilizados 27 ratos machos que foram divididos em três grupos: controle, isocalórico e alcoólico. Os animais do grupo alcoólico receberam dieta alcoólica contendo etanol a 6%, após os períodos de 5, 10 e 15 meses, três animais de cada grupo foram sacrificados. Os autores constataram que o consumo crônico desta droga reduz significativamente a área das células acinosas e das células dos ductos granulares. Tais achados estão de acordo com nossos resultados, pois se ocorreu redução da área de ácinos e ductos granulares, isto pode ser um fator que explica a alte-

ração macroscópica no comprimento das glândulas submandibulares.

Outros estudos constataram algumas alterações que podem ocorrer nas glândulas devido ao uso crônico de álcool. Banderas et al.¹ (1992), utilizaram à dose de 10% de etanol na dieta alcoólica por um período de 12 meses e analisaram a glândula parótida, os resultados indicaram transformação oncocítica ductal e acinosa e numerosas células atípicas mostraram anisocitose, poliplitodismo e hiper cromatismo, características não encontradas nos controles. Scott et al.¹⁹ (1988) analisaram microscopicamente 28 glândulas parótidas e submandibulares humanas retiradas em necropsia. Na glândula submandibular ocorreu aumento de tecido adiposo e redução de tecido fibrovascular, mas não houve redução proporcional nos ácinos. Estes resultados indicam que o etanol causa alterações morfológicas e após o consumo crônico, tais alterações afetariam o crescimento das glândulas, o que poderia explicar as alterações encontradas em nosso estudo.

Já Maier et al.¹⁵ (1986) analisaram o efeito crônico do etanol na morfologia e função das glândulas salivares em ratos, os animais foram submetidos à dieta com etanol na concentração de 5g/100ml por um período de 12 meses. Na glândula parótida os resultados mostraram acúmulo de gordura intersticial e gotículas de gordura de vários tamanhos na maioria das células acinosas. Estes cistos, frequentemente ocupavam grandes áreas do citoplasma e alguma vez deslocava o núcleo. O acúmulo de gordura também foi encontrado nos ductos estriados. As glândulas submandibulares não mostraram alterações morfológicas significativas após o período de noventa dias. O consumo crônico de álcool diminuiu significativamente a taxa do fluido salivar e a concentração de sódio salivar, entretanto, a concentração de potássio na saliva aumentou. Em contraste, a concentração das proteínas totais salivares não foi afetada pela ingestão de álcool. As mudanças na composição eletrolítica da saliva observada depois do consumo crônico de álcool poderia ser devido à alteração do metabolismo da aldosterona ou mudanças dos receptores da aldosterona da glândula parótida causada pela administração do álcool. Tais achados comprovam que o etanol pode ocasionar alterações nas glândulas salivares, mas eles não puderam ser comparados com os do nosso trabalho, devido uso de metodologias diferentes.

Gómez de Ferraris et al.⁸ (1991) & Lamano Carvalho et al.¹¹ (1993) sugerem que a alteração das glândulas possa estar relacionada: com a inervação,

uma vez que os alcoólatras crônicos apresentam com frequência polineuropatia periférica e transtornos do Sistema Nervoso Autônomo.

Segundo alguns pesquisadores, as alterações nestas glândulas poderiam ser explicadas também pela atuação do álcool sobre a secreção dos hormônios de crescimento, tireóide, adrenocorticoides, testosterona e insulina, que seriam responsáveis pela manutenção estrutural dessas glândulas. Por fim, o mecanismo pelos quais as modificações são produzidas não está totalmente esclarecido^{11,16}.

Neste trabalho foi usado o paquímetro digital por ser um método simples, eficiente e menos dispendioso, além disso, Silva et al.²⁰ demonstraram que este equipamento é o aparelho que se mostrou

mais sensível às alterações de comprimento e largura quando comparado ao paquímetro convencional e fotografia.

CONCLUSÃO

Em suma, os resultados obtidos indicam que as glândulas submandibulares sofrem alterações morfo-métricas, devido à ação do uso crônico de álcool, no entanto, estas alterações podem ser recuperadas após o período de desintoxicação alcoólica. Mas acreditamos que novos estudos devem ser feitos, usando-se cortes histológicos e microscopia eletrônica, para observar se estas alterações e recuperações ocorrem nos mesmos elementos estruturais.

ABSTRACT

Alcohol is one of the most popular drugs in society and can produce morphological changes in different tissues. This research observed, by morphometric analysis, if alcohol alters the development of the submandibular gland in rats, and if this alteration is definitive. For that purpose, 3 groups were used (10 rats in each group): control group (CG) received water and food ad libitum; alcoholic group (AG) received the solution containing water and 25% alcohol; and isocaloric group (IG) received a solution containing water and sucrose, with the same amount of calories as the animals in the alcoholic group. After a period of 120 days, five rats of each group were sacrificed. The other animals only received a diet of water and food and the new groups were as follows: control group I (CGI), detoxication group (DG) and previously isocaloric group (PIC), originated from control group, alcoholic group and isocaloric group, respectively. The animals of these groups were sacrificed 120 days after this new treatment. All animals sacrificed had the submandibular glands bilaterally removed for morphometric analysis. A digital caliper was used for measurements, which were submitted to statistical analysis. The results indicated that chronic alcohol consumption produces lower increase of the submandibular gland in the alcoholic period and an increase after the detoxication period. Based on these results, it could be concluded that alcohol alters the development of salivary glands in rats, but this alteration is not definitive if the animal is submitted to a period of alcoholic detoxication.

UNITERMS

Submandibular gland; alcohol; histological techniques; metabolic detoxication, drug

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Carlos Roberto Padovani pela realização da análise estatística.

REFERÊNCIAS

1. Banderas JA, Gaitan LA, Portilla J, Aguirre A. Effects of chronic ethanol consumption on the rat parotid gland. *Arch Bras Biol.* 1992; 37: 69-72.
2. Bikle DD, Genant HK, Cann C, Recker RR, Halloran BP, Strewler GJ. Bone disease in alcohol abuse. *Ann Intern Med.* 1985 July.;103 (1): 42-8.
3. Dost P, Kaiser S. Ultrasonographic biometry in salivary glands. *Ultrasound Med Biol.* 1997; 23 (9): 1299-303.
4. Faustino SES, Stipp ACM. Efeitos do alcoolismo crônico e da desintoxicação alcoólica sobre a glândula submandibular de ratos. estudo morfométrico. *J Appl Oral Sci.* 2003; 11(1): 21-6.
5. Ferreira AML, Piza IG, Fava-De-Moraes, F. Histological, morphometric and histochemical changes in the submandibular gland of the rat under experimental protein-calorie malnutrition. *Jour Biol Buccale.* 1985; 13:45-53.
6. Fish VB, Nelson V. The distribution of alcohol in the tissues of the rat. *Proc Iowa Acad Sci.* 1942; 49: 263-67.
7. Gallego L, Mira A, Pou MN, Lambea R, Bernat G. La biometría y la informática, herramientas para la determinación de piezas anatómicas. *Historia Natural '93.* Jaca y Huesca. 1995; 309-18.
8. Gómez de Ferraris ME, Carranza M, Ferraris R, Fili T. Variaciones estructurales en glándulas salivales de pacientes alcoholistas crónicos. *Rev Fac Odontol.* 1991; 19/20 (1/2): 59-68.
9. Heo MS, Lee SC, Lee SS, Choi HM, Choi SC, Park TW. Quantitative analysis of normal major salivary glands using computed tomography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 92 (2): 240-4.
10. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. 414p.
11. Lamano Carvalho TL, Zuculoto S, Rossi MA, Sala MA, Lopes RA. Estudo estereológico das alterações determinadas pelo etanol nas glândulas salivares submandibular e parótida do rato. *Rev Odontol Univ São Paulo.* 1993; 7: 219-25.
12. Lieber CS. Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol. *Alcohol Clin Exp Res.* 1991; 15(4): 573-92.
13. Lieber CS. Alcohol and the liver: metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases. *Mt Sinai J Med.* 2000; 67 (1): 84-94.
14. Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use and liver disease. *Alcohol Res Health.* 2003; 27 (3): 220-31
15. Maier H, Born IA, Veith S, Adler D, Seitz HK. The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. *Alcohol Clin Exp Res.* 1986; 10 (4): 425-7.
16. Piano MR, Artwohl J, Kim SD, Glass G. The effects of a liquid ethanol diet on nutritional status and fluid balance in the rat. *Alcohol Alcohol.* 2001; 36(4): 298-303.
17. Preedy VR, Salisbury JR, Peters TJ. Alcoholic muscle disease: features and mechanisms. *J Pathol.* 1994; 174 (4): 309-15.
18. Santana VS, Almeida Filho N. Aspectos epidemiológicos do alcoolismo. In Ramos SP. *Alcoolismo hoje.* Porto Alegre: Artes Médicas; 1987. p. 29-44.
19. Scott J, Burns J, Flower EA. Histological analysis of parotid and submandibular glands in chronic alcohol abuse: a necropsy study. *J Clin Pathol.* 1988; 441 (8): 837-40.
20. Silva FB, Sousa SMG, Andreo JC. Avaliação morfométrica da glândula submandibular de *Rattus novergicus* submetidos à dieta alcoólica – Parte I. *Cienc Odontol Bras.* 2003; 6 (4): 41-7.
21. Spencer H, Rubio N, Rubio E, Indreika M, Seitana A. A chronic alcoholism: frequently overlooked caused of osteoporosis in men. *Am J Med.* 1986 Mar.; 80: 393-8.
22. Teixeira VP, Pereira SAL, Rodrigues DBR, Lino RSJ, Oliveira FA, Castro ECC, et al. Princípios básicos e aplicações da morfometria. Fonte: <<http://www.mednet.com.br/instpub/patge/morfometria01.htm>> Acesso em: 2002.
23. Tirapelli LF, Tirapelli CR, Tirapelli DPC, Cassel FD, Petroni S, Tamega OJ. Morphometric analysis of seromucous acini and granular ducts of submandibular glands from rats (*Rattus novergicus*) submitted to experimental chronic alcoholism. *Rev Chil Anat.* 2001; 19 (3): 263-9.
24. Wichern DW, Johnson RA. *Applied multivariate statistical analysis.* 3 ed. New Jersey: Prentice Hall; 1992.

Recebido em: 27/10/05

Aprovado em: 01/03/06

Fabiane Bortoluci da Silva
 Rua Mário Gonzaga Junqueira, 255
 17051-080 Bauru SP
 e-mail: bortoluci@uol.com.br