

Influência do consumo de etanol nas glândulas salivares

Influence of ethanol consumption in salivary glands

VINICIUS C. CARRARD¹
MARINA MENDEZ²
JOSUÉ NOLDE³
LUCIANA D. ALVES⁴
ANNA CHRISTINA M. FOSSATI⁵
MANOEL SANT'ANA FILHO⁶

RESUMO

Objetivos: Realizar uma revisão da literatura sobre os efeitos do consumo de etanol nas glândulas salivares.

Fonte de dados: Foi realizada uma busca no banco de dados Medline, utilizando as palavras alcohol/ethanol, salivary glands.

Síntese dos dados: Tem sido observada na população uma elevação no consumo de bebidas alcoólicas pela população, ocasionando alterações em diversos sistemas. Aumento de volume das glândulas salivares e redução do fluxo salivar são freqüentes em indivíduos alcoolistas. Como a saliva tem propriedades protetoras, a redução do fluxo torna a boca mais suscetível a injúrias, como as relacionadas à cárie e à periodontite. Podem ser observadas alterações morfológicas, como acúmulo de tecido adiposo, hiperplasia dos ductos e redução da proporção de células acinares. O consumo de etanol é responsável ainda pela redução dos níveis de imunoglobulinas presentes na saliva. A degradação do etanol gera metabólitos tóxicos, como o acetaldeído, que podem modificar a função das glândulas salivares. Existe a

ABSTRACT

Aims: To perform a literature review about alcohol effects on salivary gland.

Source of data: Articles were retrieved from Medline data base using the key-words alcohol/ethanol and salivary glands.

Summary of findings: Increase in ethanol consumption has been observed in people, and it causes alterations in several systems. Enlargement of salivary glands and salivary flow decrease have been observed in alcoholics. The decreased salivary flow results in increased susceptibility of injuries to the mouth, like those related to caries and periodontitis, because saliva has protective properties. Morphology alterations like adipocytes infiltration, ductal hyperplasia and decrease in acinar cells ratio can be observed. The ethanol consumption reduces salivary flow, and immunoglobulins and antioxidants levels decrease in saliva. Ethanol degradation generates toxic metabolites, like acetaldehyde, that can modify the salivary gland function. There is a possibility that saliva helps on acetaldehyde distribution in the mouth, improving ethanol consumption damage. In addition, other mechanisms are included in this damage like decrease in prostaglandins, malnutrition,

¹ Doutorando em Patologia Bucal - Programa de Pós-Graduação em Odontologia/UFRGS.

² Aluna do Curso de Graduação, Faculdade de Odontologia/UFRGS.

³ Aluna do Curso de Graduação, Faculdade de Odontologia/UFRGS e integrante Programa de Educação Tutorial - PET.

⁴ Aluna do Curso de Graduação, Faculdade de Odontologia/UFRGS.

⁵ Doutor em Biologia Celular e Tecidual/USP. Professora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia-Departamento de Ciências Morfológicas/UFRGS.

⁶ Doutor em Odontologia/PUCRS. Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia /UFRGS.

possibilidade de a saliva redistribuir o acetaldeído na boca, potencializando o dano produzido pelo consumo de etanol. Além disso, outros mecanismos podem estar presentes, como redução das prostaglandinas, desnutrição, alterações do sistema imune e estresse oxidativo, este último envolvido na patogênese de uma série de doenças crônico-degenerativas, entre elas o câncer.

Conclusões: Os pacientes alcoolistas devem receber uma atenção especial em relação aos cuidados bucais, pois suas condições locais e sistêmicas os tornam mais suscetíveis a doenças da boca, como cárie, periodontite e câncer.

DESCRITORES: GLÂNDULAS SALIVARES/patologia; ETANOL; TRANSTORNOS RELACIONADOS AO USO DE ALCOOL; MANIFESTAÇÕES BUCAIS; METANÁLISE.

immune system alterations and oxidative stress. Oxidative stress may be involved in pathogenesis of several chronic-degenerative diseases, like cancer.

Conclusions: *The alcoholics must receive a special attention in oral care because its local and systemic conditions improve susceptibility to oral illnesses, such as caries, periodontitis and cancer.*

KEY WORDS: SALIVARY GLAND/pathology; ETHANOL; ALCOHOL-RELATED DISORDERS; MOUTH DISEASES; META-ANALYSIS.

INTRODUÇÃO

Vem sendo observada uma elevação do consumo de bebidas alcoólicas na população, provocando alterações no organismo e, particularmente, na boca. As glândulas salivares, tendo a função de produzir a saliva, desempenham um papel importante na manutenção do equilíbrio do meio bucal. A saliva contribui com o tamponamento do pH bucal, participa no processo de desmineralização/remineralização dentária, atua na digestão de carboidratos e tem ação bactericida e antioxidante.¹⁻³

O objetivo do presente trabalho é, através de uma revisão de literatura, abordar as mudanças dos aspectos morfológicos, funcionais e moleculares observados nas glândulas salivares em decorrência da exposição ao etanol.

MÉTODOS

Para a captação dos artigos utilizou-se a base de dados Medline, inserindo os termos *alcohol and salivary glands*. O critério de seleção dos artigos foi a especificidade em relação ao tema estudado. Além disso, foram utilizados os artigos citados nesses artigos e que se aplicavam aos propósitos desta revisão.

REVISÃO

As glândulas salivares foram das primeiras estruturas nas quais a influência do consumo de etanol foi observada. Mandel and Baurnash relataram três casos clínicos de pacientes que

consumiam habitualmente etanol e que apresentavam sialose (aumento assintomático) das glândulas parótidas.⁴

O aumento da parótida vem sendo relacionado com alcoolismo crônico e com cirrose hepática.⁵⁻¹¹ A partir de uma análise morfológica das glândulas parótida e submandibular de alcoolistas, Scott et al. mostraram, por meio de uma análise quantitativa computadorizada em microscopia óptica, que o aumento de volume acontece devido ao acúmulo de tecido adiposo, ainda que esse mecanismo seja incerto.¹⁰ Além disso, observaram uma diminuição na proporção das células acinares das parótidas. Não foram encontradas alterações na glândula submandibular, indicando que esta glândula pode ser mais resistente à ação do etanol. A deposição de tecido adiposo substituindo o parênquima já havia sido observada por Maier et al., bem como gotículas lipídicas nos ductos estriados e ácinos em glândulas parótidas de ratos.¹² Contudo, clinicamente observava-se atrofia dessas glândulas. Carda et al. estudaram glândulas parótidas com volume aumentado em indivíduos com cirrose alcoólica, comparando-as com as de indivíduos não-alcoólicas.¹³ Foram feitas análises descritivas por meio da microscopia óptica e imunoistoquímica. As glândulas salivares dos indivíduos alcoolistas apresentaram acúmulo de grânulos basófilos e maior infiltração periductal de linfócitos. Entretanto, os autores não mencionam se houve cegamento e não realizaram nenhum tipo de análise estatística dos dados nesse estudo.

Esses trabalhos mostram que, independente da alteração percebida macroscopicamente, o aspecto microscópico observado é o acúmulo de tecido adiposo e gotículas lipídicas, o que permite inferir que, frente ao consumo crônico de etanol, as glândulas salivares apresentam uma menor capacidade funcional. Carranza et al. estudaram glândulas salivares menores e submandibulares de humanos que foram a óbito por cirrose alcoólica.¹⁴ Demonstraram quantitativamente, por meio de análise de imagem, hiperplasia de ductos estriados, hipertrofia e hiperplasia de ácinos e aumento dos seus lumens, infiltração gordurosa e aumento de ductos excretores terminais em diferentes níveis. Mais uma vez constata-se que, seja pelo contato através dos ductos excretores, seja pela presença do etanol e/ou seus metabólitos na corrente sanguínea, o consumo de etanol modifica a morfologia das glândulas salivares.

Segundo Segerberg-Konttinen e Dale, infiltração de tecido adiposo, presença de fibrose e infiltrado inflamatório são características próprias do envelhecimento nas glândulas salivares.^{15,2} Isso permite especular que o consumo crônico de etanol poderia acelerar o envelhecimento das mesmas. Considerando que as alterações morfológicas poderiam ter um impacto direto sobre o seu funcionamento, alguns trabalhos analisaram a influência do consumo de etanol sobre o fluxo salivar, pois uma alteração sobre o mesmo poderia modificar as propriedades e funções salivares. Martin e Pangborn mostraram um aumento de fluxo salivar da glândula parótida frente a aplicações tópicas de etanol, sendo este potencializado por concentrações mais elevadas.¹⁶ Abelson et al. também detectaram esse aumento, porém em consumidores crônicos de álcool.⁹ Diante desses estudos conclui-se que independente do tipo de contato com o etanol, algum mecanismo provoca modificações no fluxo salivar.

Por outro lado, Maier et al., em estudo com ratos, encontraram uma diminuição do fluxo salivar, diminuição da atividade da amilase e da concentração de sódio e aumento da concentração de potássio.¹² Além disso, a quantidade de proteínas e o peso líquido da parótida diminuíram com o consumo de etanol, sendo que a submandibular novamente não foi afetada. Enberg et al. mostraram uma diminuição do fluxo salivar de humanos que consumiam etanol, assim como de cálcio, sódio, potássio e fósforo salivares.¹⁷ Essa diminuição da concentração da

maioria dos eletrólitos ocorre usualmente no ducto estriado, onde o fluido passa de isotônico para hipotônico. Uma vez que há queda do fluxo salivar, pode-se inferir que essa troca iônica é potencializada, o que explica a diferença na concentração final de íons.

Proctor et al. submeteram ratos a injeções intraperitoneais de etanol para avaliar o seu efeito agudo.¹⁸ Avaliaram a síntese de proteínas das glândulas salivares maiores pela sua marcação com fenilalanina radioativa, mensurado-as por espectrofotometria e fluorometria. Encontraram diminuição da síntese proteica nas três glândulas. Ainda que nenhum tipo de proteína tenha sido estudado especificamente, conclui-se que a proteção conferida pela saliva, através de mucinas, pela sua capacidade tampão, ou através de imunoglobulinas nela presentes, encontra-se comprometida. Dessa forma, o paciente que consome etanol habitualmente necessita que seu tratamento seja conduzido de forma diferenciada, pois está predisposto à ocorrência de infecções na mucosa bucal, lesões de cárie e periodontite.

A cárie ocorre pela dissolução dos tecidos dentários. Bactérias que compõem habitualmente a microbiota bucal degradam carboidratos fermentáveis, resultando na formação de ácidos que provocam a redução do pH salivar. A saliva atua no tamponamento dessas variações de pH e na remineralização dos tecidos dentários.¹⁹ O indivíduo que se encontra desprovido das propriedades protetoras da saliva, seja por deficiência quantitativa ou qualitativa, poderia estar mais suscetível à ocorrência de lesões de cárie.²⁰

A periodontite é uma doença inflamatória dos tecidos de sustentação dos dentes. Ocorre pela produção de toxinas de origem bacteriana que causam a reabsorção do tecido ósseo alveolar, dependendo da suscetibilidade individual.²¹ Indivíduos que habitualmente consomem etanol poderiam ter maior risco de desenvolvimento dessa doença pela alteração de seu sistema imunológico, uma vez que na saliva existem imunoglobulinas e enzimas antibacterianas.²¹ Além disso, o consumo crônico de etanol está relacionado à menor atividade de células de defesa, como macrófagos e neutrófilos.^{22,23}

Ainda que alguns estudos mostrassem alteração no fluxo salivar e na morfologia glandular relacionadas com o consumo de etanol, nenhum havia demonstrado os mecanismos que os explicassem. Em função disso, Wu Wang et al.

avaliaram a síntese de prostaglandinas (PG) em glândulas parótidas e submandibulares de ratos na presença de etanol.²⁴ As PG desempenham importante papel no funcionamento das glândulas salivares, estimulando a secreção salivar. Amostras de tecido foram previamente incubadas com etanol e três tipos de PG foram analisadas: PG2, PGF2 e 6ketoPGF1. Os resultados mostraram diminuição estatisticamente significativa na síntese de PG2 e PGF2 e diminuição não significativa da 6ketoPGF1, sendo esses efeitos observados somente frente as maiores concentrações de etanol. Portanto, esse trabalho sugere que a patogenia do dano pelo etanol envolve uma menor expressão de PGs o que, pelo menos em parte, explicaria a relação entre consumo de etanol e redução do fluxo salivar.

Wu Wang et al. aprofundaram seu estudo a partir da análise dos receptores de PG em glândulas submandibulares de ratos submetidos ao consumo de etanol.²⁵ Encontraram um aumento da expressão desses receptores, o que seria um mecanismo adaptativo frente a um aporte reduzido de PG, a fim de manter a homeostase do mecanismo de secreção. Ainda assim, essa tentativa de adaptação não é suficiente, logo, pode-se concluir que a menor expressão das PG é responsável pela redução do fluxo salivar.

Parte da preocupação com os efeitos do consumo do etanol se justifica pelo conhecimento do seu mecanismo de degradação. O acetaldeído - primeiro metabólito do etanol - é uma substância com potencial mutagênico e carcinogênico. Homann et al., em um estudo *in vitro*, incubaram microorganismos salivares em concentrações crescentes de etanol.²⁶ Verificaram que o uso de clorexidina diminuía a produção de acetaldeído, devido ao seu potencial antimicrobiano. Diante disso, parece que os microrganismos presentes na saliva produzem acetaldeído a partir da degradação do etanol. No mesmo estudo laboratorial realizado *in vivo*, esses achados foram confirmados, já que os indivíduos que ingeriam etanol e faziam bochechos com clorexidina produziam uma quantidade de acetaldeído significativamente menor. Reforçando essa hipótese, Homann et al. verificaram uma maior produção de acetaldeído na saliva dos indivíduos com má higiene bucal.²⁷ Isso permite que o dano na boca pelo consumo de etanol ocorra através de dois mecanismos: os microrganismos produziram acetaldeído a partir do etanol; e o fluxo salivar diminuído, e sem o

adequado conteúdo de imunoglobulinas, não inibiria o crescimento bacteriano nem exerceria sua função de "lavagem" adequadamente.

O metabolismo do álcool é responsável ainda pelo aumento da formação de radicais livres (RL), elementos instáveis que reagem com moléculas biológicas (lipídios, proteínas e DNA), gerando danos como mutações ou até mesmo morte celular. O organismo dispõe de mecanismos antioxidantes capazes de neutralizar esses RL, mas frente ao consumo de etanol estes encontram-se com sua atividade diminuída.²⁸⁻³⁴ O estado de desequilíbrio entre os radicais livres formados e a capacidade antioxidante é conhecido como estresse oxidativo, o qual está envolvido na patogênese de uma série de doenças crônico-degenerativas, entre elas o carcinoma espinocelular oral (câncer de boca).

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento do carcinoma espinocelular são o fumo e o álcool.³⁵ Esses agentes provocam alterações no DNA, tendo como alvo genes reguladores dos processos de proliferação e morte celular.³⁶ Atualmente, o estresse oxidativo é reconhecido como um dos mecanismos responsáveis pela injúria ao DNA.³⁷⁻³⁹

Outros estudos identificaram o estresse oxidativo como envolvido no dano das glândulas salivares provocado pelo consumo de etanol. Campos et al. avaliaram os efeitos do álcool em parótidas e submandibulares de ratos.⁴⁰ Na glândula parótida, houve um aumento na peroxidação de lipídios e na atividade das enzimas antioxidantes, sendo essas alterações amenizadas pela suplementação de atocoférol (vitamina E). Observaram, ainda, um aumento de volume da glândula parótida, sendo que a glândula submandibular não apresentou alterações. O aumento da atividade das enzimas antioxidantes é um mecanismo de defesa frente ao aumento da formação de radicais livres, embora muitas vezes esse aumento não seja suficiente para evitar o dano.

A redução do fluxo salivar poderia potencializar o estresse oxidativo localmente na boca, já que a saliva apresenta imunoglobulinas, fatores de crescimento e antioxidantes que são importantes na proteção e manutenção da mucosa bucal.^{41,42} Além disso, diminui a ação de "lavagem" das superfícies mucosas, deixando-as mais expostas à ação de outros carcinógenos, além do próprio acetaldeído, presentes na boca. Vários autores mostraram aumento da proliferação epitelial na mucosa de revestimento da

boca frente ao consumo crônico de etanol.^{26,43,44} Segundo Maier et al., a proliferação celular nesse tecido retornaria aos índices de normalidade pela remoção das glândulas, o que reforça a hipótese de que a redistribuição do etanol e/ou de seus metabólitos pelas glândulas salivares seria a causa dessa alteração no processo de renovação.¹²

CONCLUSÕES

O consumo de etanol é responsável por diversas alterações nas glândulas salivares, tanto na sua fisiologia quanto no seu aspecto clínico. Além disso, as alterações provocadas nas glândulas salivares parecem contribuir com as observadas na mucosa bucal, à medida em que o fluxo salivar reduzido pode diminuir a ação protetora da saliva e ao mesmo tempo redistribuir na cavidade bucal o acetaldeído, metabólito tóxico produzido pela degradação do etanol. Deve-se encarar o paciente alcoolista como um indivíduo com potenciais alterações locais e sistêmicas. São recomendadas visitas periódicas ao dentista e rigoroso controle de placa, uma vez que este paciente está predisposto à instalação de doenças decorrentes do acúmulo desta, como cárie e periodontite, e até mesmo ao câncer de boca.

REFERÊNCIAS

- Almeida-Filho N, Lessa I, Magalhães L, et al. Alcohol drinking patterns by gender, ethnicity, and social class in Bahia, Brazil. *Rev Saude Publica*. 2004;38:45-54.
- Dale AC. Glândulas salivares. In: Ten Cate R, editor. *Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p.439.
- Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, et al. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J Oral Pathol*. 1982;11:1-17.
- Mandel L, Baumash HJ. Parotid enlargement due to alcoholism. *J Am Dent Assoc*. 1971;82:369-73.
- Wolfe SJ, Summerskill WH, Davidson CS. Parotid swelling alcoholism and cirrhosis. *N Engl J Med*. 1957; 256:491-5.
- Brick IB. Parotid enlargement in cirrhosis of the liver. *Ann Intern Med*. 1958;49:438-51.
- Borsanyi SJ. Chronic asymptomatic enlargement of the parotid glands. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1962;71: 857-67.
- Mandel L, Hamele-Bena D. Alcoholic parotid sialadenosis. *J Am Dent Assoc*. 1997;128:1411-5.
- Abelson DC, Mandel ID, Karmioli M. Salivary studies in alcoholic cirrhosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1976;41:188-92.
- Scott J, Burns J, Flower EA. Histological analysis of parotid and submandibular glands in chronic alcohol abuse: a necropsy study. *J Clin Pathol*. 1988;41:837-40.
- Mandel L, Vakkas J, Saqi A. Alcoholic (beer) sialosis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63:402-5.
- Maier H, Seitz HK, Mayer B, et al. The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. *Alcohol Clin Exp Res*. 1986; 10:425-7.
- Carda C, Carranza M, Arriaga A, et al. Structural differences between alcoholic and diabetic parotid sialosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10:309-14.
- Carranza M, Ferraris ME, Galizzi M. Structural and morphometrical study in glandular parenchyma from alcoholic sialosis. *J Oral Pathol Med*. 2005;34:374-9.
- Segerberg-Kontinen, M. A postmortem study of focal adenitis in salivary and lacrimal glands. *J Autoimmun*. 1989;2:553-8.
- Martin S, Pangborn RM. Human parotid secretion in response to ethyl alcohol. *J Dent Res*. 1971;50:485-90.
- Enberg N, Alho H, Loimaranta V, et al. Saliva flow rate, amylase activity, and protein and electrolyte concentrations in saliva after acute alcohol consumption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;92:292-8.
- Proctor GB, Shori DK, Preedy VR. Protein synthesis in the major salivary glands of the rat and the effects of refeeding and acute ethanol injection. *Arch Oral Biol*. 1993;38:971-8.
- Nauntofte B, Tenovuo JO, Lagerlöf F. Secreção e composição da saliva. In: Fejerskov O, Kidd E, editores. *Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico*. São Paulo: Santos; 2005. p.7-27.
- Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent*. 2003;28: 47-52.
- Lindhe, J. *Tratado de periodontologia clínica* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
- Lundy J, Raaf JH, Deakins S, et al. The acute and chronic effects of alcohol on the human immune system. *Surg Gynecol Obstet*. 1975;141:212-8.
- Wang J-F, Spitzer JJ. Alcohol-induced thymocyte apoptosis is accompanied by impaired mitochondrial function. *Alcohol* 1997;14:99-105.
- Wu Wang CY, Wang SL, Lim C, et al. Impairment by ethanol of prostaglandin production in rat salivary glands. *Arch Oral Biol*. 1991;36:9-13.
- Wu Wang CY, Wang SL, Lim C, et al. Effect of ethanol on prostaglandin E2 receptor in rat submandibular salivary glands. *Arch Oral Biol*. 1992;37:869-73.
- Homann N, Jousimies-Somer H, Jokelainen K, et al. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption: methodological aspects and pathogenetic implications. *Carcinogenesis*. 1997;18:1739-43.
- Homann N, Tillonen J, Rintamäki H, et al. Poor dental status increases acetaldehyde production from ethanol in saliva: a possible link to increased oral cancer risk among heavy drinkers. *Oral Oncol*. 2001;37:153-8.
- Espina N, Lima V, Lieber CS, et al. In vitro and in vivo inhibitory effect of ethanol and acetaldehyde on O6-methylguanine transferase. *Carcinogenesis*. 1988;9:761-6.
- Maher JJ. Exploring alcohols effects on liver function. *Alcohol Health Res World*. 1997;21:51-2.
- Navasumrit P, Ward TH, Dodd NJ, et al. Ethanol induced free radicals and hepatic DNA strand breaks

- are prevented in vivo by antioxidants: effects of acute and chronic ethanol exposure. *Carcinogenesis*. 2000; 21:93-9.
31. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1 derived reactive oxygen species. *Hepatology*. 2002;35:62-73.
 32. McDonough KH. Antioxidant nutrients and alcohol. *Toxicology*. 2003;189:89-97.
 33. Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res Health*. 2003;27: 277-84.
 34. Polavarapu R, Spitz DR, Sim JE, et al. Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury in experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high in corn oil and fish oil. *Hepatology*. 1998;27: 1317-23.
 35. Baden E. Prevention of cancer of the oral cavity and pharynx. *CA Cancer J Clin*. 1987;37:49-62.
 36. Ross DR. Oncogenes: control of cell growth and senescence. In: Ross DW, editor. *Introduction to oncogenes and molecular cancer medicine*. New York: Springer-Verlag; 1998. p.29-44.
 37. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bul*. 1993;49:523-44.
 38. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* . 2004;44:239-67.
 39. Petersen DR. Alcohol, iron-associated oxidative stress, and cancer. *Alcohol*. 2005;35:243-9.
 40. Campos SC, Moreira DA, Nunes TD, et al. Oxidative stress in alcohol induced rat parotid sialadenosis. *Arch Oral Biol*. 2005;50:661-8.
 41. Mandel ID. The functions of saliva. *J Dent Res*. 1987; 66:623-7.
 42. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, et al. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002;29:189-94.
 43. Maito FL, Rados PV, Filho MS, et al. Proliferating cell nuclear antigen expression on tongue of mice after intake of, or topical exposure to, alcohol. *Alcohol*. 2003;31:25-30.
 44. Carrard VC, Filho MS, Rados PV, et al. Quantification of silver staining nucleolar organizer region in epithelial cells of tongue of mice after exposure to, or intake of, alcohol. *Alcohol*. 2004;34:233-8.

Endereço para correspondência:

VINICIUS C. CARRARD
Rua Ramiro Barcelos 2492/503 - Santana
CEP 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil
Fone: (51) 3308-5023
E-mail: vcarrard@yahoo.com.br