

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

Roberta Manjabosco Pilau

**EFEITO DO ETANOL 5% SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR
INDUZIDA EM RATOS WISTAR**

Porto Alegre
2009

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

Roberta Manjabosco Pilau

**EFEITO DO ETANOL 5% SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA EM
RATOS WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado junto ao Curso de
Odontologia da Universidade Federal do
Rio Grande do Sul como pré – requisito
final para obtenção do título de cirurgiã-
dentista.

Orientador: Prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker Rösing

Porto Alegre, 2009

Roberta Manjabosco Pilau

EFEITO DO ETANOL 5% SOBRE A PERDA ÓSSEA ALVEOLAR INDUZIDA EM RATOS WISTAR

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado junto ao Curso de Odontologia
da Universidade Federal do Rio Grande do
Sul como pré – requisito final para obtenção
do título de cirurgiã-dentista

Orientador: Prof. Dr.Cassiano Kuchenbecker Rösing

Comissão Examinadora

Marcus Comparsi Wagner

Tiago Fiorini

Porto Alegre 04 de dezembro de 2009

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus familiares Francisco, Lise, Cíntia e Mateus que, estiveram sempre ao meu lado durante a trajetória no curso de odontologia até a finalização desta obra.

Obrigada por tudo!

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer aos meus pais Lise e Francisco pela oportunidade que eles me deram de cursar odontologia. Reconheço que abdicaram algumas vezes de seus desejos em prol dos meus e da minha felicidade. Assim como agradeço pela paciência que tiveram que ter quando eu já não tinha mais.

Aos meus amigos que desde o vestibular até o presente momento tiveram que se conformar com a minha ausência em muitas reuniões que não pude comparecer por estar ocupada com questões acadêmicas. Mas mesmo assim, reclamando, nunca deixaram de me apoiar e de me escutar quando era disso que eu precisava.

A todos os colegas que fizeram parte da turma “ato 2009” que, sempre estiveram dispostos a socializar conhecimentos, a prestar ajuda no que fosse preciso, a trabalhar para que o melhor fosse alcançado. Além disso, levo comigo alguns amigos para vida toda.

Aos mestres a minha profunda gratidão, pois os conhecimentos que me passaram é a minha mais bela herança.

Meus sinceros agradecimentos ao Diego Nique Liberman, sem o qual esse trabalho não seria possível e com quem foi um prazer trabalhar. Desde o projeto estive sempre disposto a entender e resolver todo e qualquer problema que surgisse. Posso dizer o mesmo para Eduardo Gaio.

Ao pessoal do biotério da UFRGS, destacando Lorena Orlandini.

Por fim, ao meu orientador o prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker Rösing, que quando precisei estive sempre presente.

Resumo

A influência dos efeitos do consumo de álcool sobre os tecidos periodontais tem sido avaliada através de estudos epidemiológicos e em animais. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da ingestão de etanol a 5% sobre a perda óssea alveolar induzida em ratos Wistar. Trinta ratos Wistar foram randomicamente divididos em dois grupos, teste (dieta líquida a base de Etanol 5 %) e controle (dieta líquida a base de água destilada), cada um contendo 15 animais. Ambos os grupos receberam ligaduras nos segundos molares superiores direitos e, durante 9 semanas foram expostos ou não ao álcool conforme grupo. Após o final do período experimental, os animais foram mortos e as peças processadas para análise morfométrica. Os resultados indicaram uma menor perda óssea no grupo exposto ao álcool (teste t para amostras independentes, $p < 0,05$). Conclui-se que a exposição ao etanol a 5% esteve associada a menor perda óssea alveolar em dentes que não tiveram doença periodontal induzida por ligadura.

Palavras chave: ingestão de etanol, perda óssea alveolar, estudo em animais, ligadura, análise morfométrica.

Abstract

The influence of alcohol consumption on periodontal tissues has been evaluated in epidemiological and animal studies. The aim of the present study was to evaluate the effect of 5% ethanol consumption on alveolar bone loss in Wistar rats. Thirty Wistar rats were randomly divided into two groups - test (liquid ingestion of 5% ethanol) and control (liquid ingestion of distilled water) - each one with 15 animals. Both groups received ligatures around the second upper molars and, during 9 weeks, were exposed or not to alcohol according to group allocation. After the experimental period, the animals were sacrificed and specimens prepared for morphometric analysis. The results indicated less alveolar bone loss in the test group (independent samplt t test, $p < 0.05$). It may be concluded that exposure to 5% ethanol was associated with less alveolar bone loss in teeth without periodontal disease induced by ligature.

Key Words: ethanol intake, alveolar bone loss, animal studies, ligature, morphometric analyses

Sumário

1. Introdução.....	8
2. Materiais e Métodos.....	10
3. Resultados.....	15
4. Discussão.....	17
5. Considerações Finais.....	20
Referências Bibliográficas.....	21

1. Introdução

A ingestão de substâncias contendo álcool é antiga e também uma característica comum entre muitas sociedades atuais. A Organização Mundial da Saúde[1] estima que existem em torno de 2 bilhões de pessoas no mundo consumidoras de bebidas alcoólicas. No Brasil o consumo anual é de 8,6 litros per capita[2]. Entre 1961 e 2000 o consumo dessas bebidas cresceu 154,8% per capita, situando o Brasil entre os 25 países do mundo que mais aumentaram o consumo de álcool no mundo[1].

Periodontite é uma doença multifatorial que tem como fator etiológico primário o biofilme bacteriano[3], entretanto as bactérias não são suficientes para iniciar e realizar a progressão dessa doença. Por esse motivo, tem-se pesquisado possíveis fatores de risco que influenciem o início e o curso da doença. Para serem reconhecidos como tal, são necessários alguns requisitos[4]: intensidade da associação, efeito dose-resposta, plausibilidade biológica, consistência temporal, consistências das descobertas. Atualmente, Diabetes Mellitus não controlada[5], fumo[6] e certas bactérias[7] preenchem esses requisitos. O álcool vem sendo pesquisado e já há desfechos na literatura que mostram essa substância alterando o curso da doença[8].

Estudos mostram que o consumo moderado de álcool está associado com a diminuição do risco de infecção respiratória[9], assim como diminuição de risco para doenças coronárias e níveis sistêmicos de marcadores inflamatórios[10]. Alguns estudos mostram que o efeito do álcool na doença periodontal pode estar relacionado à falta de cuidado que as pessoas têm com sua higiene oral[11]. Devido ao uso crônico dessa substância um estudo mostrou que pessoas que bebem de maneira regular e pessoas que não bebem álcool, têm 60% a mais de chance de ter nível de inserção clínica (NIC) maior que 5mm do que pessoas que bebem ocasionalmente[8].

O presente estudo foi realizado em ratos Wistar, pois estudos em modelo animal permitem aos pesquisadores a utilização de métodos que não seriam éticos

em pesquisas realizadas em seres humanos, principalmente em relação à administração de drogas que tenham conseqüências físicas e psicológicas [12]. Assim, através de estudos experimentais realizados em ratos, é possível a indução de uma doença periodontal que apresenta características muito semelhantes àquela observada em humanos [13] com o benefício da possibilidade de uma análise histológica após a realização do experimento.

O propósito deste estudo foi avaliar a influência do etanol 5% na periodontite induzida por ligadura em ratos Wistar.

2. Materiais e Métodos

Trata-se de um estudo realizado em modelo animal, sendo prospectivo, randomizado, controlado e cego

Utilizou-se um total de 30 ratos Wistar, com idades entre 45-60 dias, divididos em 2 grupos (teste e controle) por meio de randomização estratificada para o peso aferido previamente ao início do estudo. Os animais foram alocados em seis caixas-moradia de plástico mantidas dentro do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os ratos foram mantidos em um ambiente climatizado a uma temperatura variável entre 18°C e 22°C, e um ciclo alternado claro/escuro de 12 horas foi respeitado. A ambos os grupos, foi oferecida uma dieta ad libitum contendo ração e líquido com ou sem a presença de etanol. Após divididos em número de cinco animais por caixa, os mesmos receberam numeração de um a cinco realizadas através de riscos com caneta marcadora permanente no rabo e as caixas devidamente identificadas dentro dos grupos controle (C1, C2 e C3) e teste (T1, T2 e T3). As marcações foram refeitas semanalmente para acompanhamento dos animais.

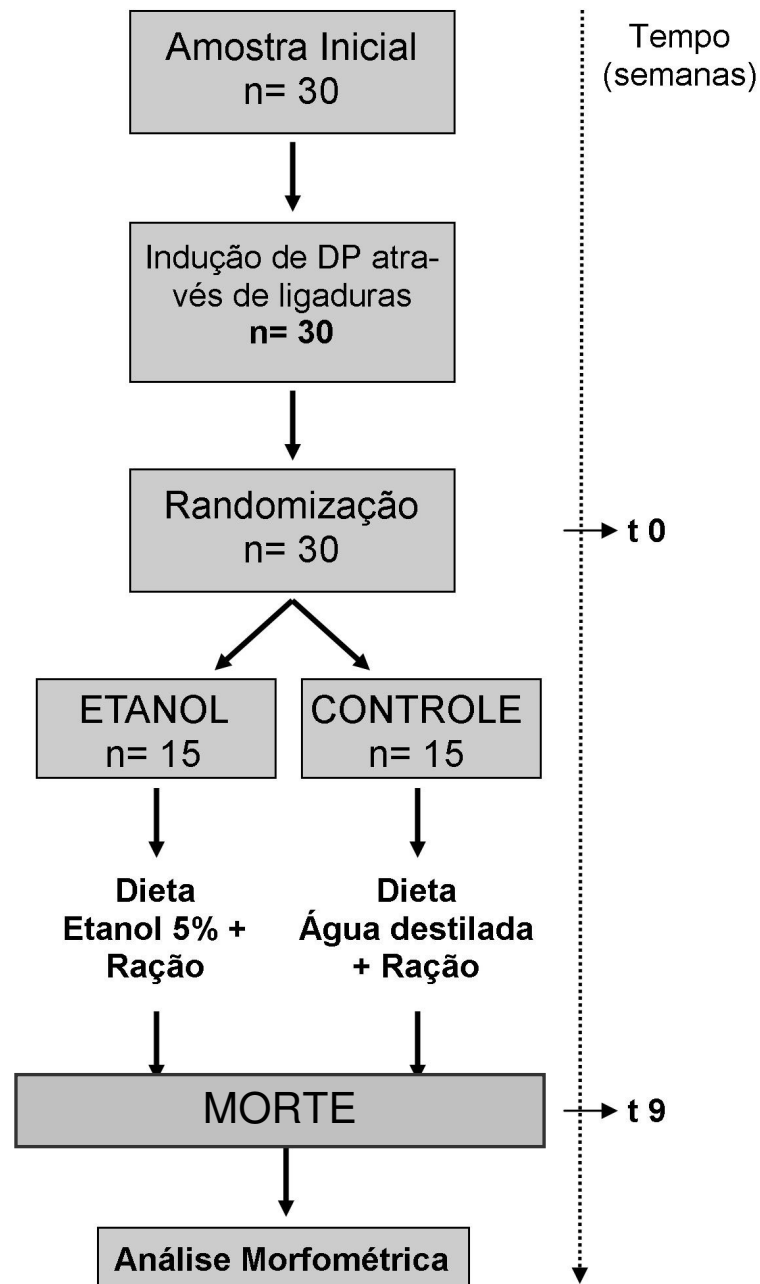
Realizou-se anestesia geral através da via Intra Peritoneal (IP) e utilizou-se associação das drogas Cloridrato de Cetamina (80mg/Kg) - Cetamin® / Xilazina (0,8mg/Kg) - Dopaser® - para a colocação de ligadura (fio de sutura de seda 4-0 - Ethicon®). Em todos os ratos, as ligaduras foram posicionadas subgingivalmente nos segundos molares maxilares direitos para a indução de inflamação periodontal sendo que a região de segundos molares maxilares esquerdos permaneceu sem a presença de ligadura como controle intra-grupo.

Para os ratos do grupo teste (Etanol), foi administrada uma dieta líquida diariamente contendo etanol numa concentração de 5% ao longo de 9 semanas [14]. Para o segundo grupo (Controle), foi administrada a mesma dieta líquida diária exceto pela presença do etanol que foi substituído por água destilada. O tratamento em ambos os grupos ocorreu igualmente sendo que os dois grupos receberam, juntamente com a dieta líquida, a mesma ração como complemento da dieta. A administração e reposição, tanto da dieta líquida quanto da ração, entre os grupos

ocorreu conforme necessidade e demanda. Para a obtenção de líquido contendo etanol numa concentração de 5%, utilizou-se uma proveta de 500ml onde misturou-se 25ml de álcool etílico 100% PA (Vetec® Química Fina Ltda.) a 475ml de água destilada. A dieta líquida fornecida ao grupo controle continha apenas água destilada. Tanto o consumo de líquido quanto o de ração foi mensurado ao longo do período experimental entre os grupos teste e controle para análise.

O consumo de líquido e ração bem como sua reposição foi realizado três vezes por semana. Além disso, semanalmente, o controle de peso dos ratos dos dois grupos foi realizado sendo que o acompanhamento de peso ocorreu através das marcações no rabo realizadas previamente ao início do estudo.

A figura 1 descreve o fluxograma do estudo.

Figura 1. Fluxograma do estudo.

Ao final da nona semana, com o período experimental encerrado, os animais foram mortos por meio de câmara de CO₂. As peças pertencentes às maxilas foram imersas em hipoclorito de sódio de 7% a 9% de cloro ativo (Mazzarollo®), durante

quatro horas e os tecidos moles mecanicamente removidos. Passado este período, as peças foram lavadas e secas e, para uma melhor visualização da junção amelo-cementária, coradas com azul de metileno a 1% (Quinta Essência Manipulação) durante um minuto.

Os procedimentos de preparo das peças bem como de análise morfométrica seguiram a metodologia de estudo prévio[15] e ocorreram no Laboratório de Periodontia Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para a tomada das fotografias, utilizou-se uma câmera fotográfica digital de 6.1 megapixels Nikon modelo D100, com lente macro 100, acoplada a um tripé com distância focal mínima, de modo que o cone ficasse o mais paralelo possível em relação ao solo.

Confeccionou-se um aparato utilizando pasta pesada de Silicona de Adição (3M ESPE®) para promover fixação de régua endodôntica a uma posição perpendicular em relação ao solo. As peças foram fixadas à régua com dois laços de fio dental, de modo que o plano oclusal da peça ficasse paralelo ao solo. Tomadas fotográficas foram feitas por vestibular e por palatino de cada uma das peças (hemimaxilas) sendo que a medida da distância da junção amelo-cementária à crista óssea foi obtida através programa Image Tool 3.0, por um examinador previamente calibrado e cego quanto ao grupo experimental a que pertenciam os espécimes.

Previamente ao início da análise morfométrica, para a calibragem do examinador, 20 espécimes foram aleatoriamente escolhidos (por sorteio) para serem duplamente mensuradas, em termos de perda óssea alveolar, com intervalo de uma semana. Houve ausência de diferença estatisticamente significativa entre as médias.

Para fins de comparação da perda óssea ocorrida nos dentes dos grupos Controle e Etanol, foram feitas dez medidas lineares (perpendiculares ao solo) da junção amelo-cementária à crista óssea alveolar, cinco delas na face vestibular e cinco medidas na face palatina. Para cada face foram feitas duas medidas na raiz distal, duas na raiz mesial e uma na área da furca. A perda óssea dos dentes foi gerada a partir da média dessas dez medidas lineares.

As análises foram realizadas com auxílio do software SPSS 13.0 para Windows. Estudos prévios avaliando destruição periodontal em ratos[16] utilizaram

uma amostra de 13 ratos por grupo calculados a partir de nQuery Advisor (Statistical Solutions, Saugus MA, USA)[17] e também baseado em estudos anteriores[18]. No presente estudo, uma amostra de 15 ratos por grupo foi adotada pela estimativa de perda de ligaduras ao longo do período experimental e exclusão da análise estatística.

Os ratos, após morte e obtenção das peças para análise morfométrica, foram descartados seguindo o protocolo do CREAL dentro da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3. Resultados

O principal desfecho avaliado no presente estudo – perda óssea alveolar – está representado através da Figura 2.

Foi observado que nos grupos sem ligadura, controle e teste, houve uma perda óssea total média de 0.37 ± 0.07 e 0.32 ± 0.07 respectivamente. Uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre esses grupos ($p=0.04$). A mesma diferença entre os grupos não pôde ser observada nos dentes em que a doença periodontal foi induzida através de ligadura ($p=0.14$), visto que o grupo controle teve uma perda óssea total média de 0.84 ± 0.18 e o grupo teste de 0.78 ± 0.14 . Apesar disso, uma menor perda óssea no grupo teste pode ser observada nos dentes com e sem ligadura.

O peso médio dos ratos ao longo do estudo está representado através da Figura 3. No início do estudo o grupo controle (C1, C2 e C3) apresentou peso médio de 262g e o grupo teste (T1, T2 e T3) 259g. Ao final do estudo o peso médio foi 341g e 336g para o grupo controle e teste respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao peso médio inicial e final do estudo bem como ao longo do estudo.

O consumo médio de líquido (etanol / água destilada) não apresentou diferença significativa entre os grupos e está representada no Anexo I.

Figura 2. Perda óssea alveolar média (mm) nos dentes com e sem ligadura de acordo com o grupo experimental. *Diferença significativa: teste-T para amostras independentes

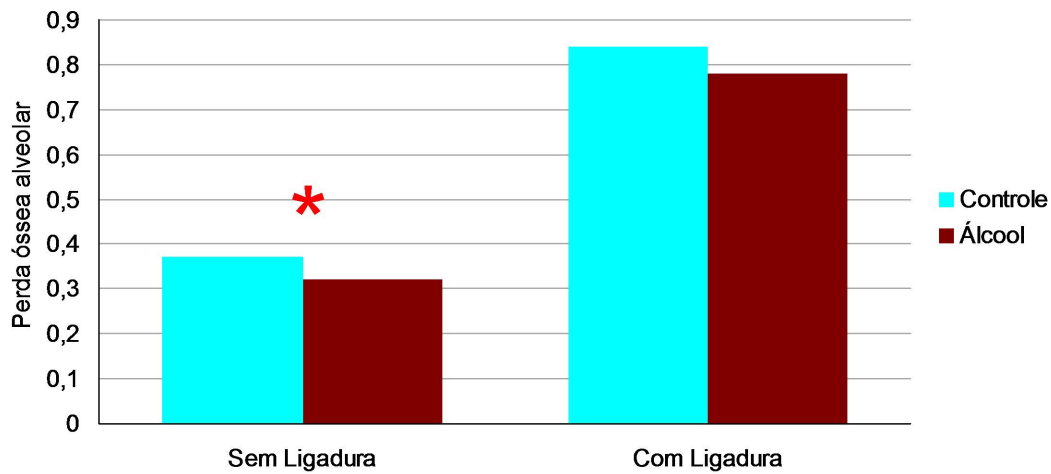
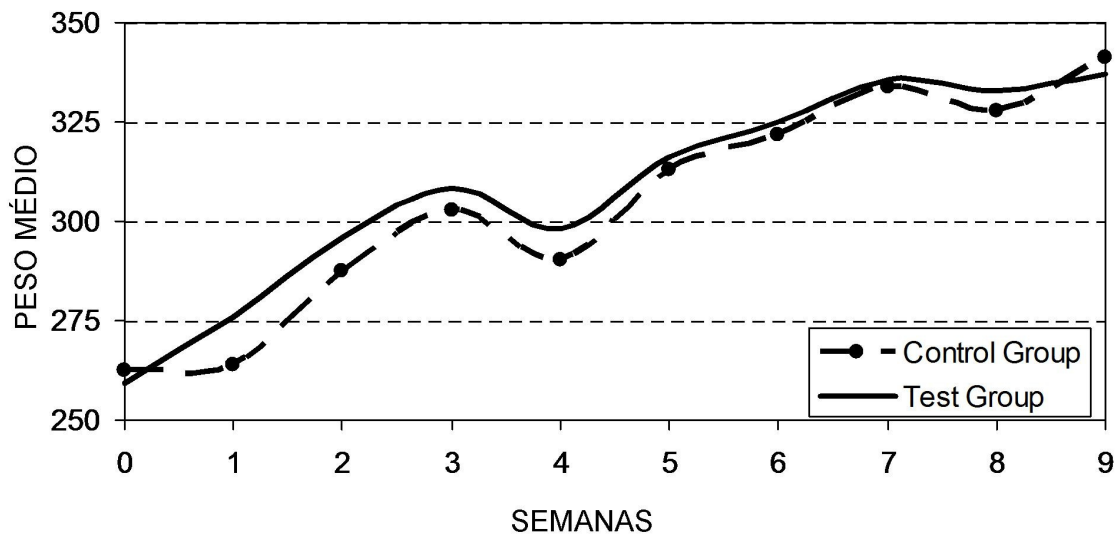


Figura 3 – Peso médio dos grupos Teste e Controle ao longo do estudo.



4. Discussão

O presente estudo investigou a influência do etanol 5% na perda óssea alveolar induzida por ligadura em ratos Wistar. Foram utilizados apenas animais machos pela questão hormonal presente nas fêmeas, o que poderia ter uma certa influência no curso da doença periodontal[19]. A baixa concentração de etanol, 5%, utilizada neste estudo está justificada por não existirem estudos na literatura que relacionem periodontite induzida por ligadura em modelo animal e essa concentração de etanol (5%).

Segundo a OMS[1], consideram-se bebedores moderados os homens que consomem menos do que 21 unidades de álcool por semana e mulheres que consomem até 14 unidades de álcool por semana. Sendo que cada unidade de álcool equivale à 10g de álcool, pode-se afirmar que homens podem consumir no máximo 2 latas de cerveja por dia (ao longo do dia) e mulheres por volta de 1 lata. Na literatura, não há consenso quanto a definição de consumo moderado de álcool. Entretanto, alguns estudos[20] adotam o padrão do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos e do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que consideram consumo moderado de álcool, não mais de 1 drink /dia para mulheres e não mais de 2 drinks/dia para homens. Sendo 1 drink considerado como 350 ml de cerveja padrão (5% de álcool), 150ml de vinho (12% de álcool) e 45 ml de qualquer bebida destilada (40% de álcool).

No presente estudo, foi observado entre os grupos teste e controle uma diferença estatisticamente significativa na perda óssea alveolar em dentes que não apresentavam ligadura. Esta diferença entre os grupos não pode ser observada quando a doença periodontal foi induzida através de ligadura. A hipótese para tal ocorrido pode estar no fato de que a perda óssea mais aguda gerada pela presença de ligaduras tenha mascarado os possíveis efeitos do álcool sobre os tecidos de suporte periodontal.

A maioria dos estudos sobre o assunto mostram que a ingestão de altas doses de álcool pode diminuir a resposta imune do hospedeiro tornando-o mais

suscetível a infecções[21]. Entretanto, consumo moderado de álcool parece ter um impacto benéfico no sistema imune comparado com aqueles que abusam ou não ingerem álcool[22]. Um estudo in vitro mostrou o efeito benéfico à saúde de beber cerveja moderadamente, pois interfere na cascata de citocinas da inflamação[23]. Um levantamento epidemiológico realizado através do estudo MONICA verificou que o consumo moderado de cerveja ou vinho esteve associado a um menor nível nos marcadores inflamatórios sistêmicos[24]. Assim, pode-se dizer que os resultados do presente estudo estão de acordo com alguns achados na literatura de que o álcool tenha um possível efeito anti-inflamatório quando utilizado em baixas concentrações.

Quanto ao peso médio inicial e final dos animais do grupo controle e teste, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Houve um ganho de peso inicial maior na primeira semana de estudo (não significativa estatisticamente) para o grupo teste quando comparado aos ratos do grupo controle. Cabe ressaltar que não houve diferença estatística nos valores médios absolutos de ingestão de alimentos (líquido e sólido) entre os grupos. Duas hipóteses podem ser levantadas para este fato. A primeira é de que o álcool em baixas concentrações possa, através de uma ação anti-inflamatória, ter um efeito analgésico adicional e que este possa ter diminuído o incomodo pela presença das ligaduras no grupo teste favorecendo a ingestão de alimentos. A segunda hipótese é a do alto valor energético atribuído ao álcool (7Kcal/g) quando comparado aos carboidratos (3Kcal/g) e proteínas (4Kcal/g)[25]. Por esse motivo, a maior ingestão calórica por parte dos ratos do grupo teste pode ter sido responsável pelo aumento de peso inicial. Após o ganho inicial de peso, houve uma estabilidade e as médias nos pesos observadas mantiveram-se iguais entre os grupos.

Segundo a literatura[13], certos modelos animais podem ser usados em estudos prospectivos por se assemelharem aos humanos em relação a aspectos clínicos e histológicos da doença periodontal. Em algumas situações, tais estudos realizados em humanos seriam inviabilizados por questões éticas. Esse estudo utilizou como modelo ratos Wistar, pela sua anatomia periodontal, desenvolvimento e composição do biofilme dental, histopatologia da doença periodontal, e defesa do organismo, se parecerem com as características nos homens e poderem ser comparadas e atribuídas[13]. Além disso, em ratos, foi possível analisar o fator isolado do álcool, evitando outros possíveis fatores confundentes advindos da

natureza multifatorial da periodontite. Foram usadas ligaduras na hemimaxila direita, no segundo molar de cada rato para intensificar as características da periodontite humana, incluindo infiltrado celular inflamatório, perda de inserção e reabsorção do osso alveolar[26].

Os resultados do presente estudo sugerem, através da perda óssea observada, um possível efeito anti-inflamatório resultante da ingestão de álcool em baixas concentrações. Uma possível limitação desta investigação foi a impossibilidade de confirmação destes efeitos a partir de uma análise histológica ou sanguínea.

É importante que sejam entendidos os resultados do presente estudo na perspectiva de uma nova informação, que necessita confirmação futura. De maneira nenhuma os outros problemas advindos do uso abusivo do álcool podem ser ignorados.

5. Considerações Finais

O álcool em baixas concentrações (5%), pode ter desempenhado um papel na inflamação branda agindo como anti-inflamatório e diminuindo a perda óssea alveolar induzida por ligaduras em ratos Wistar. Entretanto, apesar de um possível efeito benéfico, o consumo de bebidas alcoólicas não deve ser aconselhado já que hábitos saudáveis podem ser mais indicados para a manutenção da saúde geral. Além disso, doses excessivas de álcool podem ocasionar sérios riscos à saúde dos indivíduos.

REFERÊNCIAS

- [1] WHO. Global Status Report on Alcohol 2004. Department of Mental Health and Substance Abuse; 2004.
- [2] Rehm J, Room R. Alcohol Use : World Health Organization. 2004:150.
- [3] Kornman KS, Loe H. The role of local factors in the etiology of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1993;2:83-97.
- [4] Hill AB. Principles Medical Statistics. New York: Oxford University Press 1971
- [5] Mealey BL. Periodontal disease and diabetes. A two-way street. *J Am Dent Assoc* 2006;137 Suppl:26S-31S.
- [6] Bergstrom J. Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontology* 2004;92(1):1-8.
- [7] Albandar JM. Periodontal diseases in North America. *Periodontol 2000* 2002;29:31-69.
- [8] Bouchard PP. Boutouyrie, et al. Risk assessment for severe clinical attachment loss in an adult population. *J. Periodontol*, 2006: 77(3): 479-89.
- [9] Cohen S, Tyrrell DA, Russell MA, Jarvis MJ, Smith AP. Smoking, alcohol consumption, and susceptibility to the common cold. *Am J Public Health* 1993;83(9):1277-83.
- [10] Scannapieco FA, Bush RB, Paju S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8(1):38-53.
- [11] Novacek G, Plachetzky U, Potzi R, Lentner S, Slavicek R, Gangl A, et al. Dental and periodontal disease in patients with cirrhosis--role of etiology of liver disease. *J Hepatol* 1995;22(5):576-82.
- [12] Tabakoff B, Hoffman PL. Animal models in alcohol research. *Alcohol Res Health* 2000;24(2):77-84.
- [13] Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol* 1991;62(1):59-73.
- [14] Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004;79(3):502-9.

- [15] Gaio EJ, Fernandes MI, Oppermann RV, Rados PV, Rösing CK. Análise comparativa da altura óssea histométrica e morfométrica na periodontite induzida em ratos. *Anais da SBPqO*; 2004.
- [16] Cavagni J, Soletti AC, Gaio EJ, Rosing CK. The effect of dexamethasone in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. *Braz Oral Res* 2005;19(4):290-4.
- [17] Irie K, Tomofuji T, Tamaki, Sanbe T, Ekuni, Azuma T, Maruyama T, Yamamoto T. Effects of Ethanol Consumption on Periodontal Inflammation in Rats 2008: 87(5): 456-60
- [18] Tomofuji T, Kusano H, Azuma T, Ekuni D, Yamamoto T, Watanabe T, Effects of a high-cholesterol diet on cell behavior in rat periodontitis. 2005: 84:752-756
- [19] Romeo J, Warnberg J, Nova E, Diaz LE, Gomez-Martinez S, Marcos A. Moderate alcohol consumption and the immune system: a review. *Br J Nutr* 2007;98 Suppl 1:S111-5.
- [20] Tezal M, Grossi SG, Ho AW, Genco RJ. The effect of alcohol consumption on periodontal disease. *J Periodontol* 2001;72(2):183-9.
- [21] Szabo G. Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol* 1999;34(6):830-41.
- [22] Diaz LE, Montero A, Gonzalez-Gross M, Vallejo AI, Romeo J, Marcos A. Influence of alcohol consumption on immunological status: a review. *Eur J Clin Nutr* 2002;56 Suppl 3:S50-3.
- [23] Winkler C, Wirleitner B, Schroecksnadel K, Schennach H, Fuchs D. Beer down-regulates activated peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Int Immunopharmacol* 2006;6(3):390-5.
- [24] Imhof A, Woodward M, Doering A, Helbecque N, Loewel H, Amouyel P, et al. Overall alcohol intake, beer, wine, and systemic markers of inflammation in western Europe: results from three MONICA samples (Augsburg, Glasgow, Lille). *Eur Heart J* 2004;25(23):2092-100.
- [25] Azeredo VM, Barreto SM, Diniz LM, Lima-Costa MF. Type 2 diabetes: prevalence and associated factors in a Brazilian community. 2005;123(2):66-7
- [26] Di Paola R, Marzocco S, Mazzon E, Dattola F, Rotondo F, Britti D, et al. Effect of aminoguanidine in ligature-induced periodontitis in rats. *J Dent Res* 2004;83(4):343-8.

ANEXO I – Padrão de consumo médio de líquido (em ml) e ração (em g) ao longo do estudo nos grupos Etanol (teste) e Controle.

	Controle	Teste	
Média/dia/rato	21,82 g	18,85 g	Ração
Média/dia/rato	31,58 ml	30,70 ml	Líquido

ANEXO II: Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

RESOLUÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão de Pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisaram o Projeto:

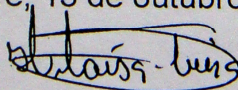
Número: 303/08

Título: EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO ÁCOOL NA DESTRUIÇÃO PERIODONTAL EM RATOS.

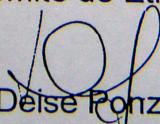
Investigador(es) principal(ais): Professor Cassiano Kuchenbecker Rösing e CD. Diego Nique Liberman.

O Projeto foi aprovado na reunião do dia 09/10/2008, Ata nº 10/08 do Comitê de Ética em Pesquisa e da Comissão de Pesquisas, da UFRGS, por estar adequado ética e metodologicamente de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 13 de outubro de 2008.



Prof^a. Heloísa Emília Dias da Silveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisas



Prof^a. Deise Ponzoni
Coordenadora da Comissão de Pesquisas