



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Viviane Curi

**Alterações no Periodonto de Proteção e
Ligamento Periodontal em Molares de Ratos
Submetidos ao Etanol Durante a Lactação.
Estudo Histopatológico e Histométrico**

São José do Rio Preto
2010

Viviane Curi

**Alterações no Periodonto de Proteção e
Ligamento Periodontal em Molares de Ratos
Submetidos ao Etanol Durante a Lactação.
Estudo Histopatológico e Histométrico**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto para
obtenção do Título de Doutor no Curso
de Pós-graduação em Ciências da
Saúde, Eixo Temático: Medicina e
Ciências Correlatas.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Azoubel

Co-Orientador: Prof. Dr. Ruberval Armando Lopes

São José do Rio Preto
2010

Curi, Viviane

Alterações no Periodonto de Proteção e Ligamento Periodontal em Molares de Ratos Submetidos ao Etanol Durante a Lactação.

Estudo Histopatológico e Histométrico / Viviane Curi

São José do Rio Preto, 2010

105 p.;

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Azoubel

Co-Orientador: Ruberval Armando Lopes

1. Etanol; 2. Epitélio Juncional; 3. Epitélio Adamantino; 4. Gengiva inserida; 5. Ligamento Periodontal; 6. Rato; 7. Lactação.

Viviane Curi

**Alterações no Periodonto de Proteção e Ligamento
Periodontal em Molares de Ratos Submetidos ao
Etanol Durante a Lactação. Estudo Histopatológico
e Histométrico**

Banca Examinadora

Tese para Obtenção do Grau de Doutor

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Azoubel

2º Examinador: Prof. Dr. João Armando Padovani Júnior

3º Examinador: Prof. Dr. Fábio Luiz Ferreira Scannavino

4º Examinador: Profa. Dra. Vera Lucia Fujita dos Santos

5º Examinador: Prof. Dr. Alex Tadeu Martins

Suplentes: Prof. Dr. Vânia Del'Arco Pachcoal

Prof. Dr. Suzimary Ap. Trevizan Padulla

São José do Rio Preto, 29/11/2010

SUMÁRIO

Dedicatória.....	i
Agradecimentos	iii
Epígrafe	xiii
Lista de Figuras.....	xiv
Lista de Tabelas.....	xvi
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	xviii
Resumo.....	xx
Abstract.....	xxiii
1. Introdução	01
1.1. Objetivos	09
2. Materiais e Métodos	10
2.1. Animais	11
2.2. Tratamento.....	11
2.3. Técnica de Dissecção e Técnica Histológica	12
2.4. Cariometria.....	12
2.5. Técnica Estereológica	14
2.5.1. Relação Núcleo-Citoplasma (N/C).....	15
2.5.2. Volume Citoplasmático e Volume da Célula Epitelial (VCT e VCEL).....	16
2.5.3. Densidade Numérica Celular.....	17
2.5.4. Relação Superfície Externa/Camada Basal (V/S)	17
2.5.5. Espessura Média do Epitélio (E)	18

2.5.6.	Densidade de Superfície (SV)	18
2.6.	Técnica Estatística	19
3.	Resultados	20
3.1.	Morfológicos	21
3.2.	Morfométricos.....	35
3.2.1.	Cariometria	35
3.3.	Estereologia	40
3.3.1.	Epitélio Juncional.....	40
3.3.2.	Epitélio Adamantino Reduzido.....	42
3.3.3.	Epitélio da Gengiva Inserida.....	43
3.3.4.	Periodonto de Sustentação	45
4.	Discussão.....	55
5.	Conclusões	62
6.	Referências Bibliográficas.....	66
7.	Apêndices	79

- ✓ A **DEUS** que por sua presença, luz e força sempre me abençoa e capacita para tudo aquilo que Ele me destina.

- ✓ Aos meus filhos **Bárbara** e **Nicolas** que sempre me apoiaram incondicionalmente, que apostaram em mim mais do que ninguém e que seguramente são os que mais compartilham da minha alegria...

“Se um dia tiver de escolher entre o mundo e o amor...

Lembre-se. Se escolher o mundo ficará sem o amor, mas se escolher o amor com ele conquistará o mundo”. *Albert Einstein*

- ✓ Aos meus pais **Dora** e **Fausi** que por uma vida de dedicação, amor e trabalho sempre possibilitaram a seus filhos a oportunidade de realizar sonhos e conquistas.

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho”.

Dalai Lama

- ✓ Aos meus irmãos **Alex, Luciane (*in memoriam*) e Fabiana Curi** exemplos de dignidade, bondade e caráter.

“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existem são pessoas que lutam pelo seus sonhos ou desistem deles.” **Augusto Cury**

- ✓ Aos meus queridos e amados sobrinhos **Gabriela, Vitória, Rafael e à minha cunhada Jissélia pela amizade, paciência e carinho .**

O valor das coisas não está no tempo que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
por isso, existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.

Fernando Pessoa

- ✓ Ao meu **querido João** pela companhia carinhosa, por tornar minha vida mais feliz, por compreender os meus momentos difíceis. Muito obrigada por ser tão companheiro e dedicado.

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”.

Antoine de Saint-Exupéry

Agradecimentos

Estes anos em que fiz esta pesquisa foram uma árdua jornada de desafio, construção e amadurecimento. Nenhum empreendimento é realizado de forma fácil e sem esforço.

Os grandes empreendimentos são construídos em meio a muitas dificuldades: Ser herói não significa acertar constantemente. É muito mais que isso. O verdadeiro espírito de um herói encontra-se na intensa convicção de enfrentar e vencer as dificuldades em vez de desistir de tudo. Na vida de todos nós poderão surgir situações inesperadas. Poderão manifestar obstáculos ou problemas que jamais havíamos imaginado. É justamente nesses momentos que revelamos o que verdadeiramente carregamos no coração.

Neste período, aprendi que uma tese ou qualquer outro trabalho é a extensão da vida do autor. Então, para que algo de valor seja produzido, a pessoa deve primeiro criar algo de valor em si. Pessoa e obra são consistentes com o resultado.

Por este motivo, agradeço sincera e profundamente a todas as pessoas que muito me encorajaram e me ajudaram a produzir algo de valor em minha vida.

- ✓ Primeiramente, agradeço ao meu grande exemplo, o **Prof. Dr. Reinaldo Azoubel – Professor Titular Aposentado da Universidade de São Paulo**. Para mim, é uma imensa honra e orgulho tê-lo como orientador. Não esqueço seus eternos ensinamentos, seus preciosos conselhos e sua inestimável confiança. Muito Obrigada!

Os homens de poucas palavras são os melhores.

William Shakespeare

Educador

É aquele que caminha com o tempo,

Propondo paz, fazendo união, despertando sabedoria.

Educador é aquele que estende a mão, inicia o diálogo e

Encaminha para a aventura da vida.

Não é o que ensina fórmulas, regras, raciocínios,

Mas o que questiona e desperta para a realidade.

Não é o que dá de seu saber, mas

Aquele que faz germinar o saber do discípulo.

Educador é você, professor amigo que compreende,

Estimula, comunica e enriquece com sua esperança,

Seu saber e sua ternura, os que estão sob sua responsabilidade.

Educar é ser responsável.

É preciso que o discípulo da sabedoria tenha o coração grande e corajoso.

O fardo é pesado e a viagem longa.

- ✓ Agradeço também ao meu Co-Orientador **Prof. Dr. Ruberval Armando Lopes – Professor Titular Emérito do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FORP-USP)** – Obrigada Professor, pela sua gentileza, seu exemplo, sua amizade e orientação ao longo de todos estes anos. Desejo a você toda a felicidade do mundo e que continue sendo esta pessoa maravilhosa e tão abençoada por Deus.

"Há grandes homens que fazem com que todos se sintam pequenos. Mas, o verdadeiro grande homem é aquele que faz com que todos se sintam grandes."

- ✓ **Ao amigo e parceiro Elias Naim Kassis** não só pela amizade, carinho e auxílio técnico, mas, principalmente, pelo sorriso e bom humor constantes.

Mesmo que tivesse em minhas mãos todo o perfume das rosas, toda a beleza do céu, toda a pureza dos anjos, toda a inocência das crianças, toda a grandeza do mar, toda a força das ondas, mesmo que eu tivesse todas as coisas belas da vida e todos os belos lugares do mundo nada teria sentido se eu não tivesse o presente mais valioso, mais nobre e mais sagrado que Deus pode me dar... Sua amizade!!!

Eu só tenho a agradecer por você existir em minha vida!!!"

- ✓ Ao meu querido amigo **Alex Tadeu Martins** pelo exemplo de persistência, determinação, coragem e competência.

O importante não foi o dia que te conheci, mas o dia que aprendi a compartilhar com você minhas alegrias e tristezas.

Quando descobri que nascia em mim o sentimento da amizade.

Pude perceber que nascia entre nós um sonho de uma bela amizade.

A palavra é complicada, mas quem sabe seu significado é só quem tem a capacidade de poder apreciar seus defeitos e qualidades.

A amizade quando verdadeira é um sentimento eterno que não tem fim.

A minha amizade por você é tão especial que não saberei explicar em meras palavras.

Sempre sinto vontade de dizer o quanto é importante contar com amigos como você.

Hoje você já faz parte da minha vida, agradeço a Deus por ter te encontrado e descoberto com você a verdadeira amizade. Só te digo uma coisa, que minha amizade teve: um início, meio e nunca terá fim.

- ✓ As minhas grandes e inesquecíveis amigas **Salma, Samira, Jaqueline e Manuella Kassis**; gestos de carinho, atenção e delicadeza fazem-nos perceber quanto algumas pessoas são especiais na forma de ser e como são bem-vindas as suas ações.

Muito obrigado!

- ✓ **Aos Colegas de Pós-Graduação** por fazerem parte, sem dúvida alguma dos melhores momentos desta jornada.

Acredite

Acredite nas pessoas... Naquelas que possuem algo mais... Aquelas que, às vezes, a gente confunde com anjos e outras divindades... Digo daquelas pessoas que existem em nossas vidas e enchem nosso espaço com pequenas alegrias e grandes atitudes... Falo daquelas que te olham nos olhos quando precisam ser verdadeiras, tecendo elogios, que pedem desculpas com a simplicidade de uma criança...

Pessoas firmes... Verdadeiras, transparentes, amigas, ingênuas... Que com um sorriso, um beijos, um abraço, uma palavra faz feliz... Aquelas que erram... Acertam... Não tem vergonha de dizer não sei... aquelas que sonham... Aquelas amigas... Aquelas que passam pela vida deixando sua marca, saudades, aquelas que fazem à diferença... Aquelas que vivem intensamente um grande amor...

- ✓ Aos dedicados **Professores** da Famerp;

"A imortalidade de que se reveste a natureza humana.

Faz o homem sempre presente.

Presente pela amizade que conquistou;

Presente pelo exemplo que legou;

Sempre presente porque "educou."

Michel Wolle

- ✓ À Bibliotecária da Famerp **Cláudia** pela colaboração durante a pesquisa e revisão bibliográfica.

De longe, o maior prêmio que a vida oferece é a chance de trabalhar muito e se dedicar a algo que valha a pena.

Theodore Roosevelt

- ✓ Minha Instituição **Famerp**;

Um dia uma criança chegou diante de um pensador e perguntou-lhe:

Que tamanho tem o universo?

Acariciando a cabeça da criança, ele olhou para o infinito e respondeu:

O universo tem o tamanho do seu mundo.

Perturbada, ela novamente indagou:

Que tamanho tem meu mundo?

O pensador respondeu: Tem o tamanho dos seus sonhos.

Se seus sonhos são pequenos, sua visão será pequena, suas metas serão limitadas, seus alvos serão diminutos, sua estrada será estreita, sua capacidade de suportar as tormentas será frágil. Os sonhos regam a existência com sentido. Se seus sonhos são frágeis, sua comida não terá sabor, suas primaveras não terão flores, suas manhãs não terão orvalho, sua emoção não terá romances. A presença dos sonhos transforma os miseráveis em reis, faz dos idosos, jovens, e a ausência deles transforma milionários em mendigos faz dos jovens idosos. Os sonhos trazem saúde para a emoção, equipam o frágil para ser autor da sua história, fazem os tímidos terem golpes de ousadia e os derrotados serem construtores de oportunidades. Sonhe!

- ✓ **Aos funcionários do Biotério e Laboratório da Famerp** pelo companheirismo e agradáveis momentos de convivência

- ✓ Aos funcionários da seção de Pós-Graduação da FAMERP **José Antonio Silistino, Fabiana Cristina Godoy, Guilherme Martins, Luís Henrique Oliveira Ferreira e Rosimere Cleide Souza Desidério** pela atenção, carinho e paciência.

- ✓ Aos professores **Reinaldo Azoubel, Fernando Batigália e Alex Martins** que, como membros da banca de qualificação, contribuíram com importantes e enriquecedoras sugestões.

- ✓ Às minhas funcionárias **Dalvina, Elda e Liane** pelo carinho e prontidão;

- ✓ À amiga **Eliane Vicente** pela presença e amizade.
“Para conhecermos os amigos é necessário passar pelo sucesso e pela desgraça. No sucesso, verificamos a quantidade e, na desgraça, a qualidade. **Confúcio**”

- ✓ Ao amigo **Ricardo Gomes** pela atenção, disponibilidade e ajuda constante.

- ✓ Aos meus **Alunos** que foram meu incentivo contínuo.

- ✓ Aos meus colegas de trabalho **Marcelo Ramires, Wellington, Mauricio Miyazaki** quem me proporcionou coragem em todos os aspectos deste caminhar.

- ✓ Agradeço de todo o meu coração ao meu amigo **Nelson Thomaz Lascala Júnior** pela força, por todas as palavras de conforto, conselho em horas de incertezas e de tristeza.

- ✓ Manifesto aqui minha gratidão a todos os funcionários e amigos da Unipós: **Luciana Ribeiro, Rafael Estevan, Lucilene Mansur, Antônio Conte, Éder Belazi, Roberta Kassis, Yara e Maria Kassis.**

- ✓ Meus respeitosos agradecimentos pela contribuição aos dirigentes da UNORP **Dr. Augusto Cezar Casseb** e reitor **Dr. Eudes Quintino de Oliveira Júnior.**

- ✓ **Ao Prof. Dr. Miguel Angel Sala** – Professor Titular do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FORP-USP).

No caráter, na conduta, no estilo, em todas as coisas, a simplicidade é a suprema virtude.

Henry Wadsworth Longfellow

- ✓ **À Profa. Dra. Simone Cecílio Hallak Regalo** – Professora Associada do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FORP-USP).

Os ideais que iluminaram meu caminho e sempre me deram coragem para enfrentar a vida com alegria foram a Verdade, a Bondade e a Beleza.

Albert Einstein

- ✓ **Aos nobres Antônio de Campos, Edna Aparecida dos Santos Moraes, Gilberto André e Silva e Adriana** pelo trabalho técnico empregado;

A bondade é uma forma especial de verdade e beleza. É verdade e beleza no comportamento humano.

H. A. Overstreet

- ✓ **À Filomena Lelli Placciti, Rosângela e Cândida;** secretárias do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FORP-USP).

- ✓ Ao **Prof. Dr. Adolfo** (*in memoriam*) e **Dr. Nager Amuí** pela competência, prontidão e contribuição com textos traduzidos.

- ✓ A **todos** que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Saber Viver

*Não sei... Se a vida é curta
Ou longa demais pra nós,
Mas sei que nada do que vivemos
Tem sentido, se não tocamos o coração das pessoas.*

Muitas vezes basta ser:

Colo que acolhe,

Braço que envolve,

Palavra que conforta,

Silêncio que respeita,

Alegria que contagia,

Lágrima que corre,

Olhar que acaricia,

Desejo que sacia,

Amor que promove.

E isso não é coisa de outro mundo,

É o que dá sentido à vida.

É o que faz com que ela

Não seja nem curta,

Nem longa demais,

Mas que seja intensa,

Verdadeira, pura...

Enquanto durar.

Cora Coralina

Lista de Figuras

Figura 1.	Representação gráfica da grade idealizada por MERZ (1968).....	14
Figura 2.	Aspecto histológico do 1º. molar superior do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.....	23
Figura 3.	Aspecto histológico do 1º. molar superior do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.	24
Figura 4.	Em maior aumento, notar o epitélio da gengiva inserida, epitélio juncional e adamantino reduzido do rato controle.	25
Figura 5.	Em maior aumento, notar os epitélios juncional e adamantino reduzido, além das fibras periodontais da crista alveolar do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.....	26
Figura 6.	Notar o ligamento periodontal do rato controle, mostrando fibras bem organizadas.....	27
Figura 7.	Notar as fibras periodontais bem organizadas e tecido conjuntivo vascular, além dos odontoblastos, dentina e osso alveolar, do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.....	28
Figura 8.	Aspecto histológico do 1º. molar superior do rato com 21 dias de vida pós-natal, tratado com etanol. Notar que o dente não erupcionou.....	29
Figura 9.	Notar do 1º. molar superior do rato com 21 dias de vida pós-natal, tratado com etanol durante a lactação, parcialmente erupcionado.....	30

- Figura 10. Notar, no rato tratado com etanol, o epitélio da gengiva inserida mais delgado e epitélio juncional menos desenvolvido, além de epitélio adamantino reduzido mais alto e em paliçada..... 31
- Figura 11. Notar, no rato tratado com etanol, o epitélio juncional pouco desenvolvido, além de epitélio adamantino reduzido mais alto. 32
- Figura 12. Em maior aumento, notar, no rato tratado com etanol, epitélio da gengiva inserida mais delgado, epitélio juncional menos desenvolvido e epitélio adamantino reduzido mais alto e em paliçada..... 33
- Figura 13. Em maior aumento, notar, no rato tratado com etanol, as fibras periodontais desorganizadas, além do espaço periodontal mais reduzido..... 34

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Médias dos pesos corporais (em gramas) dos filhotes controles e tratados pelo etanol. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.....	22
Tabela 2.	Valores cariométricos médios das células das camadas basal e espinhosa do epitélio juncional do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T), durante a lactação. Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.....	47
Tabela 3.	Valores cariométricos médios das células do epitélio adamantino reduzido do 1º.molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.....	48
Tabela 4.	Valores cariométricos médios das células das camadas basal e espinhosa do epitélio da gengiva inserida do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.....	49
Tabela 5.	Valores cariométricos médios das fibras do ligamento periodontal do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney....	50
Tabela 6.	Valores estereológicos médios das células das camadas basal e espinhosa e do epitélio juncional total do 1º.molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.....	51
Tabela 7.	Valores estereológicos médios das células do epitélio adamantino reduzido do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.....	52

- Tabela 8. Valores estereológicos médios das células das camadas basal e espinhosa e do epitélio total da gengiva inserida do 1º.molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney..... 53
- Tabela 9. Valores estereológicos médios das fibras do ligamento periodontal do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.... 54

Lista de Abreviaturas e Símbolos

- A - Área
- alfac - álcool 80%-85 ml, formalina-10 ml e ácido acético-5 ml
- D - diâmetro maior
- d - diâmetro menor
- $\frac{D}{d}$ - Relação entre os diâmetros maior e menor:
- E - Excentricidade
- E - Espessura Média do Epitélio
- F - Coeficiente de forma
- HE - hematoxilina e eosina
- I - Índice de contorno
- M - Diâmetro geométrico médio
- ml - mililitros
- mm³ - Milímetros cúbicos
- Nv - Densidade Numérica Celular
- P - Perímetro
- SAF - Síndrome do Alcoolismo Fetal
- SV - Densidade de Superfície
- V - Volume

- $\frac{V}{A}$ - Relação entre o volume e a área:
- $\frac{V}{S}$ - Relação Superfície Externa/Camada Basal
- Vcel - Volume da Célula Epitelial
- VcT - Volume Citoplasmático
- Vvc - fração volumétrica dos núcleos corrigida
- Vvn - fração volumétrica observada
- x - vezes

Introdução: O alcoolismo é um problema de saúde pública mundial, envolvendo milhares de homens e mulheres, trazendo conseqüências graves como doença em todos os órgãos do corpo do humano, em especial o estômago, o fígado, o coração e o cérebro. O consumo de bebidas alcoólicas por lactantes e lactentes vem despertando a atenção dos pesquisadores, nas últimas décadas, com achados significantes. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do etanol no epitélio juncional, epitélio adamantino, epitélio da gengiva inserida e ligamento periodontal do primeiro molar superior do rato, durante a lactação. **Materiais e Métodos:** Para tal, foram utilizados ratos com um dia de vida pós-natal, cujas mães receberam etanol a 20% na água do bebedouro e ratos cujas mães não receberam o etanol, durante toda a lactação. Ao final de 21 dias, os filhotes foram sacrificados com sobredosagem anestésica (Hypnol a 3%). As cabeças foram separadas e fixadas em solução de "alfac" (álcool 80%-85 ml, formalina-10 ml e ácido acético-5 ml), incluídas em parafina e os cortes frontais seriados foram corados com hematoxilina e eosina. Os cortes foram focalizados ao microscópio de luz (100x) munido de uma câmara clara. Os núcleos das células dos tecidos estudados foram projetados sobre papel com aumento final de 1000x. e 50 núcleos de cada estrutura foram contornados com lápis preto para posterior medição dos diâmetros maior (D) e menor (d). Uma vez determinados os diâmetros, foram estimados os seguintes parâmetros cariométricos: diâmetro geométrico médio, relação entre D/d, perímetro, área, volume, relação entre volume e área,

excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno. Neste trabalho também, foi utilizada uma grade impressa sobre papel. As imagens obtidas foram desenhadas sobre a grade. Com a finalidade de se avaliar os volumes citoplasmáticos e celular, a relação núcleo/citoplasma, a densidade numérica celular, a relação superfície externa/ camada basal, a espessura das camadas epiteliais e a densidade da superfície, foi utilizada ora a contagem de pontos ora o número de intersecções e aplicadas às equações estereológicas apropriadas para cada uma dessas variáveis. Todos os dados colhidos foram submetidos à estatística não-paramétrica (teste de Wilcoxon-Mann-Whitney).

Resultados: Histologicamente, o dente molar do maxilar superior do rato tratado com etanol não estava erupcionado ou então, parcialmente erupcionado; o epitélio juncional estava reduzido e o epitélio adamantino presente estava em plena função e constituído de células altas em paliçada. O epitélio da gengiva inserida era mais delgado e constituído de células menores. No ligamento periodontal foi possível observar fibras desorganizadas e maiores. Os núcleos dos epitélios estudados mostraram valores diminuídos, após cariometria, para os diâmetros maior, menor e médio; volume, área, perímetro e relação V/A. Estereologicamente foi possível observar, nos epitélios juncional, adamantino e da gengiva inserida, células menos volumosas com citoplasma mais escasso levando a um maior número de células por mm^3 de tecido. O ligamento periodontal desorganizado mostrou fibras mais volumosas e com menor número por mm^3 . **Conclusões:** Neste estudo, o etanol ocasionou um quadro de hipotrofia epitelial, indicando uma

ação direta nos epitélios juncional e adamantino, epitélio de gengiva inserida bem como no ligamento periodontal.

Palavras-chaves: 1. Etanol; 2. Epitélio Juncional; 3. Epitélio Adamantino; 4. Gengiva Inserida; 5. Ligamento Periodontal; 6. Rato; 7. Lactação.

Introduction: Alcoholism is a public health problem worldwide, involving thousands of men and women, bringing serious consequences as a disease in all organs of the human body, especially the stomach, liver, heart and brain. The consumption of alcoholic beverages for infants and mothers have attracted the attention of researchers in recent decades, with significant. **Objective:** This study aimed to evaluate the effects of ethanol in the junctional epithelium, adamantine epithelium, epithelium of attached gingiva and periodontal ligament of the upper first molar of the rat, during lactation. **Materials and Methods:** To this end, we used mice with a day of postnatal life, whose mothers received 20% ethanol in drinking water and rats whose mothers do not received ethanol during the entire lactation. After 21 days, the chicks were sacrificed with anesthetic overdose (Hypnol 3%). The heads were separated and fixed in a solution of "alfac" (alcohol 80% -85 ml, 10 ml of formalin and acetic acid 5-ml), embedded in paraffin and frontal serial sections were stained with hematoxylin and eosin. The cuts were focused light microscope (100x) fitted with a camera lucida. The nuclei of cells from tissue fragments were designed on paper with increased end of 1000x. and 50 nuclei of each structure were outlined with black pencil for later measurement of larger (D) and smaller (d)diameters. Once determined the diameters were estimated karyometric following parameters: geometric mean diameter ratio D / d , perimeter, area, volume, relationship between volume and area, eccentricity, shape coefficient and contour index. This work also was done using a grid printed on paper. The images were drawn on the grid. In order to assess the volumes and cell cytoplasm, the nucleus /

cytoplasm ratio, the numerical cell density, relation to the external surface / basal layer, the thickness of epithelial layers and the density of the surface was sometimes used the count of the points and sometimes the number of intersections and applied to stereological equations appropriate for each of these variables. All data collected were submitted to non-parametric statistics (Wilcoxon-Mann-Whitney). **Results:** Histologically, the superior maxillary molar tooth of the rat treated with ethanol was not erupted or partially erupted; the junctional epithelium was reduced and the alveolar epithelium was in full function and consists of high palisade cells. The epithelium of attached gingiva was more slender and composed of smaller cells. In the Periodontal ligament was possible to observe bigger and disorganized fibers. The nuclei of the epithelia studies have shown decreased values after Karyometry, for larger and smaller medium diameters, volume, area, perimeter, and the relation V / A . Stereologically could be observed in the junctional epithelium, alveolar and the attached gingiva, less voluminous cell with scarce cytoplasm leading to a greater number of cells per mm^3 of tissue. The disorganized periodontal ligament showed larger fibers with smaller number per mm^3 . **Conclusion:** In this study, ethanol resulted in a framework of epithelial hypotrophy, indicating a direct action on the junctional and alveolar epithelium, epithelium of attached gingiva and periodontal ligament.

Keywords: 1. Ethanol; 2. Junctional Epithelium; 3. Alveolar Epithelium; 4. Gingiva; 5. Periodontium; 6. Rat; 7. Lactation.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O consumo de álcool traz conseqüências graves, como doenças em todos os órgãos do corpo humano, em especial o estômago, o fígado, o coração e o cérebro. O álcool está intimamente ligado ao aparecimento de cirrose, gastrite, polineurite, anemia, pelagra e úlceras cutâneas. Além disso, ele causa deficiência de vitaminas B1, B2, B6, B12 e C. O álcool afeta também a parte do cérebro que controla as freqüências respiratória e cardíaca.

O consumo de bebidas alcoólicas por lactantes vem despertando a atenção dos pesquisadores, nas últimas décadas, com achados significantes relacionados à lactantes e lactentes.

O alcoolismo é um problema de Saúde Pública mundial, envolvendo milhares de homens e mulheres.

Beber com o intuito de dar vazão aos sentimentos está associado a acidentes e mortes no trânsito, crimes violentos e ferimentos. Atinge jovens, adultos, idosos, gestantes e lactantes de todos os lugares.

Durante a gravidez, o álcool pode causar sérias deficiências físicas ou mentais no feto, assim como uma predisposição ao consumo de álcool na vida adulta.

Embora Aristóteles já houvesse observado que mulheres alcoólatras davam à luz crianças, como elas mesmas, taciturnas e indolentes,⁽¹⁾ só após as observações isoladas de Le Moine *et al.*⁽²⁾ na França em 1968 e Jones & Smith⁽³⁾ nos Estados Unidos em 1976, que a teratogenicidade do alcoolismo materno foi solidamente estabelecida.^(2,4)

O alcoolismo materno crônico foi, então, associado a um padrão específico de malformações congênitas, chamadas “Síndrome do Alcoolismo Fetal”, (SAF).^(2,4) A Síndrome inclui retardo do crescimento pré e pós-natal, dimorfismo facial, ptosis, estrabismo, fissura palpebral curta, anomalias dos membros, disfunção do Sistema Nervoso Central,⁽⁵⁾ microcefalia, defeitos cardíacos,⁽³⁻⁷⁾ e do tubo neural⁽⁸⁾ e anormalidades renais.⁽⁷⁻⁹⁾

Jones *et al.*,⁽⁴⁾ Jones & Smith,⁽³⁾ Hanson *et al.*,⁽⁶⁾ Detering *et al.*,⁽¹⁰⁾ Shorey *et al.*⁽¹¹⁾ e Abel & Greizerstein⁽¹²⁾ demonstraram que SAF não é causada pela deficiência nutricional materna. O cariótipo é normal.⁽¹³⁾

Vários estudos com animais de laboratório têm demonstrado que a exposição materna ao álcool, durante a gestação, pode resultar em malformações congênitas.⁽¹⁴⁻¹⁷⁾

Esses efeitos foram comprovados no cão,⁽¹⁸⁾ na galinha,⁽¹⁹⁾ no camundongo,^(14,15,17,20) no rato,^(10,12,21-25) no macaco,⁽²⁶⁾ no furão,⁽²⁷⁾ no coelho,⁽²⁸⁾ na cobaia⁽²⁹⁾ e no porco.⁽³⁰⁾

Nos estudos experimentais, o etanol tem sido administrado por diferentes vias: injeções intraperitoneal e endovenosa, por “gavage”, na água de bebedouro ou em dieta líquida.^(14-16,21,24,29,31,32)

Os resultados dos estudos experimentais sobre o efeito do álcool no desenvolvimento embrionário diferem consideravelmente⁽³³⁾ e não mostram uma clara relação entre as espécies animais estudadas, níveis de dosagem ou via de administração. Retardo no crescimento, redução do tamanho da ninhada, aumento da mortalidade perinatal, anomalias congênitas e distúrbios

do comportamento pós-natal tem sido relatados em alguns estudos,^(14,15,21,31,34) embora em outros tais efeitos não tenham sido observados.^(25,28,35,36)

A lactação é um processo multifásico complexo, que inclui o desenvolvimento estrutural da glândula mamária, o início da secreção de leite até o parto e a manutenção da produção no pós-parto. Ela é influenciada por um número de fatores endócrinos, da pituitária, ovário, adrenal e tireóide. O ato de sugar resulta na liberação reflexa de oxitocina da pituitária posterior e prolactina da pituitária anterior. A oxitocina é responsável pela contração de células mioepiteliais ao redor dos alvéolos, resultando na ejeção de leite da glândula mamária, e a prolactina promove a síntese do leite.

É como disse Short⁽³⁷⁾ “a oxitocina serve a refeição de hoje e a prolactina prepara a de amanhã”.

Abel,⁽³⁸⁾ observou que animais lactentes, cujas mães bebiam etanol, apresentavam níveis de crescimento significativamente menores que os de controle, e que sob tais condições, a tolerância ao etanol no período da lactação também pode ocorrer.

Redução no ganho de peso também foi observada em ratos após desmame injetados com dose intoxicantes de etanol consumida voluntariamente não afetava o crescimento.⁽³⁹⁾

De modo similar, enquanto injeções de etanol na camundonga lactante retardava a nível de crescimento dos seus filhotes, o consumo do etanol via bebedouro pela camundonga lactante no período de 7 a 14 dias do parto não influenciava a nível de crescimento dos filhotes.

Quando altas concentrações de etanol são administradas, quer como parte de dieta líquida⁽¹¹⁾ ou na água de beber,⁽²¹⁾ há uma redução marcante no consumo de alimento.

Ocorre então mal nutrição nas mães prenhas ou lactantes. Detering *et al.*⁽¹⁰⁾ administrando em ratos uma dieta líquida contendo 35% das calorias na forma de etanol ou líquida de etanol ou dieta líquida isoenergética (maltose-dextrina), verificaram que a administração etanol em ratas prenhas ou lactantes implicava em crescimento físico diminuído, inclusive do sistema nervoso central, dos seu filhotes, maior do que aquelas alterações ocasionadas pela privação nutricional.

A ingestão continuada de etanol durante a lactação altera a composição química do leite^(40,41) resultando no aparecimento do etanol e acetaldeído no leite⁽⁴⁰⁾ e exacerba os efeitos do etanol no neonato.⁽⁴²⁾

Jones e Stewart⁽⁴³⁾ observaram glândulas mamárias menos pesadas, como também com alterações histológicas na gordura e células epiteliais o tecido mamário, em ratas que receberam etanol na água de beber. Tais alterações podem contribuir para os defeitos funcionais observados na glândula mamária dos ratos tratados com etanol.

Steven *et al.*⁽⁴⁴⁾ observaram que no dia 2 da lactação do rato, o etanol provocou uma diminuição significativa na percentagem de epitélio alveolar e um aumento significativo do tecido conjuntivo total. Entretanto, lá pelo 10º dia da lactação não observaram qualquer alteração glandular.

O tratamento crônico com etanol através da lactação induz distúrbios metabólicos importantes nas mães, incluindo alterações na função da glândula

mamária que levam a uma diminuição na produção total de leite, com conteúdo aumentado de lipídios.⁽⁴⁵⁾

Tavares-do-Carmo e Nascimento-Curi⁽⁴⁶⁾ observaram conteúdo diminuído de proteína na glândula mamária e lipogênese aumentada na glândula. Esta atividade lipogênica aumentada mantém o conteúdo de triglicérides na glândula mamária do rato tratado com etanol durante a lactação.⁽⁴⁷⁾

Os efeitos adversos do álcool na glândula mamária de animais também foram observados por Vilaro *et al.*,⁽⁴⁵⁾ Viñas *et al.*⁽⁴¹⁾ e Sanchis & Guerri.⁽⁴⁰⁾

Foi observado que ratas lactantes submetidas aos efeitos do álcool e separadas dos filhotes não evidenciavam diferença na prolactina basal, enquanto que naquelas ratas que os filhotes sugavam leite a prolactina estava inibida.⁽⁴⁸⁻⁵¹⁾

Trabalhos pioneiros mostraram que o álcool tem um efeito inibitório na liberação da oxitocina na coelha lactante,⁽⁵²⁾ rata lactante⁽⁵³⁾ e na mulher amamentando.⁽⁵⁴⁾

Na mulher, o álcool inibiu a ejeção de leite numa maneira dose-dependente.⁽⁵⁵⁾

Outros estudos, onde foram medidos os níveis sanguíneos de hormônios, o álcool inibiu as respostas da oxitocina⁽⁵⁶⁾ e prolactina⁽⁵⁷⁾ após estimulação do peito.

Subramanian⁽⁵⁸⁾ observou que a administração de álcool nos estágios da lactação precoce (durante 4 dias : de 5° a 8°) ou medianamente (dias 9 a 12) inibia a liberação de prolactina (induzida por sucção e o consumo de leite pelos filhotes).

Heil *et al.*⁽⁵⁹⁾ observaram no trato que o etanol reduziu o peso materno, porém não o do filhote. O nível de ferro sérico estava aumentado, como também o do colesterol sérico e o da fosfatidilserina.

Tavares-do-Carmo *et al.*⁽⁴⁷⁾ observaram que a ingestão materna de álcool diminuiu a produção de leite, ocasionando má nutrição severa no filhote de rato.

Esta é compensada parcialmente pelo conteúdo aumentado de lipídios no leite, que leva a adaptações metabólicas a fim de prevenir hipoglicemia severa e manter níveis mínimos de glicogênio hepático. Entretanto, estas adaptações não são suficientes para proteger o desenvolvimento normal do cérebro, o qual está diminuído nestes animais.

Little *et al.*⁽⁶⁰⁾ demonstraram que em humanos o etanol ingerido através do leite materno, apresenta efeito leve porém significativo no desenvolvimento motor (mas não mental) em crianças lactantes. Entretanto, é tradição recomendar às lactantes pequenas doses de álcool como um fator auxiliar para a lactação, já que o mesmo promove calorias e fluídos adicionais⁽⁶¹⁾ e facilita o reflexo de ejeção.⁽⁶²⁾

Estes dados sugerem que o consumo seguro de álcool, particularmente no que se refere à presença ou ausência de efeitos prejudiciais à lactação, pode depender da dose consumida. Entretanto, foi mostrada que a ingestão baixa de etanol (5%), pela rata lactante, diminui a concentração de retinol no leite e reduz a ingestão de alimento.⁽⁶³⁾

A adição de etanol na água de beber na proporção de 10% ou 20% induziu alterações no metabolismo materno e filhotes com crescimento

diminuído. Entretanto, quando a dose foi pequena (5%) não houve alteração no crescimento dos filhotes, mesmo que ela ocasione alterações no metabolismo da rata lactante.^(64,65)

Heil e Subramanian⁽⁶⁶⁾ observaram que os filhotes de rato apresentaram crescimento retardado, e que tal fato sugere que é a inibição da oxitocina, em lugar da prolactina induzida pela sucção, a responsável principal do retardo de crescimento durante a lactação.

Oyama *et al.*^(64,65) observaram que a ingestão materna de álcool afeta o desenvolvimento dos filhotes e é dose-dependente.

Ingestão alta de álcool na água de beber (10% e 20%) causa diminuição no peso corporal e do fígado e altera também o metabolismo da glicose cerebral. Embora a ingestão baixa de álcool (5%) não altere o peso corporal dos filhotes e os pesos do cérebro e fígado, ele afeta o metabolismo da glicose cerebral.

Estudando histometricamente o osso alveolar de ratos submetidos aos efeitos do etanol, durante a lactação; Curi *et al.*⁽⁶⁷⁾ observaram crescimento pós-natal retardado com ossos alveolares constituídos de trabéculas delicadas e pouco calcificadas, além de medula mais abundante. Os osteoblastos e osteócitos estavam mais achatados, com volumes citoplasmático e celular menores e em maior número por mm³.

Tendo-se em vista que a lactação, durante a qual a maioria dos órgãos ainda está em desenvolvimento,⁽⁶⁸⁾ é um período importante e vulnerável, e que a exposição materna ao álcool pode ocasionar ainda efeitos adversos no desenvolvimento dos filhotes, são objetivos deste trabalho:

1.1. Objetivos

O objetivo do presente trabalho é estudar histopatologicamente o periodonto de proteção e ligamento periodontal de ratos submetidos aos efeitos do etanol, durante a lactação. Além disso, avaliar histometricamente (cariometria e estereologia) estas estruturas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

Foram utilizadas ratas albinas, variedade Wistar, pesando em média 200 gramas, juntamente com 8 filhotes escolhidos ao acaso de ninhadas com 12-14 filhotes, as quais foram colocadas em gaiolas individuais e receberão alimento sólido e líquido "*ad libitum*".

2.2. Tratamento

As ratas foram divididas em 2 grupos:

- **Grupo I:** 5 ratas com 8 filhotes receberam etanol a 20% na água do bebedouro, durante toda a lactação (21 dias).
- **Grupo II:** 5 ratas com 8 filhotes receberam somente água no bebedouro, durante toda a lactação e serviram de controles.

Para a análise histométrica foram separados aleatoriamente 5 filhotes controle e 5 filhotes tratados com etanol.

As ratas de ambos os grupos receberam ração comercial, etanol ou água "*ad libitum*".

2.3. Técnica de Dissecção e Técnica Histológica

No 21º dia da lactação os filhotes foram sacrificados por sobredosagem anestésica (injeção de Hypnol a 3%). As cabeças dos filhotes foram separadas dos corpos e, imediatamente, imersas em solução fixadora de álcool a 80% - 85 ml, formalina -10ml e ácido acético-5ml, onde permaneceram a fixar durante 24 horas à temperatura ambiente.

Seqüencialmente, o material calcificado foi imerso em solução de citrato de sódio 20% e ácido fórmico 30%, em partes iguais para descalcificação.

Após fixação, descalcificação e desidratação, as cabeças foram desarticuladas e seccionadas no plano frontal, ao nível dos primeiros molares e incluídas em parafina.

Foram obtidos cortes seriados com 6 micrômetros de espessura, os quais foram corados com hematoxilina e eosina.

2.4. Cariometria

Para o estudo morfométrico (análise dos núcleos das células, dos tecidos e órgãos estudados), os cortes obtidos dos 5 fetos de cada grupo experimental foram analisados ao microscópio óptico Jenamed, com objetiva de imersão (100 X), munido de câmara clara Jena.

Para obtenção dos diâmetros maior e menor dos núcleos das células dos tecidos e órgãos do rato, durante a lactação, foram realizados desenhos sobre papel, com aumento final de 1000X. As imagens nucleares obtidas foram

contornadas com lápis preto nº 2, tomando-se o cuidado de considerar somente as imagens elípticas. Em seguida, com auxílio de papel milimetrado, foram medidos os eixos maior e menor dessas imagens.

Foram estimados os seguintes parâmetros cariométricos:⁽⁶⁹⁾

- a. Diâmetro geométrico médio: $M = \sqrt{D \cdot d}$
- b. Relação entre os diâmetros maior e menor: $\frac{D}{d}$
- c. Perímetro: $P = \left(\frac{\pi}{2}\right) \cdot \left[\frac{3}{2} \cdot (D + d) - M\right]$
- d. Área: $A = \frac{\pi}{4} \cdot M^2$
- e. Volume: $V = \frac{\pi}{6} \cdot M^3$
- f. Relação entre o volume e a área: $\frac{V}{A}$
- g. Coeficiente de forma: $F = 4 \cdot \pi \cdot \frac{A}{P^2}$
- h. Índice de contorno: $I = \frac{P}{\sqrt{A}}$
- i. Excentricidade: $E = \frac{\sqrt{(D + d) \cdot (D - d)}}{D}$

2.5. Técnica Estereológica

Neste trabalho, foi utilizada uma grade idealizada por Merz em 1968 impressa sobre papel, onde foram desenhadas as estruturas em estudo.

Esta grade consiste de um quadrado de $14400 \mu\text{m}^2$, que limita a área teste, contendo um sistema de 100 pontos marcados sobre 10 linhas sinuosas, formadas por uma sucessão de semicírculos encadeados, conforme a figura 1. Cada distância entre dois pontos mediu $12,40 \mu\text{m}$ e o comprimento do semicírculo, $18,79 \mu\text{m}$ para os desenhos com aumento de 1000X.

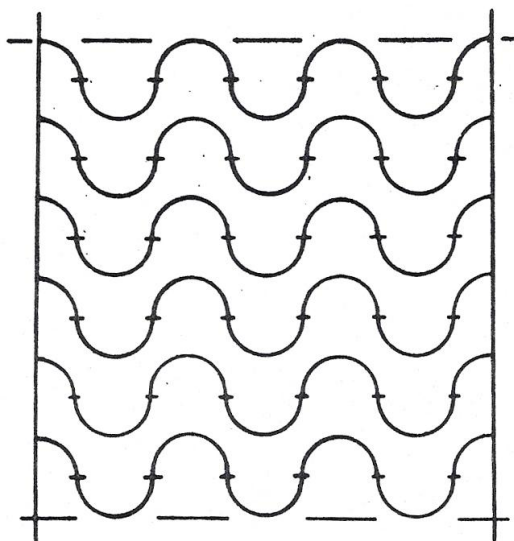


Figura 1. Representação gráfica da grade idealizada por Merz⁽⁷⁰⁾

A grade de Merz pode ser usada tanto para contar pontos sobre uma determinada estrutura histológica, como para contar intersecções entre duas estruturas contíguas, para isso, basta considerar o número de pontos que caem sobre a estrutura em estudo, no primeiro caso, ou o número de vezes em que as superfícies vizinhas cortam a linha curva, no segundo caso.

Com a finalidade de se obter a relação núcleo-citoplasma, a densidade numérica nuclear, a relação camada externa/camada basal, os volumes citoplasmático e celular, a espessura e a densidade de superfície do epitélio e os volumes relativos; foram utilizados ora a contagem de pontos (dois mil por animal, correspondentes ao produto de vinte campos microscópicos por cem pontos da grade), ora o número de intersecções conforme as exigências da equação estereológica à relação estudada.

2.5.1. Relação Núcleo-Citoplasma (N/C)

A relação núcleo-citoplasma é dada pela relação entre os volumes relativos do núcleo e do citoplasma:

$$\frac{N}{C} = \frac{V_{vn}}{V_{vcit}}$$

Os volumes relativos são determinados pelo número de pontos que incidem sobre a estrutura considerada.⁽⁷¹⁻⁷³⁾

O valor assim obtido é uma sobrestimação do valor real devido ao chamado “efeito Holmes”,⁽⁷³⁾ que resulta do uso de cortes histológicos de espessura finita. Para se corrigir essa sobrestimação deve-se levar em consideração o tamanho da estrutura envolvida e a espessura do corte histológico. Henning⁽⁷⁴⁾ propôs a seguinte fórmula corretiva para o efeito Holmes, na qual os núcleos são encarados como se fossem esferas de diâmetro M, sendo L a espessura do corte:

$$V_{vc} = \frac{V_{vn}}{\frac{1+3L}{2M}}$$

Nesta expressão, V_{vc} é a fração volumétrica dos núcleos corrigida, V_{vn} , a fração volumétrica observada, calculada pela divisão dos números de pontos que incidem sobre os núcleos pelo número total de pontos que recaem sobre os núcleos e sobre o citoplasma. O valor do diâmetro médio (M) é o mesmo já determinado anteriormente pela cariometria.

A relação núcleo-citoplasma corrigida é então:

$$\frac{N}{C} \text{ corrigida} = \frac{V_{vc}}{1 - V_{vc}}$$

Onde $1 - V_{vc}$ é a fração volumétrica citoplasmática corrigida (V_{vcit}).

2.5.2. Volume Citoplasmático e Volume da Célula Epitelial (V_{ct} e V_{cel})

O volume citoplasmático (V_{ct}) é estimado a partir do volume nuclear e da relação núcleo-citoplasma corrigida já avaliados. Por sua vez, a soma dos volumes nuclear e citoplasmático médios forneceu o valor estimado para a célula epitelial.⁽⁷⁵⁾

O volume citoplasmático é dado pela relação:

$$V_{ct} = \frac{V_n}{nc(\text{corrigido})}$$

O volume da célula epitelial é fornecido pela equação: $V_{cel} = V_n + V_{ct}$

2.5.3. Densidade Numérica Celular (Nv)

A densidade numérica das células epiteliais que corresponde ao número de célula por mm³ de tecido, foi determinada dividindo-se o volume relativo (Vv) das células em questão, pelo volume celular médio (Vcel):⁽⁷⁵⁾

$$Nv = \frac{Vv}{Vcel} \times 10^9$$

O fator 10⁹ é usado para expressar os resultados em números por mm³, uma vez que os volumes médios das células estão expressos em μm³ (10⁹ μm³=1mm³).

2.5.4. Relação Superfície Externa/Camada Basal (V/S)

Para a determinação desta relação, conta-se o número de vezes em que ocorrerá a intersecção da linha teste com a interface que se deseja (queratina ou conjuntivo).

A relação V/S é dada pela equação:

$$\frac{V}{S} = \frac{P.I}{4.I}$$

Onde P é o número de pontos que recaem sobre o epitélio, I o número de intersecções da linha-teste com a interface considerada, e I o comprimento da linha-teste, determinada pela relação:

$$I = \frac{d.\pi}{2}$$

Onde d é a distância entre dois pontos contíguos marcados sobre a linha-teste.

O fato de o volume epitelial (V_{ep}) ser constante para cada campo, torna possível estabelecer uma relação direta entre as áreas superficiais das duas interfaces correspondentes ao mesmo volume padrão:

$$\frac{IK/V_{ep}}{I_{ct}/V_{ep}} = \frac{IK}{I_{ct}}$$

Onde IK e I_{ct} são, respectivamente, os números de intersecções da linha-teste com as interfaces epitélio-queratina e epitélio-conjuntivo.

A relação V/S foi invertida para obter a relação IK/I_{ct} ao invés de I_{ct}/IK .

2.5.5. Espessura Média do Epitélio (E)

A espessura média do epitélio é estimada, aplicando-se a fórmula de Weibel:⁽⁷³⁾

$$E = \frac{P.L}{2(IK + I_{ct})}$$

Onde P é o número de pontos que ficarão sobre o epitélio, L o comprimento da linha-teste. IK e I_{ct} são os números de intersecções da linha-teste com a interface-queratina e epitélio-conjuntivo, respectivamente.

2.5.6. Densidade de Superfície (SV)

A densidade de superfície representa a superfície de um componente tecidual por unidade de volume de tecido. Esse parâmetro foi estimado

empregando-se o método de Tomkeieff,⁽⁷⁶⁾ segundo o qual a densidade de superfície de um componente (SV) é proporcional ao número de intersecções (li) das linhas-testes com a superfície estimada e inversamente proporcional ao comprimento total das linhas-testes(Lt).

$$S_v = \frac{2li}{Lt}$$

O método acima descrito foi utilizado para estimar as densidades de superfícies no epitélio da gengiva inserida dos animais controles e tratados.

2.6. Técnica Estatística

Para o confronto estatístico dos dados obtidos foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney. Para os cálculos matemáticos envolvidos nos estudos estereológicos foram utilizados diversos programas elaborados no Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, pelos Professores Doutores Geraldo Maia Campos e Miguel Angel Sala Di Matteo, em linguagem Basic Avançado (Básica).

3. RESULTADOS

3. RESULTADOS

3.1. Morfológicos

Peso Corporal

O peso corporal dos filhotes de ratas tratadas com etanol, durante a lactação, era menor significativamente (20,20g), quando comparado aos dos filhotes de mães controles (34,86g) (Tabela1, $p < 0,01$).

Histopatologia

O rato com 21 dias de vida pós-natal já apresentava, no maxilar superior, na região do 1° molar, uma gengiva formada pelo epitélio juncional em continuidade com o epitélio do sulco gengival, que por sua vez, se prolonga no epitélio da gengiva livre. O dente molar estava quase todo erupcionado (Figura 2).

Foi possível observar o epitélio juncional em formação, além de o epitélio adamantino reduzido ser mais delgado e composto de células cuboidais (Figuras 3, 4 e 5).

A gengiva inserida mostrou-se bem constituída, com as camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea bem evidentes (Figura 4).

O ligamento periodontal mostrou na sua porção de sustentação, fibras inseridas ao osso alveolar e caminhando para o interior do periodonto. Estas fibras eram bem constituídas e seus núcleos evidentes e volumosos (Figuras 6 e 7).

Grupo Tratado

O dente molar do maxilar superior do rato tratado com etanol aos 21 dias de vida pós-natal, irrompeu parcialmente à mucosa oral. A gengiva apresentava-se em formação e o epitélio reduzido do órgão de esmalte ainda estava presente (Figuras 8, 9 e 10).

Em maior aumento, foi possível observar que o epitélio juncional estava reduzido e o epitélio adamantino presente estava em plena função e constituído de células altas em paliçada (Figura 11).

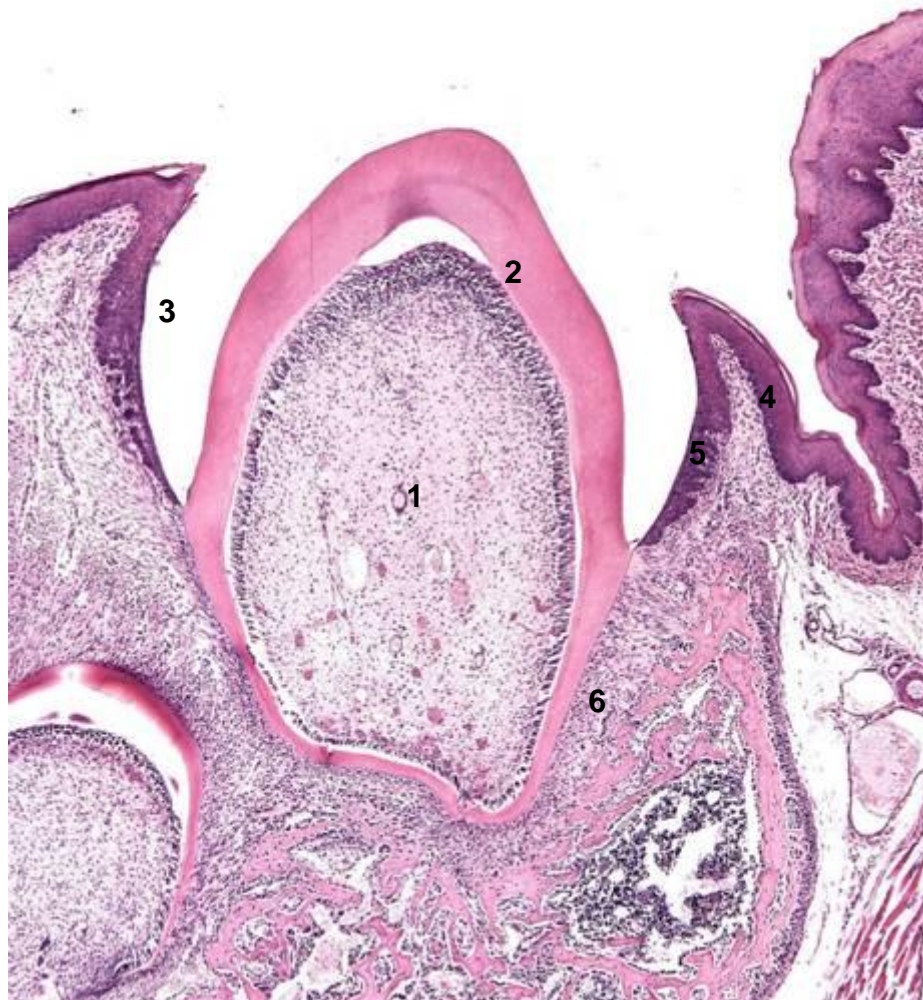
O epitélio da gengiva inserida era mais delgado e constituído de células menores (Figura 12).

No ligamento periodontal foi possível observar fibras desorganizadas, menores e com núcleos menos volumosos. (Figura 13).

Tabela 1. Médias dos pesos corporais (em gramas) dos filhotes controles e tratados pelo etanol. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

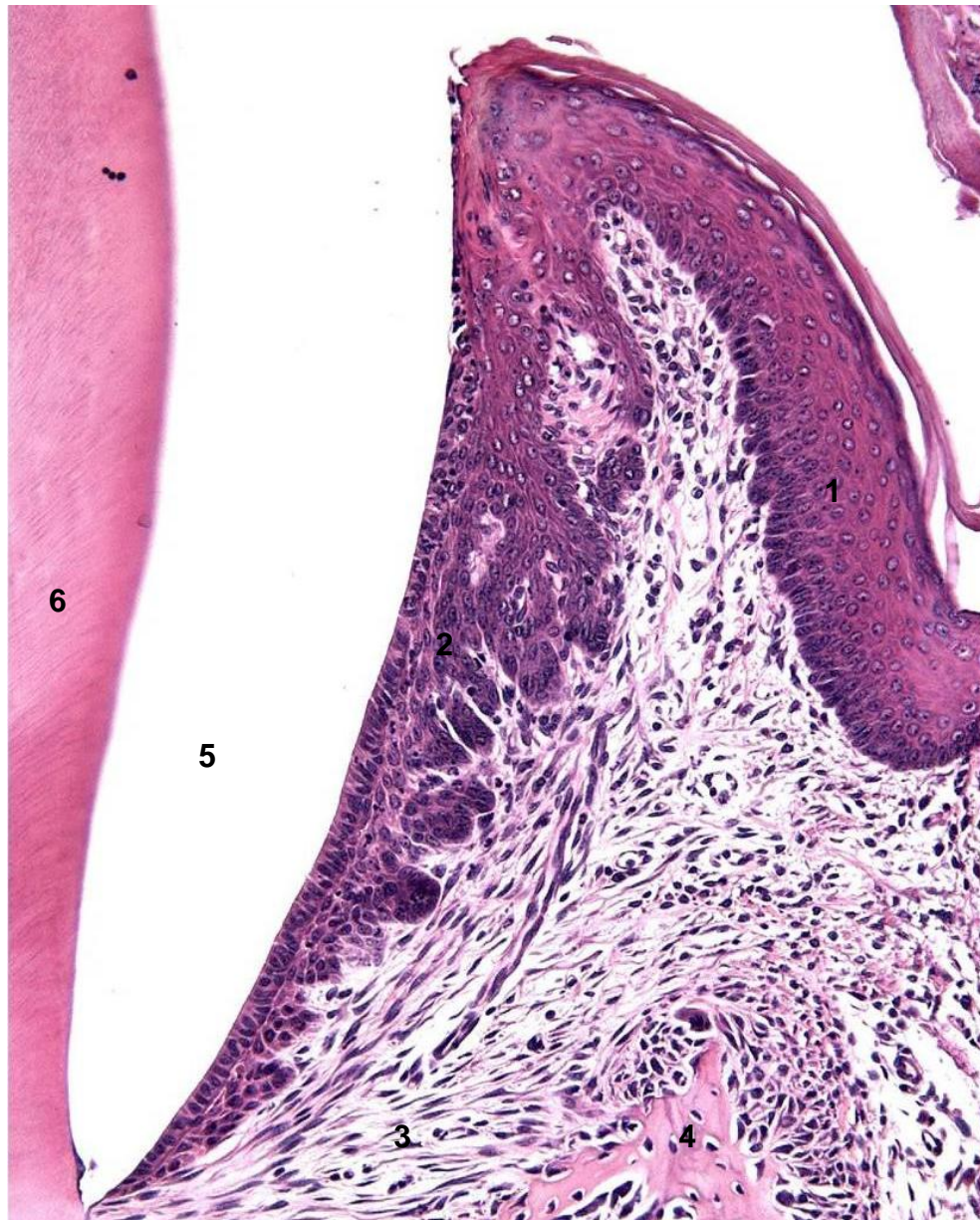
Controle	Tratado
35,50	20,40
33,70	19,80
37,80	19,60
35,10	20,20
32,20	21,00
$\bar{X} = 34,86$	$\bar{X} = 20,20$
U _{calc} = 0*	p[U]= 0,004

(*) Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$



1. Polpa com a camada odontoblástica; 2.Dentina; 3. Esmalte (espaço opticamente vazio); 4. Gengiva inserida; 5. Epitélio juncional com epitélio adamantino reduzido; 6. Ligamento periodontal; 7. Osso alveolar. HE (200 X)

Figura 2. Aspecto histológico do 1º. molar superior do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.



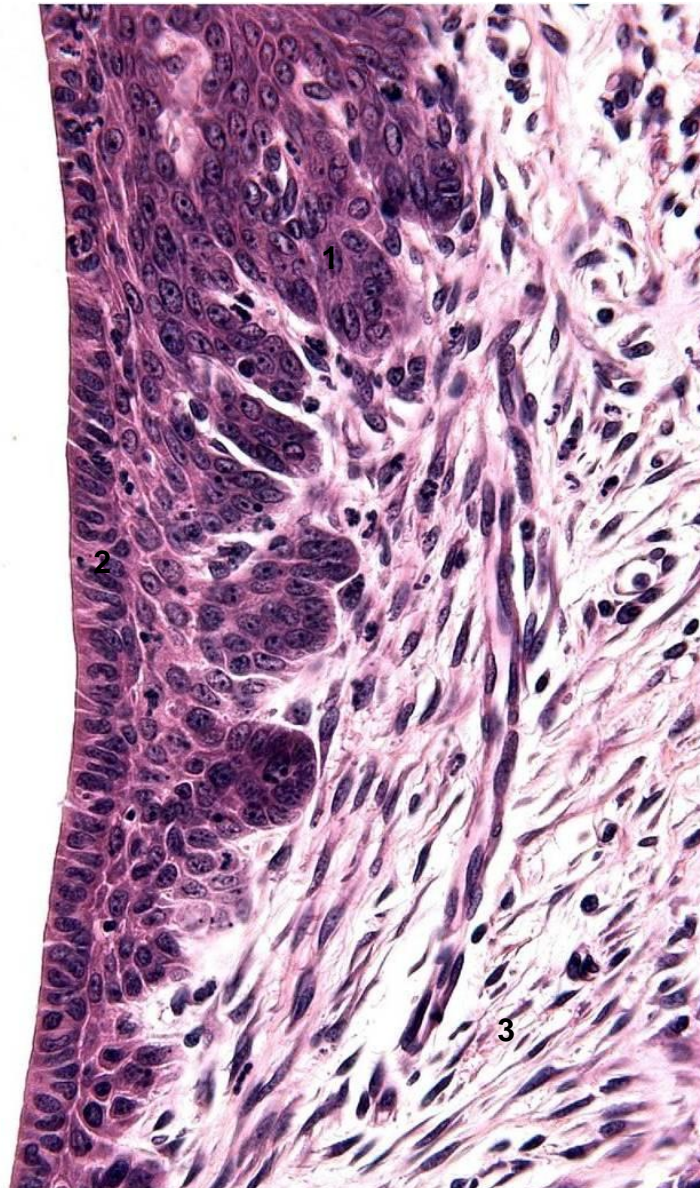
1. Gengiva inserida; 2. Epitélio juncional com epitélio adamantino reduzido; 3. Ligamento periodontal; 4. Osso alveolar; 5. Esmalte (espaço); 6. Dentina. HE (600X).

Figura 3. Aspecto histológico do 1º. molar superior do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.



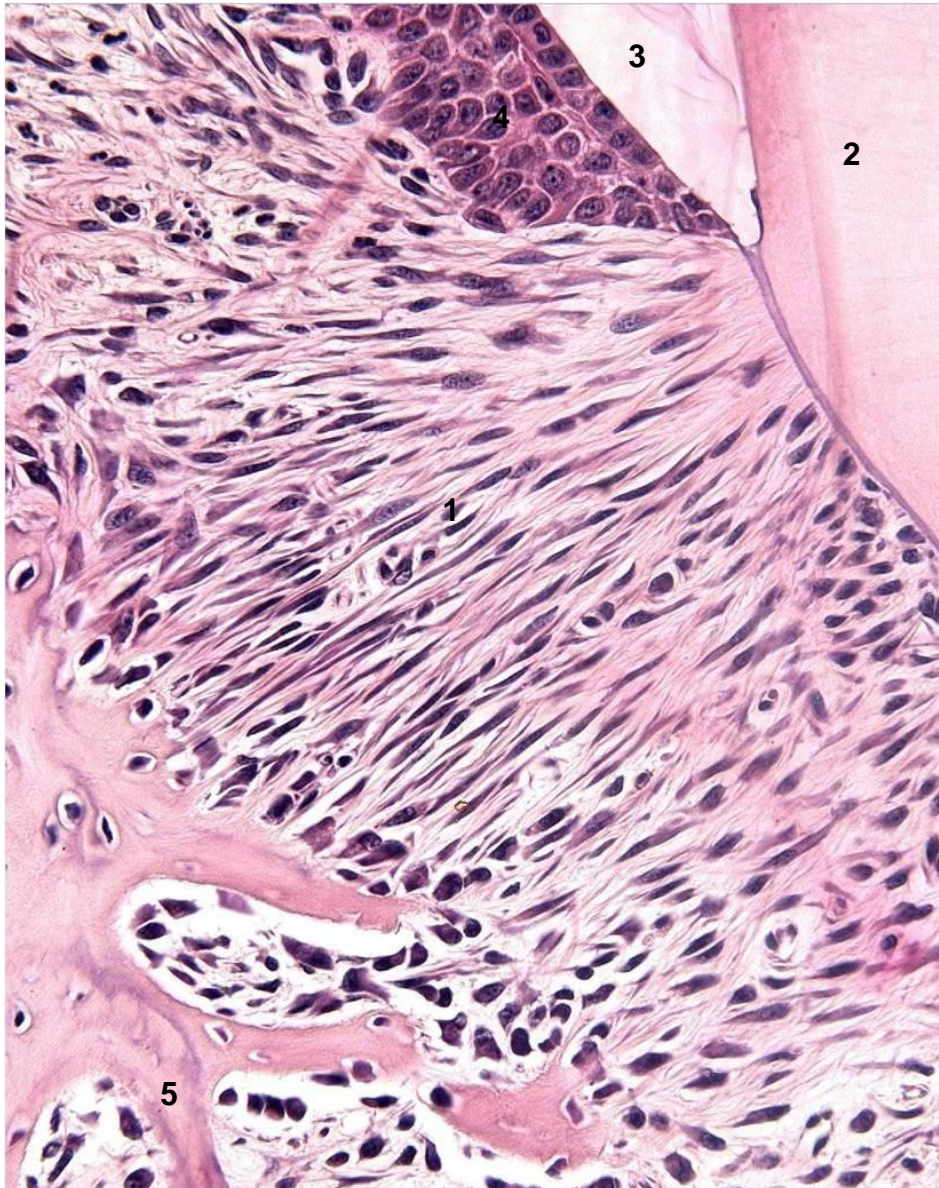
1. Epitélio da gengiva inserida; 2. Epitélio juncional; 3. Epitélio adamantino reduzido. HE (1000X).

Figura 4. Em maior aumento, notar o epitélio da gengiva inserida, além dos epitélios juncional e adamantino reduzido do rato controle.



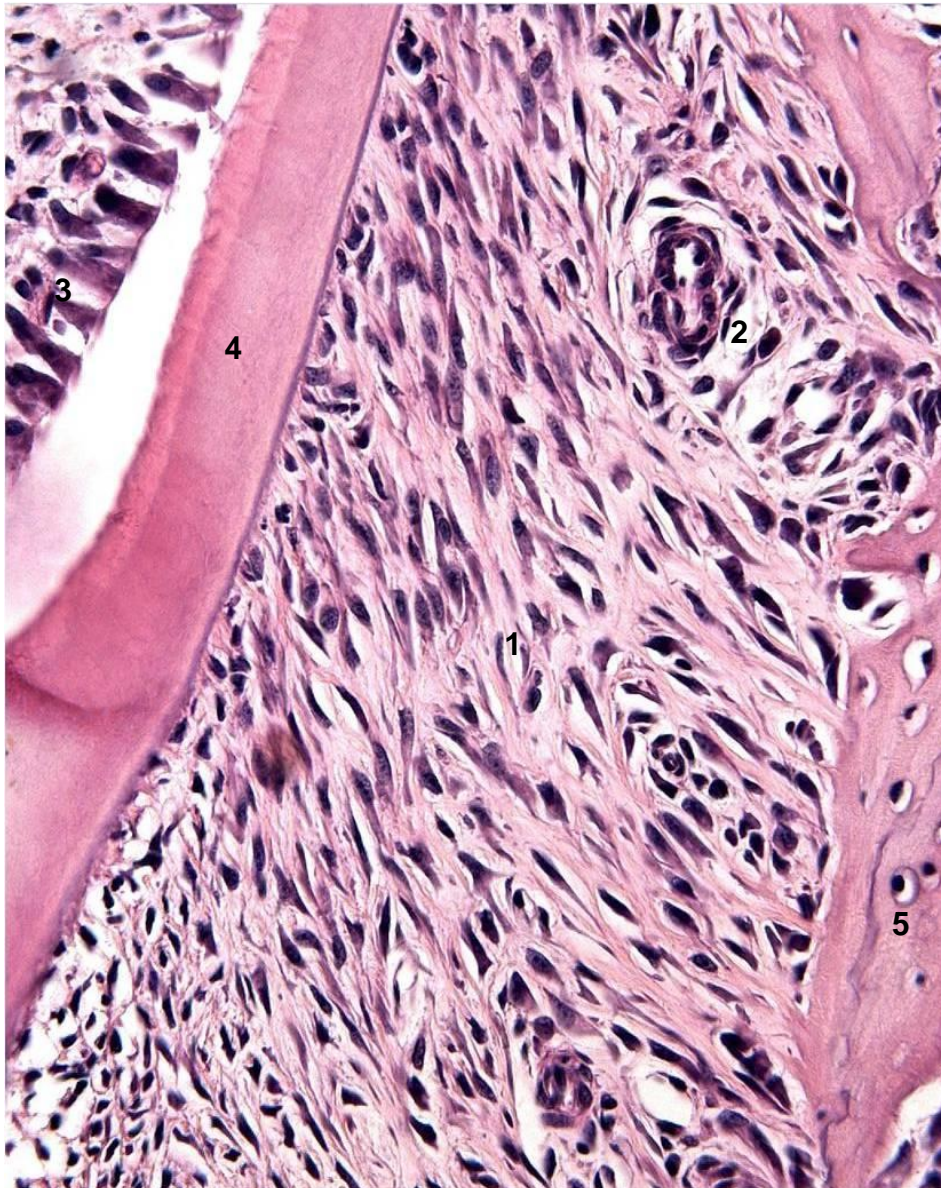
1. Epitélio funcional; 2. Epitélio adamantino reduzido; 3. Fibras periodontais da crista alveolar.

Figura 5. Em maior aumento, notar os epitélios juncional e adamantino reduzido, além das fibras periodontais da crista alveolar do rato controle com 21 dias de vida pós-natal. HE (1200X).



1. Ligamento periodontal; 2. Dentina; 3. Esmalte (espaço); 4. Epitélio juncional; 5. Osso alveolar. HE (1200X).

Figura 6. Notar o ligamento periodontal do rato controle, mostrando fibras bem organizadas.



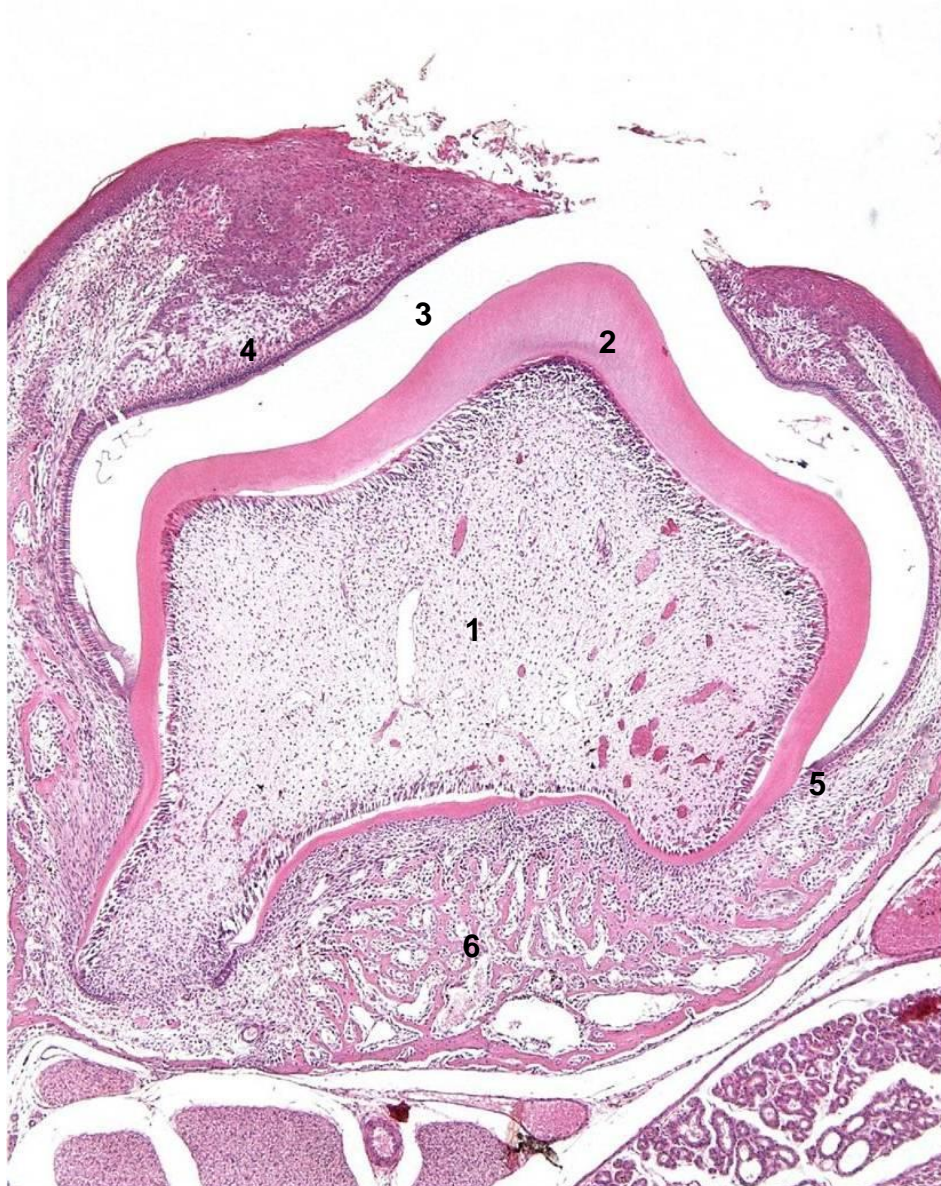
1. Fibras periodontais; 2. Tecido conjuntivo vascular; 3. Odontoblastos; 4. Dentina; 5. Osso alveolar. HE (1200X).

Figura 7. Notar as fibras periodontais bem organizadas e tecido conjuntivo vascular, além dos odontoblastos, dentina e osso alveolar do rato controle com 21 dias de vida pós-natal.



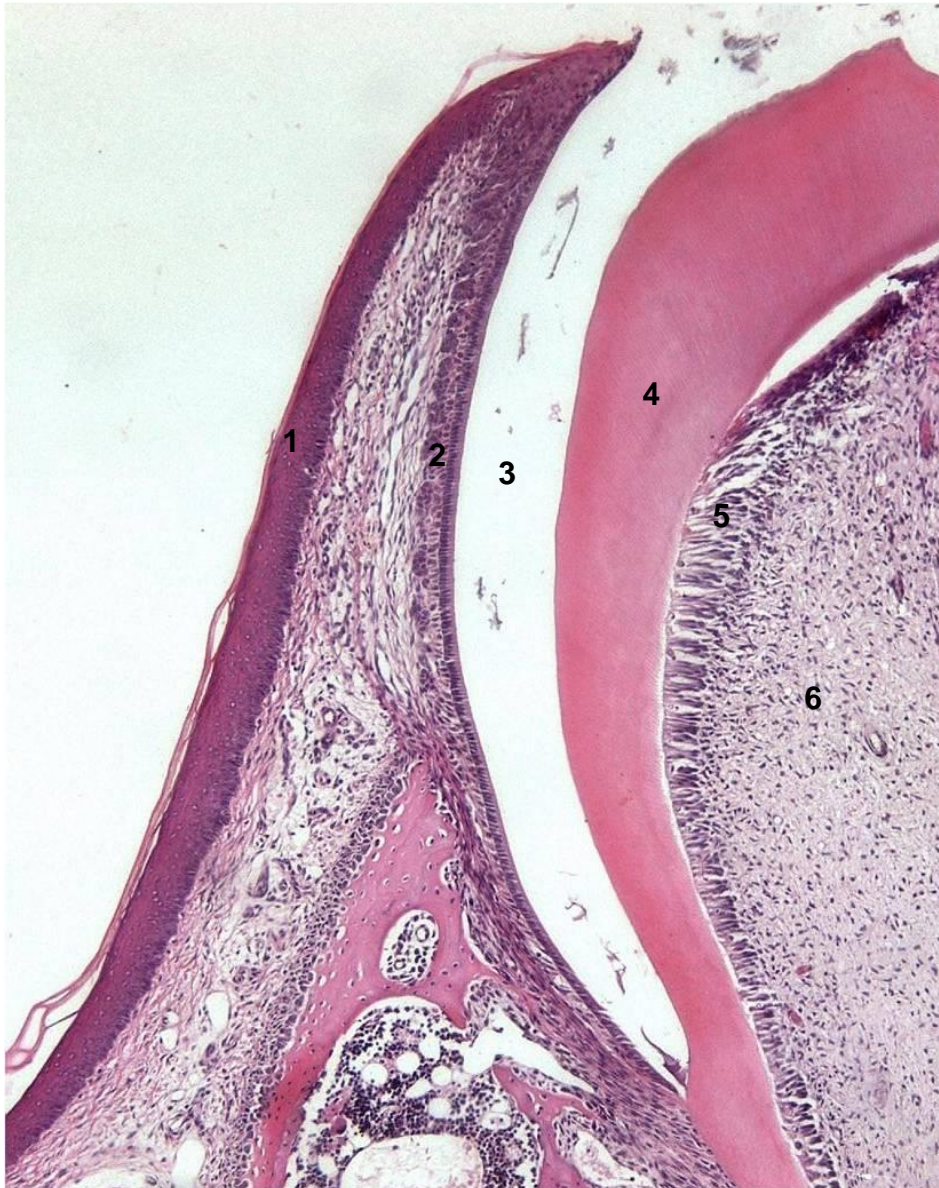
1. Polpa; 2. Dentina; 3. Esmalte (espaço opticamente vazio); 4. Epitélios juncional e adamantino reduzido; 5. Ligamento periodontal; 6. Osso alveolar. HE (150 X).

Figura 8. Aspecto histológico do 1º. molar superior do rato com 21 dias de vida pós-natal, tratado com etanol. Notar que o dente não erupcionou.



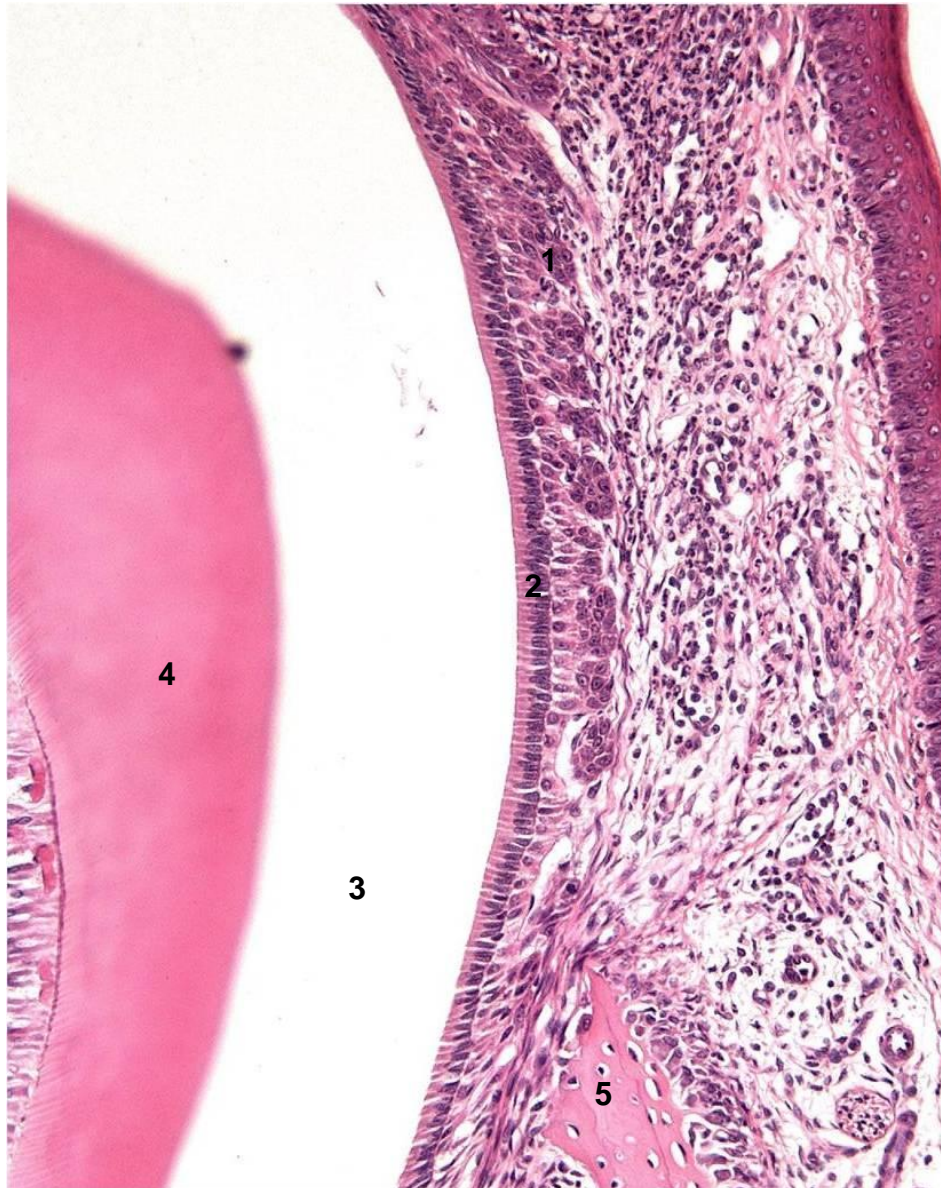
1. Polpa; 2. Dentina; 3. Esmalte (espaço); 4. Epitélio juncional; 5. Ligamento periodontal; 6. Osso alveolar. HE (200 X).

Figura 9. Notar do 1º. molar superior do rato com 21 dias de vida pós-natal, tratado com etanol durante a lactação, parcialmente erupcionado.



1. Gengiva inserida; 2. Epitélios juncional e adamantino reduzido; 3. Esmalte; 4. Dentina; 5. Odontoblastos; 6. Polpa; 7. Osso alveolar. HE (600 X).

Figura 10. Notar, no rato tratado com etanol, o epitélio da gengiva inserida mais delgado e epitélio juncional menos desenvolvido, além de epitélio adamantino reduzido mais alto e em paliçada.



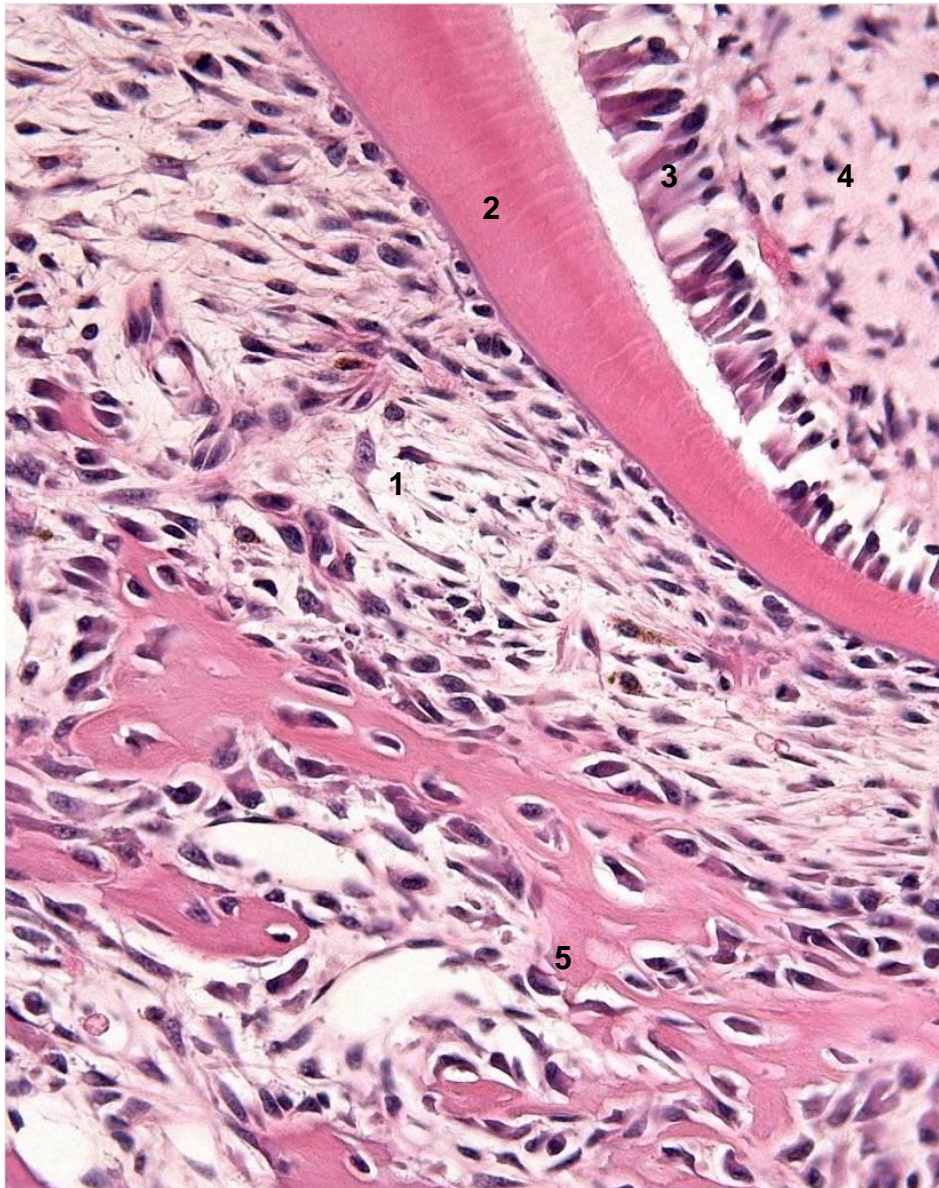
1. Epitélios juncional; 2. Epitélio adamantino reduzido; 3. Esmalte (espaço); 4. Dentina; 5. Osso alveolar. HE (600 X).

Figura 11. Notar, no rato tratado com etanol, o epitélio juncional pouco desenvolvido, além de epitélio adamantino reduzido mais alto.



1. Gengiva inserida; 2. Epitélio juncional; 3. Epitélio adamantino reduzido; 4. Esmalte (espaço). HE (1000 X).

Figura 12. Em maior aumento, notar, no rato tratado com etanol, epitélio da gengiva inserida mais delgado, epitélio juncional menos desenvolvido e epitélio adamantino reduzido mais alto e em paliçada.



1. Fibras periodontais; 2. Dentina; 3. Odontoblastos; 4. Polpa; 5. Osso alveolar.
HE (1200 X).

Figura 13. Em maior aumento, notar, no rato tratado com etanol, as fibras periodontais desorganizadas, além do espaço periodontal mais reduzido.

3.2. Resultados Morfométricos

3.2.1. Cariometria

Epitélio Juncional

Analisando-se a Tabela 2 observa-se que os valores para diâmetros maior, menor e médio dos núcleos da camada basal do epitélio juncional do rato controle são iguais a 9,38 μm , 6,92 μm , 8,02 μm respectivamente, maiores que os dos ratos tratados com etanol, que foram iguais a 6,97 μm , 5,76 μm , 6,38 μm . O confronto estatístico efetuado mostrou significância ($p < 0,01$) entre os dados dos dois grupos de animais.

A relação D/d era igual a 1,24 no rato tratado, menor quando comparada à do controle 1,38. O teste de Wilcoxon Mann-Whitney mostrou significância no confronto efetuado (Tabela 2).

Da análise da Tabela 2, foi possível verificar que os valores para volume, área, perímetro e relação V/A dos núcleos das células basais dos ratos controles foram maiores (276,32 μm^3 , 50,93 μm^2 , 25,79 μm e 5,35 , respectivamente), quando comparados aos do animal tratado com etanol: 139,43 μm^3 , 32,24 μm^2 , 20,29 μm e 4,25. O confronto estatístico mostrou significância em todos os parâmetros analisados ($p < 0,01$).

Quando se analisou a forma dos núcleos das células basais, verificou-se que os parâmetros analisados foram diferentes entre os animais dos grupos controle e tratado, isto é : 0,95 e 0,97 para o coeficiente de forma e 3,63 e 3,58

para o índice de contorno. O valor da excentricidade era maior no controle (0,62) quando comparado ao tratado (0,49) (Tabela 2 – $p < 0,01$).

Na análise da Tabela 2, pode-se observar que houve diferença estatística significativa para as comparações dos núcleos da camada espinhosa do epitélio juncional, entre os grupos controle e tratado, respectivamente para os seguintes parâmetros : diâmetro maior (8,51 μm e 6,88 μm); diâmetro menor (6,67 μm e 5,85 μm) e diâmetro médio (7,77 μm e 6,32 μm), sendo que para os 3 parâmetros as médias foram menores para o grupo tratado se comparado ao grupo controle. Ainda na Tabela 2 é possível observar que a relação diâmetro maior/diâmetro menor, para os animais do grupo controle era significativamente maior (1,39) que a dos tratados com etanol (1,19).

No rato controle foi possível observar valores maiores para volume (252,64 μm^3), área (47,85 μm^2), perímetro (24,99 μm) e relação V/A (5,18) no animal controle, quando comparados aos do tratado com etanol (137,53 μm^3 , 31,79 μm^2 , 20,04 μm e 4,21), respectivamente (Tabela 2).

Os valores para excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno eram diferentes nos dois grupos estudados (Tabela 2, $p < 0,01$).

Epitélio Adamantino

Analisando-se a tabela 3 observa-se que os valores para diâmetros menor e médio dos núcleos do epitélio adamantino do rato controle são iguais a 6,17 μm e 7,04 μm respectivamente menores que os do rato tratado com etanol, que foram iguais a 5,00 μm e 6,35 μm . O confronto estatístico efetuado mostrou significância ($p < 0,01$ e 0,05) entre os dados dos dois grupos de

animais. Os valores para diâmetro maior eram semelhantes nos grupos de animais estudados.

A relação D/d foi maior (1,66) no rato tratado quando comparada à do controle (1,34). O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney mostrou significância ($p < 0,05$) no confronto efetuado (Tabela 3).

Da análise da tabela 3, foi possível verificar que os valores para volume, área e relação V/A dos núcleos do epitélio adamantino dos ratos controles foram maiores ($188,60 \mu\text{m}^3$, $39,35 \mu\text{m}^2$ e 4,70), quando comparados aos do tratado ($108,52 \mu\text{m}^3$, $32,00 \mu\text{m}^2$ e 3,33). O confronto estatístico mostrou significância em todos os parâmetros analisados ($p < 0,01$ e 0,05). Os valores para perímetro mostraram semelhança nos animais estudados.

Quando se analisou a forma dos núcleos do epitélio adamantino, verificou-se que os parâmetros analisados mostraram diferença ($p < 0,01$ e 0,05) entre os animais dos grupos controle e tratado, isto é : 0,56 e 0,73 para a excentricidade, 0,96 e 0,75 para o coeficiente de forma e 3,62 e 4,11 para o índice de contorno (Tabela 3).

Gengiva Inserida

Na análise da Tabela 4, pode-se observar que houve diferença estatística significativa em nível de 5 % para as comparações dos núcleos das células basais do epitélio da gengiva inserida, entre os grupos controle e tratado, respectivamente para os seguintes parâmetros: diâmetro maior ($9,66 \mu\text{m}$ e $8,55 \mu\text{m}$) e diâmetro médio ($7,84 \mu\text{m}$ e $7,09 \mu\text{m}$), sendo que para os 2 parâmetros as médias foram maiores para o grupo controle se comparado ao grupo tratado.

Ainda na Tabela 4 é possível observar que a relação diâmetro maior/diâmetro menor era semelhante nos grupos de animais estudados.

Da análise da Tabela 4, foi possível verificar que os valores para volume, área, perímetro e relação V/A dos núcleos das células basais dos ratos controles foram maiores (262,22 μm^3 , 48,88 μm^2 , 25,52 μm e 5,22), respectivamente, quando comparados aos do rato tratado com etanol: 191,70 μm^3 , 39,83 μm^2 , 22,94 μm e 4,70. O confronto estatístico mostrou significância em todos os parâmetros analisados ($p < 0,05\%$).

A forma do núcleo também não foi alterada, já que os valores para excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno mostraram valores semelhantes nos dois grupos estudados (Tabela 4).

Analisando-se a tabela 4 observa-se que os valores para diâmetros maior, menor e médio dos núcleos das células espinhosas do epitélio da gengiva inserida dos ratos controle são iguais a 9,38 μm , 7,15 μm , e 8,17 μm respectivamente, maiores que os dos ratos tratados com etanol, que foram iguais a 8,42 μm , 6,34 μm e 7,28 μm .

A relação D/d foi maior (1,34) no rato tratado quando comparada à do controle (1,33). O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney não mostrou significância no confronto efetuado (Tabela 4).

Da análise da tabela 4, foi possível verificar que os valores para volume, área, perímetro e relação V/A dos núcleos das células espinhosas dos ratos controles foram maiores (293,33 μm^3 , 52,90 μm^2 , 26,13 μm e 5,22), respectivamente, quando comparadas aos do rato tratado com etanol (226,09

μm^3 , $42,00 \mu\text{m}^2$, $23,36 \mu\text{m}$ e $4,85$. O confronto estatístico mostrou significância em todos os parâmetros analisados ($p < 0,05$).

Quando se analisou a forma dos núcleos dessas células, verificou-se que os parâmetros analisados foram semelhantes entre os animais dos grupos controle e tratado, isto é: $0,62$ e $0,57$ para excentricidade, $0,97$ e $0,95$ para o coeficiente de forma e $3,63$ e $3,62$ para o índice de contorno (Tabela 4).

Fibras Periodontais

Na análise da Tabela 5, pode-se observar que houve diferença estatística significativa em nível de 1% para as comparações dos núcleos das fibras periodontais, entre os grupos controle e tratado, respectivamente para o seguinte parâmetro: diâmetro maior ($8,14 \mu\text{m}$ e $7,05 \mu\text{m}$), sendo que neste parâmetro as médias foram maiores para o grupo controle se comparado ao grupo tratado. Já as médias para diâmetros menor e médio mostraram valores semelhantes nos animais estudados.

A relação D/d foi maior ($1,61$) no rato controle quando comparada à do rato tratado ($1,34$). O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney mostrou significância ($p < 0,01$) no confronto efetuado (Tabela 5).

Da análise da Tabela 5, foi possível verificar que os valores para perímetro e relação V/A dos núcleos das fibras periodontais dos ratos controles foram diferentes ($23,22 \mu\text{m}$ e $3,42$), respectivamente, quando comparados aos do rato tratado com etanol ($19,59 \mu\text{m}$ e $4,08$). O confronto estatístico mostrou significância em todos os parâmetros analisados ($p < 0,01$). Os valores para volume e área eram semelhantes.

Quando se analisou a forma dos núcleos das fibras periodontais, verificou-se que os parâmetros analisados significativamente diferentes ($p < 0,01$) entre os animais dos grupos controle e tratado, isto é : 0,74 e 0,60 para a excentricidade, 0,77 e 0,96 para o coeficiente de forma e 4,07 e 3,61 para o índice de contorno (Tabela 5).

3.3. Estereologia

3.3.1. Epitélio Juncional

Volume Citoplasmático

Na camada basal do epitélio juncional do 1º. Molar superior, a média do volume citoplasmático das células evidenciou-se menor ($134,32 \mu\text{m}^3$) nos ratos tratados, em relação ao grupo controle ($447,58 \mu\text{m}^3$). Essa diferença foi estatisticamente significativa para $\alpha = 0,01$ (Tabela 6).

O mesmo ocorreu nas células da camada espinhosa da mesma região. Nestas, o valor médio do volume citoplasmático foi de $223,69 \mu\text{m}^3$ para o grupo tratado, e, para o grupo controle, de $516,68 \mu\text{m}^3$. O confronto estatístico mostrou significância para $\alpha = 0,01$ (Tabela 6).

Volume Celular

O volume celular, na camada basal do epitélio, mostrou-se menor ($206,90 \mu\text{m}^3$) nos animais tratados, quando comparado ao dos animais controle

(697,24 μm^3). Tal diferença foi estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$ (Tabela 6).

Nas células da camada espinhosa da mesma região, a média dos volumes celulares também se mostrou significativamente menor no grupo tratado: os volumes médios foram iguais a 761,96 μm^3 e 282,76 μm^3 , respectivamente, nos grupos controle e tratado (Tabela 6).

Relação Núcleo/Citoplasma

O valor médio da relação núcleo/citoplasma das células da camada basal foi de 0,29 no grupo controle e 0,13 no grupo (Tabela 6). O valor médio dessa relação das células da camada espinhosa, conforme expresso na Tabela 6, foi igual e 0,18 no grupo controle e 0,08 no tratado. O confronto estatístico mostrou significância nas duas camadas do epitélio.

Espessura

A espessura da camada basal do epitélio juncional não mostrou significância nos animais estudados (4,53 μm para o controle e 4,89 μm para o tratado) (Tabela 6). Entretanto, quando se examinou a camada espinhosa a espessura era menor com rato tratado (9,64 μm), quando comparado ao controle (16,25 μm), sendo estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$ (Tabela 6).

Com relação à espessura total do epitélio juncional, o valor observado para os tratados era significativamente menor (17,93 μm), quando comparado ao dos controles (24,29 μm) (Tabela 6).

Densidade Numérica

A densidade numérica celular das camadas basal e espinhosa, como também a do epitélio como um todo, mostrou-se aumentada nos ratos tratados com etanol. Tais diferenças foram estatisticamente significantes (Tabela 6).

Densidade de Superfície

O valor médio da densidade de superfície mostrou-se aumentado nos animais tratados ($66,75 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$) em comparação ao grupo controle ($49,99\text{mm}^2/\text{mm}^3$). Tal diferença foi estatisticamente significativa (Tabela 6).

3.3.2. Epitélio Adamantino Reduzido

Volume Celular e Citoplasmático

Os volumes celular e citoplasmático das células do epitélio adamantino dos animais tratados com etanol eram maiores, quando comparados ao dos controles. Essa diferença era estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$ (Tabela 7).

Relação Núcleo / Citoplasma

Esta relação mostrou ser estatisticamente diferente no confronto efetuado (Tabela 7), sendo menor no animal tratado (0,13), quando comparado à do controle (0,35).

Densidade Numérica

O número de células do epitélio adamantino foi igual $4,01 \times 10^6$ nos animais controles e $6,62 \times 10^6$ nos tratados ($p < 0,01$) (Tabela 7).

3.3.3. Epitélio da Gengiva Inserida

Volume Citoplasmático

Na camada basal do epitélio da gengiva inserida do 1° molar superior, a média do volume citoplasmático das células mostrou-se menor ($85,18 \mu\text{m}^3$) nos animais tratados, em relação ao grupo controle ($326,37 \mu\text{m}^3$). Tal diferença foi estatisticamente significativa para $\alpha = 0,05$ (Tabela 8).

O mesmo ocorreu nas células da camada espinhosa da mesma região. Nestas, o valor médio do volume citoplasmático foi de $244,62 \mu\text{m}^3$ para o grupo tratado, e, para o grupo controle, de $437,81 \mu\text{m}^3$. O confronto estatístico mostrou significância para $\alpha = 0,05$ (Tabela 8).

Volume Celular

O volume celular, na camada basal do epitélio, mostrou-se menor ($273,65 \mu\text{m}^3$) nos animais tratados, quando comparado ao dos animais controle ($588,59 \mu\text{m}^3$). Tal diferença foi estatisticamente significativa para $\alpha = 0,05$ (Tabela 8).

Nas células da camada espinhosa da mesma região, a média dos volumes celulares também se mostrou significativamente menor no grupo tratado: os valores médios foram iguais a $730,14 \mu\text{m}^3$ e $448,86 \mu\text{m}^3$, respectivamente, nos grupos controle e tratado (Tabela 8).

Relação Núcleo / Citoplasma

O valor médio da relação núcleo / citoplasma das células da camada basal foi de 0,29 no grupo controle e 0,45 no grupo tratado (Tabela 8). O valor médio da relação núcleo / citoplasma das células da camada espinhosa, expresso na Tabela 6, foi igual a 0,24 no grupo controle e 0,25 no tratado. O confronto estatístico mostrou significância ($\alpha = 0,05$) somente para a camada basal do epitélio.

Espessura

A espessura da camada basal do epitélio da gengiva inserida mostrou-se significativamente menor nos animais do grupo tratado (4,18 μm), quando comparada à do grupo controle (5,04 μm) (Tabela 8).

O mesmo pôde ser verificado com respeito à camada espinhosa. A espessura da camada espinhosa foi, nos animais do grupo tratado, de 8,03 μm e, nos do grupo controle, de 25,84 μm . Tal diferença foi estatisticamente significativa para $\alpha = 0,01$, somente para a camada espinhosa (Tabela 8).

A camada de queratina também se mostrou significativamente reduzida nos animais tratados com etanol. O valor médio encontrado para a espessura de queratina no epitélio dos animais controle foi de 8,32 μm ; nos animais tratados, o valor médio era de 4,63 μm (Tabela 8).

Com relação à espessura total do epitélio na região da gengiva inserida, o valor obtido para os filhotes intoxicados era significativamente menor (27,94 μm), quando comparado ao dos filhotes controle (52,68 μm) (Tabela 8).

Densidade Numérica

A densidade numérica celular das camadas basal e espinhosa do epitélio mostrou-se aumentada nos filhotes intoxicados pelo etanol. Tal diferença foi estatisticamente significativa para todas as camadas (Tabela 8). O mesmo foi verificado para a densidade numérica do epitélio como um todo (Tabela 8).

Densidade de Superfície

O valor médio da densidade de superfície mostrou-se aumentado nos animais tratados ($36,52 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$), em comparação ao grupo controle ($20,18\text{mm}^2/\text{mm}^3$). Tal diferença foi estatisticamente significativa (Tabela 8).

3.3.4. Periodonto de Sustentação

Relação Núcleo / Citoplasma

Esta relação mostrou ser estatisticamente diferente no confronto efetuado (Tabela 9), sendo menor no animal tratado (0,06), quando comparada à do controle (0,12).

Volumes Celular e Citoplasmático

Os volumes celular e citoplasmático das fibras periodontais dos animais tratados foram maiores respectivamente, que os dos controles e tais diferenças eram significantes para $\alpha = 0,05$ (Tabela 9).

Densidade Numérica

O número de fibras periodontais foi igual a 780950/mm³ de tecido para animais do grupo controle e 559136/mm³ para o tratado ($p < 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 2. Valores cariométricos médios das células das camadas basal e espinhosa do epitélio juncional do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T), durante a lactação. Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Camada Basal				Camada Espinhosa			
	C	T	Teste Estatístico		C	T	Teste Estatístico	
			Ucalc	p(U)			Ucalc	p(U)
Diâmetro maior (μm)	9,38	6,97	0*	0,004	8,51	6,88	0*	0,004
Diâmetro menor (μm)	6,92	5,76	0*	0,004	6,67	5,85	3**	0,028
Diâmetro médio (μm)	8,02	6,38	0*	0,004	7,77	6,32	0*	0,004
Relação D/d	1,78	1,24	0*	0,004	1,39	1,19	0*	0,004
Volume (μm^3)	276,32	139,43	0*	0,004	252,64	137,53	0*	0,004
Área (μm^2)	50,93	32,24	0*	0,004	47,85	31,79	0*	0,004
Perímetro (μm)	25,79	20,29	0*	0,004	24,99	20,04	0*	0,004
Relação V/A	5,35	4,25	0*	0,004	5,18	4,21	0*	0,004
Excentricidade	0,62	0,49	0*	0,004	0,63	0,41	0*	0,004
Coeficiente de Forma	0,95	0,97	0*	0,004	0,95	0,98	0,5*	0,006
Índice de Contorno	3,63	3,58	0*	0,004	3,63	3,58	0,5*	0,006

(*)Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**)Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.

Tabela 3. Valores cariométricos médios das células do epitélio adamantino reduzido do 1º.molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Controle	Tratado	Teste Estatístico	
			Ucalc	p(U)
Diâmetro maior (μm)	8,10	8,16	12 ^{ns}	0,500
Diâmetro menor (μm)	6,17	5,00	0 [*]	0,004
Diâmetro médio (μm)	7,02	6,35	2 ^{**}	0,016
Relação D/d	1,34	1,66	2 ^{**}	0,016
Volume (μm^3)	188,60	108,52	0 [*]	0,004
Área (μm^2)	39,35	32,00	2 ^{**}	0,016
Perímetro (μm)	22,55	23,16	5 ^{ns}	0,075
Relação V/A	4,70	3,33	0 [*]	0,004
Excentricidade	0,56	0,73	4 ^{**}	0,048
Coeficiente de Forma	0,96	0,75	0 [*]	0,004
Índice de Contorno	3,62	4,11	0 [*]	0,004

(^{*})Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$; (^{**})Estatisticamente significativa para $\alpha=0,05$; (^{ns})Não significativa.

Tabela 4. Valores cariométricos médios das células das camadas basal e espinhosa do epitélio da gengiva inserida do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Camada Basal				Camada Espinhosa			
	C	T	Teste Estatístico		C	T	Teste Estatístico	
			Ucalc	p(U)			Ucalc	p(U)
Diâmetro maior (μm)	9,66	8,55	3**	0,028	9,38	8,42	3**	0,028
Diâmetro menor (μm)	6,39	5,91	5 ^{ns}	0,075	7,15	6,34	1*	0,008
Diâmetro médio (μm)	7,84	7,09	3**	0,028	8,17	7,28	2**	0,016
Relação D/d	1,53	1,46	6 ^{ns}	0,111	1,33	1,34	11 ^{ns}	0,421
Volume (μm^3)	262,22	191,70	4**	0,048	293,33	226,09	2**	0,016
Área (μm^2)	48,88	39,83	4**	0,048	52,90	42,00	2**	0,016
Perímetro (μm)	25,52	22,94	4**	0,048	26,13	23,36	2**	0,016
Relação V/A	5,22	4,70	4**	0,048	5,22	4,85	2**	0,016
Excentricidade	0,73	0,68	5 ^{ns}	0,075	0,62	0,57	12 ^{ns}	0,500
Coeficiente de Forma	0,93	0,94	6 ^{ns}	0,111	0,97	0,95	10 ^{ns}	0,345
Índice de Contorno	3,68	3,65	6 ^{ns}	0,111	3,63	3,62	9 ^{ns}	0,274

(*)Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**)Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela 5. Valores cariométricos médios das fibras do ligamento periodontal do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T).
Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Controle	Tratado	Teste Estatístico	
			Ucalc	p(U)
Diâmetro maior (μm)	8,14	7,05	0*	0,004
Diâmetro menor (μm)	5,14	5,34	8 ^{ns}	0,210
Diâmetro médio (μm)	6,44	6,12	8 ^{ns}	0,210
Relação D/d	1,61	1,34	0*	0,004
Volume (μm^3)	113,75	124,36	10 ^{ns}	0,345
Área (μm^2)	32,81	29,90	6 ^{ns}	0,111
Perímetro (μm)	23,22	19,59	0*	0,004
Relação V/A	3,42	4,08	0*	0,004
Excentricidade	0,74	0,60	0*	0,004
Coeficiente de Forma	0,74	0,96	0*	0,004
Índice de Contorno	4,07	3,61	0*	0,004

(*)Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$; (^{ns})Não significativa.

Tabela 6. Valores estereológicos médios das células das camadas basal e espinhosa e do epitélio juncional total do 1º.molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Controle	Tratado	Teste Estatístico	
			U _{calc}	p(U)
Camada Basal				
Volume citoplasmático (μm^3)	447,58	134,32	0*	0,004
Volume celular (μm^3)	697,24	206,90	0*	0,004
Relação N/C	0,29	0,13	0*	0,004
Espessura (μm)	4,53	4,89	7 ^{ns}	0,155
Densidade numérica ($\text{n}^0 / \text{mm}^3 \times 10^6$)	2,12	5,53	0*	0,004
Camada Espinhosa				
Volume citoplasmático (μm^3)	516,68	223,69	0*	0,004
Volume celular (μm^3)	761,96	282,76	0*	0,004
Relação N/C	0,18	0,08	0*	0,004
Espessura (μm)	16,25	9,64	1*	0,008
Densidade numérica ($\text{n}^0 / \text{mm}^3 \times 10^6$)	1,34	3,83	0*	0,004
Epitélio Total				
Densidade de superfície ($\text{mm}^2 / \text{mm}^3$)	49,99	66,75	0*	0,004
Espessura total (μm)	24,29	17,93	0*	0,004
Relação superfície interna / Camada basal	0,89	0,91	11 ^{ns}	0,421
Densidade numérica ($\text{n}^0 / \text{mm}^3 \times 10^6$)	1,74	4,34	0*	0,004

(*)Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$; (^{ns})Não significativa.

Tabela 7. Valores estereológicos médios das células do epitélio adamantino reduzido do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Controle	Tratado	Teste Estatístico	
			U _{calc}	p(U)
Volume citoplasmático (μm^3)	305,09	121,06	0*	0,004
Volume celular (μm^3)	489,40	174,72	0*	0,004
Relação N/C	0,35	0,13	0*	0,004
Espessura (μm)	5,27	7,34	0*	0,004
Densidade numérica ($\text{n}^\circ / \text{mm}^3 \times 10^6$)	4,01	6,62	0*	0,004

(*)Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$.

Tabela 8. Valores estereológicos médios das células das camadas basal e espinhosa e do epitélio total da gengiva inserida do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Controle	Tratado	Teste Estatístico	
			U _{calc}	p(U)
Camada Basal				
Volume citoplasmático (μm^3)	326,37	85,18	2 ^{**}	0,016
Volume celular (μm^3)	588,59	273,65	3 ^{**}	0,028
Relação N/C	0,29	0,45	2 ^{**}	0,016
Espessura (μm)	5,04	4,18	7 ^{ns}	0,155
Densidade numérica ($\text{n}^0 / \text{mm}^3 \times 10^6$)	2,06	3,82	3 ^{**}	0,028
Camada Espinhosa				
Volume citoplasmático (μm^3)	437,81	244,62	4 ^{**}	0,048
Volume celular (μm^3)	730,14	448,86	3 ^{**}	0,028
Relação N/C	0,24	0,25	8 ^{ns}	0,210
Espessura (μm)	25,84	8,03	0 [*]	0,004
Densidade numérica ($\text{n}^0 / \text{mm}^3 \times 10^6$)	1,47	2,28	3 ^{**}	0,028
Epitélio Total				
Densidade de superfície ($\text{mm}^2 / \text{mm}^3$)	20,18	36,52	0 [*]	0,004
Espessura total (μm)	52,68	27,94	0 [*]	0,004
Espessura de ceratina (μm)	8,32	4,63	0 [*]	0,004
Relação superfície externa / camada basal	0,8406	0,9522	9 ^{ns}	0,274
Densidade numérica ($\text{n}^0 / \text{mm}^3 \times 10^6$)	1,11	2,19	4 ^{**}	0,048

(^{*})Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (^{**})Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns})Não significante.

Tabela 9. Valores estereológicos médios das fibras do ligamento periodontal do 1º. molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T).
Teste de Wilcoxon – Mann-Whitney.

Parâmetros	Controle	Tratado	Teste Estatístico	
			Ucalc	p(U)
Volume citoplasmático (μm^3)	1198,73	1674,84	3**	0,028
Volume celular (μm^3)	1312,48	1799,20	3**	0,028
Relação N/C	0,12	0,06	0*	0,004
Densidade numérica ($\text{n}^\circ / \text{mm}^3 \times 10^6$)	780950	559136	3**	0,028

(*)Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**)Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.

4. DISCUSSÃO

4. DISCUSSÃO

É conhecido o fato da lactação ser um processo multifásico complexo, que inclui o desenvolvimento estrutural da glândula mamária, o início da secreção de leite até o parto e a manutenção da produção no pós-parto, sendo influenciada por um número de fatores endócrinos da pituitária, ovário, adrenal e tireóide.

Sabe-se que a lactação, durante a qual a maioria dos órgãos está em desenvolvimento,⁽⁶⁸⁾ é um período importante e vulnerável e que a exposição materna ao etanol pode ocasionar ainda efeitos adversos no desenvolvimento dos filhotes. Este é o primeiro estudo que descreve alterações no periodonto de proteção e ligamento periodontal do rato sob efeito do etanol durante a lactação.

O epitélio juncional do 1º molar superior do rato tratado com etanol durante a lactação, é do tipo pavimentoso estratificado, onde se reconhecem as camadas basal e espinhosa. Na porção mais externa é visível o epitélio adamantino reduzido, do tipo cuboidal (no 21º dia de vida pós-natal).

O epitélio juncional é bem delgado, muito embora as células do epitélio adamantino sejam mais altas que as do controle. A camada basal estava constituída de células mais baixas e seus núcleos eram menos volumosos. Estereologicamente foi possível observar células menos volumosas com citoplasma mais escasso, que lhe conferiu uma espessura mais delgada; tais fatos recebem apoio no número de células por mm^3 , o qual foi significativamente maior em relação ao controle. Os núcleos também

mostraram valores diminuídos, avaliadas pela cariometria, para os diâmetros maior, menor e médio, volume, área e perímetro; os valores observados para os parâmetros de forma (menor para a excentricidade e índice de contorno e mais para o coeficiente de forma núcleos mais achatados).

A camada espinhosa do epitélio juncional do 1º molar superior do rato tratado, também estava constituída de células mais baixas, como também seus núcleos eram menos volumosos. Estereologicamente, esta camada comportou-se de modo similar à basal. Os núcleos, após avaliação cariométrica mostraram valores diminuídos para diâmetro maior, menor e médio, volume, área e perímetro e relação volume/área; os valores diminuídos nos dois grupos de animais para excentricidade, e índice de contorno, além de coeficiente de forma maior núcleos mais achatados.

O quadro observado nas duas camadas celulares pode ser descrito como o de uma hipotrofia, já que as camadas não se diferenciaram a contento.

O epitélio adamantino reduzido do rato tratado com etanol durante a lactação mostrou-se mais alto, uma vez que as células eram colunares altas, porém menos volumosas e com citoplasma diminuído. Os núcleos eram de menor tamanho e mostraram valores para diâmetros menor e médio, volume, área, perímetro e relação volume/área. Os valores significativamente diferentes para os parâmetros, excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno indicaram núcleos mais alongados. O epitélio adamantino do rato controle era constituído de células cuboidais, de tamanho maior com mais citoplasma e núcleo volumoso.

O epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior é do tipo pavimentoso estratificado e no rato tratado apresentou-se menos espessado. As camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea eram mais delgadas, constituídas de células mais numerosas por mm³ e de menor tamanho, observadas após a estereologia, pela qual foi possível estimar a espessura total do epitélio diminuída, associada à densidade de superfície aumentada, como também os volumes citoplasmático e celular significativamente reduzidos, fato este confirmado pelo maior número de células por mm³. Os núcleos revelaram-se menores junto à camada basal, confirmados pelos valores diminuídos, obtidos cariometricamente, para diâmetros maior, volume, área, perímetro e relação volume/área. Não houve modificação na forma do núcleo, já que a excentricidade, o índice de contorno e o coeficiente de forma eram semelhantes. Os núcleos junto à camada espinhosa eram menores e confirmados por valores diminuídos para diâmetro maior, menor e médio, volume, área, perímetro e relação volume/área. Dos parâmetros relacionados com a forma do núcleo, nenhum mostrou significância no confronto efetuado.

O ligamento periodontal do 1º molar superior do rato intoxicado pelo etanol durante a lactação apresentou-se desorganizado com fibras de menor tamanho, observadas após estereologia, com volumes citoplasmáticos e celular aumentados além de densidade numérica diminuída. Os núcleos das fibras eram menores, confirmados pelos valores reduzidos para diâmetro maior, relação diâmetros maior/diâmetro menor, perímetro e relação volume/área. Os resultados dos parâmetros para a forma do núcleo mostraram valores estatisticamente diferentes, indicando núcleos mais arredondados.

Em resumo, tais modificações nos epitélios estudados traduzem um quadro de hipotrofia celular.

Uma explicação razoável para os fatos observados neste trabalho poderia basear-se em dois mecanismos de ação do etanol: uma ação direta nos tecidos e uma ação indireta pela mal nutrição que ocorre nestes casos.

Do ponto de vista da ação direta, muitos estudos mostraram que o etanol ou seu metabólito acetaldeído, altera a síntese, inibindo seu transporte e secreção pelo fígado.^(77,78) Outros estudos indicaram que estes compostos ativam a nível dos microtúbulos.^(79,80) Estas alterações dos microtúbulos estão associadas com o acúmulo intracelular de vesículas secretórias e com a distensão das cisternas endoplasmáticas.⁽⁸¹⁾ Embora o fígado seja o órgão principal responsável pela oxidação do etanol, muitas alterações produzidas pela ingestão do etanol foram observadas em outros tecidos, como por exemplo, o funcionamento prejudicado do sistema cardiovascular, a miopatia alcoólica, etc.⁽⁸²⁾

Sob o aspecto das alterações nutricionais, a ingestão contínua de álcool durante a lactação, altera a composição química do leite,^(40,41) resultando no aparecimento do etanol e acetaldeído no leite,⁽⁸³⁾ e exacerbando os efeitos do etanol no recém-nascido^(42,43) observaram um peso glandular diminuído, como também alterações histológicas nas células gordurosas e epiteliais do tecido mamário de ratos que receberam o etanol na água de beber. Tais alterações estruturais podem contribuir aos defeitos funcionais observados nas glândulas mamárias de animais tratados com etanol, mesmo que a dieta seja mantida com níveis adequados de proteína.

Os pesos corporais médios dos filhotes utilizados neste trabalho foram iguais a 34,86 g para os do grupo controle e 20,20g para os do grupo tratado com etanol, sendo a diferença significativa.

Já em 1974, Abel⁽³⁸⁾ observara que animais lactentes, cujas mães bebiam etanol, apresentaram níveis de crescimento significativamente menores que os do controle. No rato após desmame, o etanol provoca redução do peso corporal.⁽³⁹⁾

Injeções de etanol na camundonga lactante retardavam o nível de crescimento dos seus filhotes.⁽³⁸⁾ Por outro lado, o etanol consumido pela camundonga lactante na água do bebedouro, não influenciou o nível de crescimento dos filhotes.⁽³⁸⁾

Oyama *et al.*⁽⁶⁴⁾ observaram que a ingestão materna de etanol afetava o desenvolvimento dos filhotes e que tal fato era dose-dependente. Assim, etanol a 10% ou 20% na água do bebedouro causou diminuição no peso corporal do filhote; entretanto etanol a 5% não alterou o peso corporal.

É bem conhecido o fato de o alcoolismo durante a prenhez resultar em deficiência severa no crescimento pré-natal,^(10,84) e muitos estudos mostraram peso corporal diminuído ao nascimento de filhotes de ratas tratadas com álcool.^(85,86) Outros estudos demonstraram que o tratamento crônico com etanol, através do ciclo reprodutivo, induz distúrbios metabólicos importantes nas mães durante a amamentação, incluindo alterações na função da glândula mamária que leva a uma diminuição na produção total de leite com aumento do conteúdo de lipídios no mesmo.⁽⁴⁵⁾

Tavares-do-Carmo e Nascimento-Curi⁽⁴⁶⁾ observaram que a ingestão de etanol ocasionava uma diminuição do conteúdo de proteína do plasma e fígado dos filhotes. O conteúdo de lipídios no fígado e cérebro dos filhotes era similar ao do grupo controle. O conteúdo de proteína na glândula mamária diminuiu, porém o grau de lipogênese nesta glândula estava aumentando.

Curi *et al.*⁽⁶⁷⁾ também observaram peso do filhote de rato diminuído, quando da ingestão materna de etanol, durante a lactação, dissolvido na água do bebedouro.

5. CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Os filhotes cujas mães receberam etanol a 20% na água do bebedouro, durante toda a lactação, apresentaram as seguintes alterações:

Morfológicas

- O peso corporal médio dos filhotes intoxicados durante a lactação foi menor do que o dos seus controles.

Histopatológicas

- O dente molar do maxilar superior do rato tratado com etanol, aos 21 dias de vida pós-natal, irrompeu parcialmente à mucosa oral. A gengiva apresentou-se em formação e o epitélio reduzido do órgão do esmalte ainda estava presente.
- O epitélio juncional estava reduzido e o epitélio adamantino presente estava em plena função e constituído de células altas em paliçada.
- O epitélio da gengiva inserida era mais delgado e constituído de células menores.
- No ligamento periodontal foi possível observar fibras desorganizadas, menores e com núcleos menos volumosos.

Cariométricas

- No epitélio juncional do 1º. Molar superior a camada basal mostrou núcleos menores, com diâmetros e volumes menores (hipotrofia) e mais achatados. A camada espinhosa também apresentou núcleos menores, e com forma achatada.

- No epitélio adamantino reduzido observou-se núcleos menores, com diâmetros e volumes menores, com formas mais achatadas.
- No epitélio da gengiva inserida, tanto na camada basal como na espinhosa, os núcleos eram menores, com diâmetros e volumes menores, porém sem alteração de forma.
- Os núcleos das fibras periodontais mostraram-se muito semelhantes nos dois grupos de animais estudados.

Estereológicos

- O epitélio juncional do 1º. Molar superior do rato tratado com etanol, mostrou-se mais delgado, devido ao tamanho reduzido das camadas basal e espinhosa, como também devido ao volume diminuído de suas células, embora seu número por mm^3 seja maior.
- O epitélio adamantino reduzido evidenciou no rato tratado com etanol, uma espessura maior, quando comparado ao do controle; muito embora as células sejam menos volumosas e o seu número por mm^3 seja mais elevado.
- O epitélio da gengiva inserida do 1º. Molar superior do rato tratado com etanol, mostrou-se mais delgado, principalmente à redução da camada espinhosa, como também ao volume reduzido de suas células, embora seu número por mm^3 seja maior.
- As fibras do ligamento periodontal mostraram fibras mais volumosas e em menor número por mm^3 .

Desta maneira, foi possível concluir que o etanol interfere no desenvolvimento normal do epitélio juncional, epitélio adamantino, gengiva

inserida e ligamento periodontal do rato, durante a lactação. As alterações observadas, tanto morfométricas como estereológicas, associadas à desorganização tecidual, mostram a ação destrutiva do etanol. O presente estudo não elucidou todos os aspectos referentes ao papel desempenhado pelo etanol no desenvolvimento das estruturas bucais do animal, mas abriu perspectivas para que futuros estudos possam ser realizados buscando os mecanismos através dos quais o etanol ocasiona tal toxicidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Burton R. (Printed under "Democritus Jr."): The Anatomy of Melancholy. In: Krous HF, editor. Fetal Alcohol Syndrome: A dilemma of maternal. 16 Ed. London: Willian Tegg; 1981.
2. Lemoine P, Harousseau H, Borteyru JP, Menuet JC. Les enfants de parents alcooliques: Anomalies observées à propôs de 127 cas. *Quest Med* 1968; 25:476.
3. Jones KL, Smith DW. The fetal alcohol syndrome. *Teratology* 1976; 12:1.
4. Jones KL, Smith DW, Ulleland CN, Streissguth AP. Pattern of malformations in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1973; 1:1267.
5. Clarren SK, Smith DW. The fetal alcohol syndrome. *N Eng J Med* 1978; 298:1063.
6. Hanson JW, Jones KL, Smith DW. Fetal alcohol syndrome. Experience with 41 patients. *JAMA* 1976; 235:1458.
7. Peiffer J, Majewzki F, Fishbeck H, Bierich JR, Volk B. Alcohol embryo and fetopathy. Neuropathology of 3 children and 3 fetuses. *J Neurol Sci* 1979; 41:125.

8. Goldstein G, Arulanantham K. Neural tube defect and retal abnormalities in a child with fetal alcohol syndrome. *K Pediatr* 1978; 93:636.
9. DeBeubelaer MM, Randall CL, Strand DR. Renal Abnormalities in a child with fetal alcohol syndrome. *J Pediatric* 1977; 91.
10. Detering N, Reed WD, Ozand PT, Karahasan A. The effects of maternal ethanol consumption in the rat on the development of their offspring. *J Nutr* 1979; 109(6):999-1009.
11. Shorey RL, Terranella PA, Shive W. Effects of ethanol on growth, consumption of food, and body composition of weanling rats. *J Nutr* 1977; 107(4):614-620.
12. Abel EL, Greizerstein HB. Ethanol-induced prenatal growth deficiency: changes in fetal body composition. *J Pharmacol Exp Ther* 1979; 211:668.
13. Tenbrinck WS, Buchin SY. Fetal alcohol syndrome. Report of a case. *Jama* 1975; 232:1144.
14. Kronick JB. Teratogenic effects of ethyl alcohol administered to Mice. *Am J Obstet Gynec* 1976; 124:676.
15. Chernoff GF. The fetal alcohol syndrome in mice: an animal model. *Teratology* 1977; 15:223.

16. Randall CL, Taylor WJ, Walker DW. Ethanol induced malformations in mice. *Alcoholism Clin Exp Res* 1977; 1:219.
17. Randall CL, Taylor WJ. Prenatal ethanol exposure in mice: teratogenic effects. *Teratology* 1979; 19(3):305-11.
18. Ellis FW, Pick JR. Bengel model of the fetal alcohol syndrome. *Pharmacologist* 1976; 18:190.
19. Sandor S, Elias S. The influence of aethyl-alcohol on the development of the chick embryo. *Rev Roum Embryol Cytol* 1968; 5:51.
20. Chernoff GF. The fetal alcohol syndrome in mice: maternal variables. *Teratology* 1980; 22:71.
21. Tze WJ, Lee M. Adverse effects of maternal alcohol consumption on pregnancy and fetal growth in rats. *Nature* 1975; 257:479-80.
22. Brown NA, Gouding EH, Fabro S. Ethanol embryotoxicity: direct effects on mammalian embryos in vitro. *Science* 1980; 206:573.
23. Pilstrom L, Kiessling KH. Effect of ethanol on the liver and brain mitochondrial functions of the offspring of rats. *Acta Pharm Toxicol* 1967; 25:225.

24. Henderson GT, Schenker S. The effect of maternal alcohol consumption on the viability and visceral development of the newborn rat. *Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol* 1977; 16:15.
25. Oisund JF, Fjorden AF, Morlund J. Is moderate ethanol consumption teratogenic in the rat? *Acta Pharm Toxicol* 1978; 43:145.
26. Scott WJ Jr, Fradkin R. The effect of prenatal ethanol in cynomolgus monkeys. *Teratology* 1984; 29:49.
27. Mclain DE, ROE DA. Fetal alcohol syndrome in the ferret (*Mustela putorius*). *Teratology* 1984; 30:203.
28. Schwetz BA, Smith FA, Staples RE. Teratogenic potential of ethanol in mice, rats and rabbits. *Teratology* 1978; 18(3):385-92.
29. Papara-Nicholson D, Telford IR. Effects of alcohol on reproduction and fetal development in the guinea pig. *Anat Rec* 1957; 127:438.
30. Dexter JD, Tumbleson ME, Decker JD, Middeton CC. Fetal alcohol syndrome in Sinclair (S-1) miniature swine. *Alcoholism Clin Exp Res* 1980; 4:146.
31. Sandor S, Amels D. The action of ethanol on the prae-natal development of albino rats. *Rev Roum Embryol Cytol* 1971; 8:105.

32. Rosman NP, Malone MJ. An experimental study of the fetal alcohol syndrome. *Neurology* 1976; 26:365.
33. Hollstedt C, Olsson O, Rydberg U. The effect of alcohol on the developing organism. *Medical Biology* 1977; 55:1.
34. Boggan WO, Randall CM. Renal anomalies in mice prenatally exposed to ethanol. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1979; 23:127.
35. Abel EL. Effects of ethanol on pregnant rats and their offspring. *Psychopharmacology* 1978; 57:5.
36. Hood RD, Lary JM, Blacklock JB. Lack of prenatal effects of maternal ethanol consumption in CD-1 mice. *Toxicology* 1979; 79.
37. Short RV. Breast feeding. *Sci Am* 1984; 250:35-41.
38. Abel EL. Alcohol ingestion in lacting rats: effects on mother and offspring. I *Arch Int Pharmacodyn* 1974; 210:121-7.
39. Wallgren H, Ahlqvist J, Ahman K, Suomalainen H. Repeated alcoholic intoxication compared with continued consumption of dilute ethanol in experiments with rats on a marginal diet. *Brit J Nutr* 1967; 21:643-60.

40. Sanchis R, Guerri C. Chronic ethanol intake in lactating rats: Milk analysis. *Comp Biochem Physiol* 1986; 85:107-10.
41. Viñas O, Vilaró S, Herrera E, Remesar X. Effects of chronic ethanol treatment on amino acid uptake and enzyme activities in the lactating rat mammary gland. *Life Sci* 1987; 40:1745-9.
42. Guerri C, Esquifino A, Sanchis R, Grisolia S. Growth, enzymes and hormonal changes in offspring of alcohol-fed rats, in *Mechanisms of Alcohol Damage in Utero*. Ciba Foundation Symposium 1984; 105:85-102.
43. Jones WL, Stewart DB. Effects of orally-administered ethanol on mammary gland morphology and functional efficiency in lactating rats. *Exp Pathol* 1984; 25:205-13.
44. Steven WM, Bulloch B, Seelig Jr. LL. A morphometric study of the effect of ethanol consumption on lactating mammary glands of rats. *Alc Clin Exp Res* 1989; 13(2):209-12.
45. Vilaró S, Viñas O, Remesar X, Herrera E. Effects of chronic ethanol consumption on lactational performance in rat: mammary gland and milk composition and pups growth and metabolism. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 27(2):333-9.

46. Tavares-do-Carmo MG, Nascimento-Curi CMO. Effect of ethanol intake during lactation on the metabolism of dams and on pup development. *Braz J Med Biol Res* 1990; 23:1161-3.
47. Tavares-do-Carmo MG, Oller-do-Nascimento CM, Martin A, Herrera E. Ethanol intake during lactation impairs milk production in rats and affects growth and metabolism of suckling pups. *Alcohol* 1999; 18(1):71-6.
48. Subramanian MG, Chen XG, Bergeski BA. Pattern and duration of the inhibitory effect of alcohol administered acutely on suckling-induced prolactin in lactating rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1990; 14:191-4.
49. Subramanian MG, Abel EL. Alcohol inhibits suckling- induced prolactin release and milk yield. *Alcohol* 1988; 5:95-98.
50. Subramanian MG, Savoy-Moore RT. Alcohol and endocrine function: Effects on prolactin release. In: Kochupillai N, Editor. *Adv Endocrinol Metab Diabetes* 1992; 1:191-201.
51. Subramanian MG. Effects of chronic alcohol administration on lactational performance in the rat. *Alcohol* 1995; 12:137-43.
52. Fuchs AR, Wagner G. Quantitative aspects of release of oxytocin by suckling in unanesthetized rabbits. *Acta Endocrinol* 1963; 44:593-605.

53. Fuchs AR. Ethanol and inhibition of oxytocin release in lactating rats. *Acta Endocrinol* 1969; 62:546-54.
54. Wagnes G, Fuchs AR. Effect of ethanol on uterine activity during suckling in Post-partum women. *Acta Endocrinol* 1968; 58:133-41.
55. Cobo E. Effect of different doses of ethanol on the milk-ejecting reflex in lactating Women. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 15:817-821.
56. Coiro V, Alboni A, Gramellini D, Cigarini C, Bianconi L, Pignatti D, *et al.* Inhibition by ethanol of the oxytocin Response to breast stimulation in normal women and the role of endogenous opioids. *Acta. Endocrinol* 1992; 126:213-6.
57. Volpi R, Chiodera P, Gramellini D, Cigarini C, Papadia C, Caffari G, *et al.* Endogenous opioid mediation of the inhibitor effect of ethanol on the prolactin response to breast stimulation in normal women. *Life Sci* 1994; 54:739-44.
58. Subramanian MG. Evaluation of lactational parameters after alcohol administration for four days during early or midlactation in the rat. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21(5): 799-803.
59. Heil HH, Hungund BL, Zheng ZH, Jen KLC, Subramanian MG. Ethanol and lactation: effects on milk lipids and serum constituents. *Alcohol* 1999; 18(1): 43-48.

60. Little RE, Anderson KW, Ervin CH, Worthington RB, Clarren SK. Maternal alcohol use during breast-feeding and infant mental and motor development at one year. *N Engl J Med* 1989; 321:425-430.
61. Mennella JA, Beauchamp GK. Beer, breast feeding, and folklore. *Dev Psychobiol* 1993; 26:459-466.
62. Auerbach KG, Blume S, Schreiber JR, Falkner F. Beer and the breast-feeding mom. *JAMA* 1987; 258:2126-31.
63. Albuquerque KT, Ramalho RA, Soares AG, Tavares-do-Carmo MG. Effects of ethanol intake on retinol concentration in the milk of lactating rats. *Bras J Med Biol Res* 1998; 31:929-32.
64. Oyama LM, Couto RC, Couto GEC, Dâmaso AR, Oller-do-Nascimento CM. Ethanol intake during lactation II. Effects on pups liver and brain metabolism. *Alcohol* 2000; 21:201-6.
65. Oyama LM, Couto RC, Couto GEC, Dâmaso AR, Oller-do-Nascimento CM. Ethanol intake during lactation I. Effects on dams metabolism and pups body weight gain. *Alcohol* 2000; 21:195-200.
66. Heil HH, Subramanian MG. Chronic alcohol exposure and lactation. Extended observations. *Alcohol* 2000; 21:127-32.

67. Curi V, Azoubel R, Lopes RA, Martins AT, Sala MA, Kassis EN. Histometric study of alveolar bone in rats submitted to ethanol during lactation. *Int. J. Morphol* 2008; 26(4):945-50.
68. Diaz J, Samson H. Impaired brain growth in neonatal rats exposed to ethanol. *Science* 1980; 208:751-3.
69. Sala MA, Komesu MC, Lopes RA, Maia Campos G. Karyometric study of basal cell carcinoma. *Braz Dental J* 1994; 5(1): 11-14.
70. Merz WA. Strekenmessung an gerichteten Strukturen in Mikroskop und Anwendung zur Bestimmung von Oberflächen volumen relationen im Knochengewebe. *Mikroskopie* 1968; 22(5):132-42.
71. Delesse MA. Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches. *Annales des Mines* 1848; 13:379-88.
72. Chalkley HW. Method for quantitative morphologic analysis of tissues. *J Nat Cancer Inst* 1943; 4:47-53.
73. Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Review Cytology* 1969; 26:235-302.
74. Henning A. Fehler der Oberflächenbestimmung von Kernen bei Endlicher Schnitttdick. *Mikroskopie* 1957; 12(1-2):7-11.

75. Sala MA, Lopes RA, Matheus M. Método morfológico para análisis cuantitativa de los tejidos. Determinacion de los parâmetros normalis para el hepatocito de rata. Arc Facultad Med Zaragoza 1992; 32(1):29-31.
76. Tomkeieff SI. Linear intercepts, areas and volumes. Nature 1945; 155(3923):24.
77. Lieber CS. Interactions of alcohol and nutrition introduction to a symposium. Alcohol Clin Exp Res 1983; 7(1):2-4.
78. Lieber CS. Metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. Acta Scand 1985; Suppl 703:11.
79. Matsuda Y, Baraona E, Slaspuro M, Lieber CS. Effects of ethanol on liver microtubules and Golgi apparatus. Possible role in altered hepatic secretion of plasma proteins. Lab Invest 1979; 41(5):455-63.
80. Baraona E, Finkelman F, Lieber CR. Reevaluation of the effects of alcohol consumption on rat liver microtubules. Res. Commun Chem Pharmacol 1984; 44(2):265-78.
81. Feldman G, Maurice M. Morphological findings of liver protein synthesis and secretion. In: Hopper H, Bianchi L, Reutter W, Editores. Membrane alterations as basis of liver injury. Lancaster Med Tech Publ 1977; 61-76.

82. Klatsky AL. The relations of alcohol and the cardiovascular system. *Annu Rev Nutr* 1982; 2:51-71.
83. Guerri C, Sanchis R. Alcohol and acetaldehyde in rat's milk following ethanol administration. *Life Sci* 1986; 38:1543-56.
84. Weiner SG, Shoemaker WJ, Koda LY, Bloom FE. Interaction of ethanol and nutrition during gestation: Influence on maternal and offspring development in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 216(3):572-9.
85. Testar X, Llobera M, Herrera E. Comparative metabolic effects of chronic ethanol intake and under nutrition in pregnant rat and their fetuses. *Alcoholism Clin Exp Res* 1988; 12(2): 197-200.
86. Ludeña MC, Mena MA, Salinas M, Herrera E. Effects of alcohol ingestion in the pregnant rat on daily food intake, offspring growth and metabolic parameters. *Gen. Pharmac* 1983; 14(3):327-32.

7. APÊNDICES

7. APÊNDICES

Tabela A. Valores cariométricos médios dos diâmetros maior, menor e médio (μm) e relação D/d dos núcleos das células da camada basal do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		Diâmetro Médio		Relação D/d	
C	T	C	T	C	T	C	T
9,80	6,84	7,00	5,44	8,23	6,08	1,45	1,27
9,40	7,12	7,12	5,80	8,16	6,42	1,34	1,24
8,72	7,32	6,60	5,76	7,56	6,48	1,34	1,28
9,36	7,00	6,68	5,92	7,87	6,42	1,43	1,20
9,60	7,20	7,20	5,92	8,29	6,51	1,34	1,23
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
9,38	6,97	6,92	5,76	8,02	6,38	1,38	1,24
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$.

Tabela B. Valores cariométricos médios do volume (μm^3), área (μm^2), perímetro (μm) e relação V/A dos núcleos das células da camada basal do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume		Área		Perímetro		Relação Volume/Área	
C	T	C	T	C	T	C	T
299,55	120,41	53,69	29,25	26,65	19,39	5,49	4,05
290,69	141,03	52,68	32,55	26,10	20,36	5,44	4,28
228,89	147,73	45,08	33,36	24,22	20,64	5,04	4,32
258,98	140,89	48,88	32,55	25,43	20,36	5,25	4,28
303,51	147,10	54,32	33,49	26,56	20,69	5,53	4,34
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
276,32	139,43	50,93	32,24	25,79	20,29	5,35	4,25
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		P[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$.

Tabela C. Valores cariométricos médios da excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno dos núcleos das células da camada basal do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Excentricidade		Coeficiente de Forma		Índice de Contorno	
C	T	C	T	C	T
0,63	0,49	0,94	0,97	3,66	3,60
0,62	0,54	0,96	0,98	3,61	3,58
0,58	0,56	0,96	0,97	3,61	3,59
0,64	0,39	0,95	0,98	3,65	3,58
0,64	0,48	0,96	0,98	3,61	3,59
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,62	0,49	0,95	0,97	3,63	3,58
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$.

Tabela D. Valores cariométricos médios dos diâmetros maior, menor e médio (μm) e relação D/d dos núcleos das células da camada espinhosa do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		Diâmetro Médio		Relação D/d	
C	T	C	T	C	T	C	T
9,32	6,56	7,08	5,44	8,10	5,96	1,34	1,22
8,56	7,36	6,36	6,60	7,36	6,95	1,36	1,13
8,80	7,68	6,88	6,16	7,76	6,86	1,29	1,27
9,36	6,48	6,12	5,58	7,55	5,94	1,56	1,19
9,52	6,36	6,92	5,48	8,07	5,89	1,41	1,17
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
8,51	6,88	6,67	5,85	7,77	6,32	1,39	1,19
Ucalc= 0*		Ucalc= 3**		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,028		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.

Tabela E. Valores cariométricos médios do volume (μm^3), área (μm^2), perímetro (μm) e relação V/A dos núcleos das células da camada espinhosa do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume		Área		Perímetro		Relação Volume/Área	
C	T	C	T	C	T	C	T
288,13	114,26	52,12	28,18	25,92	18,91	5,40	3,97
212,97	178,43	42,82	38,14	23,60	21,97	4,90	4,63
248,79	172,69	47,56	37,20	24,75	21,84	5,17	4,57
231,09	112,14	45,11	27,93	24,62	18,84	5,03	3,96
282,21	110,17	51,62	27,52	26,05	18,64	5,38	3,93
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
252,64	137,53	47,85	31,79	24,99	20,04	5,18	4,21
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		P[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$.

Tabela F. Valores cariométricos médios da excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno dos núcleos das células da camada espinhosa do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Excentricidade		Coeficiente de Forma		Índice de Contorno	
C	T	C	T	C	T
0,60	0,47	0,96	0,98	3,62	3,58
0,61	0,28	0,96	0,99	3,62	3,57
0,57	0,51	0,97	0,97	3,60	3,60
0,74	0,41	0,93	0,98	3,69	3,58
0,62	0,39	0,95	0,99	3,64	3,57
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,63	0,41	0,95	0,98	3,63	3,58
U _{calc} = 0*		U _{calc} = 0,5*		U _{calc} = 0,5*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,006		p[U]= 0,006	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$.

Tabela G. Valores cariométricos médios dos diâmetros maior, menor e médio(μm) e relação D/d dos núcleos das células do epitélio adamantino reduzido do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		Diâmetro Médio		Relação D/d	
C	T	C	T	C	T	C	T
8,68	7,28	6,24	4,80	7,35	5,88	1,40	1,55
8,48	7,68	6,56	5,48	7,42	6,46	1,33	1,42
8,04	7,40	5,52	5,24	6,64	6,20	1,48	1,43
7,16	9,56	5,96	4,60	6,51	6,62	1,22	2,10
8,12	8,88	6,56	4,92	7,28	6,59	1,25	1,83
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
8,10	8,16	6,17	5,00	7,04	6,35	1,34	1,66
Ucalc= 12 ^{ns}		Ucalc= 0*		Ucalc= 2**		Ucalc= 2**	
p[U]= 0,500		p[U]= 0,004		p[U]= 0,016		p[U]= 0,016	

() Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela H. Valores cariométricos médios do volume (μm^3), área (μm^2), perímetro (μm) e relação V/A dos núcleos das células do epitélio adamantino reduzido do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume		Área		Perímetro		Relação Volume/Área	
C	T	C	T	C	T	C	T
212,67	88,15	42,73	27,30	23,62	20,92	4,90	3,20
218,16	123,40	43,54	33,18	23,78	22,40	4,95	3,65
156,62	108,26	34,87	30,50	21,52	21,55	4,43	3,49
148,82	108,82	33,62	34,75	20,69	26,14	4,34	3,07
206,75	113,98	41,97	34,31	23,15	24,79	4,86	3,28
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
188,60	108,52	39,35	32,00	22,55	23,16	4,70	3,33
Ucalc= 0*		Ucalc= 2**		Ucalc= 5 ^{ns}		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,016		p[U]= 0,075		P[U]= 0,004	

() Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$; () Estatisticamente significativa para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significativa.

Tabela I. Valores cariométricos médios da excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno dos núcleos das células do epitélio adamantino reduzido do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Excentricidade		Coeficiente de Forma		Índice de Contorno	
C	T	C	T	C	T
0,67	0,71	0,95	0,79	3,63	4,01
0,53	0,64	0,96	0,83	3,62	3,91
0,69	0,65	0,94	0,83	3,66	3,92
0,41	0,87	0,98	0,64	3,59	4,46
0,62	0,82	0,98	0,70	3,59	4,25
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,56	0,73	0,96	0,75	3,62	4,11
Ucalc=4**		Ucalc= 0*		Ucalc=0*	
p[U]=0,048		p[U]=0,004		p[U]=0,004	

(^{*}) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (^{**}) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.

Tabela J. Valores cariométricos médios dos diâmetros maior, menor e médio (μm) e relação D/d dos núcleos das células da camada basal do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		Diâmetro Médio		Relação D/d	
C	T	C	T	C	T	C	T
10,16	9,32	6,92	6,16	8,36	7,54	1,48	1,54
9,08	8,96	5,80	6,24	7,25	7,47	1,57	1,44
9,08	8,12	6,20	5,32	7,48	6,56	1,49	1,54
9,12	7,92	6,20	5,68	7,49	6,70	1,50	1,40
10,88	8,44	6,84	6,16	8,60	7,18	1,61	1,40
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
9,66	8,55	6,39	5,91	7,84	7,09	1,53	1,46
Ucalc=3*		Ucalc=5 ^{ns}		Ucalc=3*		Ucalc=6 ^{ns}	
p[U]=0,028		p[U]=0,075		p[U]=0,028		p[U]=0,111	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela K. Valores cariométricos médios do volume (μm^3), área (μm^2), perímetro (μm) e relação V/A dos núcleos das células da camada basal do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume		Área		Perímetro		Relação Volume/Área	
C	T	C	T	C	T	C	T
316,28	226,99	55,54	44,83	27,10	24,63	5,58	5,03
204,70	220,77	41,63	43,98	23,68	24,08	4,83	4,98
224,79	150,73	44,33	33,99	24,25	21,37	4,99	4,37
224,34	162,60	44,36	35,63	24,33	21,52	4,99	4,47
341,01	197,44	58,56	40,75	28,24	23,12	5,73	4,79
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
262,22	191,70	48,88	39,83	25,52	22,94	5,22	4,70
Ucalc=4*		Ucalc=4*		Ucalc=4*		Ucalc=4*	
p[U]=0,048		p[U]=0,048		p[U]=0,048		P[U]=0,048	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.

Tabela L. Valores cariométricos médios da excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno dos núcleos das células da camada basal do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior do ligamento periodontal de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Excentricidade		Coeficiente de Forma		Índice de Contorno	
C	T	C	T	C	T
0,71	0,69	0,94	0,93	3,66	3,68
0,76	0,70	0,93	0,95	3,69	3,64
0,70	0,74	0,94	0,93	3,66	3,68
0,71	0,69	0,94	0,96	3,67	3,63
0,76	0,62	0,92	0,95	3,71	3,64
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,73	0,68	0,93	0,94	3,68	3,65
Ucalc=5 ^{ns}		Ucalc=6 ^{ns}		Ucalc=6 ^{ns}	
p[U]=0,075		p[U]=0,111		p[U]=0,111	

(^{ns}) Não significante.

Tabela M. Valores cariométricos médios dos diâmetros maior, menor e médio (μm) e relação D/d dos núcleos das células da camada espinhosa do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		Diâmetro Médio		Relação D/d	
C	T	C	T	C	T	C	T
9,56	9,08	6,96	6,92	8,13	7,89	1,39	1,33
9,56	9,04	7,00	6,32	8,16	7,54	1,38	1,44
9,68	8,16	7,40	6,32	8,44	7,15	1,33	1,32
8,28	8,56	6,72	5,92	7,45	7,09	1,24	1,47
9,84	7,28	7,68	6,24	8,67	6,73	1,30	1,18
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
9,38	8,42	7,15	6,34	8,17	7,28	1,33	1,34
Ucalc=3**		Ucalc=1*		Ucalc=2**		Ucalc=11 ^{ns}	
p[U]=0,028		p[U]=0,008		p[U]=0,016		p[U]=0,421	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela N. Valores cariométricos médios do volume (μm^3), área (μm^2), perímetro (μm) e relação V/A dos núcleos das células da camada espinhosa do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume		Área		Perímetro		Relação Volume/Área	
C	T	C	T	C	T	C	T
286,29	263,48	52,21	49,32	26,15	25,30	5,42	5,26
288,87	227,01	52,56	44,80	26,20	24,35	5,44	5,02
314,16	195,26	56,20	40,40	26,99	22,89	5,63	4,76
225,84	190,72	44,20	39,77	23,64	22,98	4,97	4,73
346,48	161,93	59,31	35,72	27,67	21,29	5,78	4,48
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
293,33	226,09	52,90	42,00	26,13	23,36	5,22	4,85
Ucalc=2*		Ucalc=2*		Ucalc=2*		Ucalc=2*	
p[U]=0,016		p[U]=0,016		p[U]=0,016		P[U]=0,016	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.

Tabela O. Valores cariométricos médios da excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno dos núcleos das células da camada espinhosa do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior do ligamento periodontal de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Excentricidade		Coeficiente de Forma		Índice de Contorno	
C	T	C	T	C	T
0,65	0,57	0,96	0,96	3,63	3,62
0,66	0,66	0,96	0,95	3,62	3,64
0,59	0,54	0,97	0,96	3,61	3,61
0,54	0,67	0,98	0,94	3,58	3,66
0,55	0,41	0,97	0,98	3,60	3,57
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,62	0,57	0,97	0,95	3,63	3,62
U _{calc} =12 ^{ns}		U _{calc} = 10 ^{ns}		U _{calc} = 9 ^{ns}	
p[U]=0,500		p[U]=0,345		p[U]=0,274	

(^{ns}) Não significante.

Tabela P. Valores cariométricos médios dos diâmetros maior, menor e médio (μm) e relação D/d dos núcleos das fibras do ligamento periodontal do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		Diâmetro Médio		Relação D/d	
C	T	C	T	C	T	C	T
8,28	6,72	4,88	5,00	6,33	5,77	1,72	1,38
8,08	6,20	5,44	4,88	6,61	5,49	1,51	1,28
8,16	7,76	5,16	5,52	6,46	6,53	1,60	1,43
8,28	7,24	5,20	5,80	6,53	6,47	1,62	1,26
7,92	7,36	5,00	5,52	6,27	6,36	1,60	1,35
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
8,14	7,05	5,14	5,34	6,44	6,12	1,61	1,34
Ucalc=0*		Ucalc=8 ^{ns}		Ucalc=8 ^{ns}		Ucalc=0*	
p[U]=0,004		p[U]=0,210		p[U]=0,210		p[U]=0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (^{ns}) Não significante.

Tabela Q. Valores cariométricos médios do volume (μm^3), área (μm^2), perímetro (μm) e relação V/A dos núcleos das fibras do ligamento periodontal do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume		Área		Perímetro		Relação Volume/Área	
C	T	C	T	C	T	C	T
104,99	103,47	31,76	26,42	23,34	18,54	3,25	3,85
125,64	88,28	34,40	23,81	23,31	17,49	3,63	3,66
114,84	148,90	33,02	33,74	23,28	21,03	3,44	4,35
118,73	145,23	33,77	33,11	23,59	20,57	3,47	4,31
104,55	135,93	31,10	31,86	22,59	20,36	3,33	4,24
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
113,75	124,36	32,81	29,90	23,22	19,59	3,42	4,08
Ucalc= 10 ^{ns}		Ucalc= 6 ^{ns}		Ucalc=0*		Ucalc=0*	
p[U]=0,345		p[U]=0,111		p[U]=0,004		P[U]=0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (^{ns}) Não significante.

Tabela R. Valores cariométricos médios da excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno dos núcleos das fibras do ligamento periodontal do 1º molar superior de ratos controle (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Excentricidade		Coeficiente de Forma		Índice de Contorno	
C	T	C	T	C	T
0,79	0,64	0,74	0,96	4,16	3,63
0,70	0,54	0,80	0,97	3,98	3,60
0,73	0,68	0,77	0,95	4,06	3,64
0,75	0,54	0,77	0,98	4,07	3,59
0,75	0,62	0,77	0,96	4,06	3,61
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,74	0,60	0,77	0,96	4,07	3,61
Ucalc=0*		Ucalc=0*		Ucalc=0*	
p[U]=0,004		p[U]=0,004		p[U]=0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$.

Tabela S. Valores estereológicos médios dos volumes citoplasmático e celular (μm^3), da relação núcleo/ citoplasma, da espessura (μm), e da densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) das células da camada basal do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume citoplasmático		Volume Celular (m^3)		Relação N/C		Espessura		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
475,45	151,66	775,49	241,27	0,21	0,15	4,46	3,06	1,39	4,49
698,23	106,19	916,71	197,82	0,16	0,12	4,19	4,99	1,45	6,71
266,46	176,25	491,79	248,58	0,58	0,12	5,00	4,86	3,14	4,22
341,29	124,14	602,51	188,21	0,25	0,11	4,20	6,20	2,68	5,79
456,46	113,38	699,71	158,64	0,23	0,14	4,80	5,32	1,92	6,42
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
447,58	134,32	697,24	206,70	0,29	0,13	4,53	4,89	2,12	5,53
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 7 ^{ns}		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,155		p[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$; (^{ns}) Não significativa.

Tabela T. Valores estereológicos médios dos volumes citoplasmático e celular (μm^3), da relação núcleo/ citoplasma, da espessura (μm), e da densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) das células da camada basal do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume citoplasmático		Volume Celular (m^3)		Relação N/C		Espessura		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
465,31	171,98	743,59	230,87	0,21	0,10	10,43	12,49	1,42	4,49
375,33	166,74	584,10	214,46	0,19	0,08	18,62	9,92	1,64	4,73
458,72	342,50	705,53	426,40	0,19	0,08	14,61	8,68	1,47	2,52
629,94	244,62	849,28	302,93	0,13	0,06	16,51	8,17	1,07	3,18
654,10	192,62	927,28	239,15	0,16	0,07	21,08	8,92	1,11	4,25
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
516,68	223,69	761,96	282,76	0,18	0,08	16,25	9,64	1,34	3,83
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc=1*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,008		p[U]= 0,004	

(^o) Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$.

Tabela U. Valores estereológicos médios da densidade de superfície (mm^2/mm^3), espessura total do epitélio (μm), relação superfície externa / camada basal e densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3 \times 10^6$) do epitélio juncional do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Densidade de Superfície		Espessura Total do Epitélio		Relação Superfície Externa / Camada Basal		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T
46,87	72,21	21,84	11,83	1,09	0,81	1,38	5,01
47,61	48,22	27,32	19,23	0,92	0,76	1,74	5,11
45,43	61,62	23,48	18,62	0,63	0,96	2,27	2,74
55,33	73,79	22,69	19,82	0,72	0,88	1,84	3,89
54,72	77,91	26,11	20,14	1,11	1,12	1,46	4,95
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
49,19	66,75	24,29	17,93	0,89	0,91	1,74	4,34
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 11 ^{ns}		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,421		p[U]= 0,004	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (^{ns}) Não significante.

Tabela V. Valores estereológicos médios dos volumes citoplasmático e celular (μm^3), da relação núcleo/ citoplasma, da espessura (μm), e da densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) do epitélio adamantino reduzido do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T). Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume citoplasmático		Volume Celular (m^3)		Relação N/C		Espessura		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
291,06	174,29	498,97	242,48	0,23	0,14	5,23	6,07	3,93	4,20
299,46	78,15	513,36	108,75	0,23	0,13	5,25	6,12	4,11	10,10
338,32	162,18	491,61	237,41	0,51	0,14	5,51	9,12	3,86	4,20
361,91	99,86	506,37	140,26	0,40	0,09	4,99	8,36	3,95	7,20
234,68	90,81	436,70	144,71	0,36	0,13	5,37	7,01	4,18	7,40
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
305,09	121,06	489,40	174,72	0,35	0,13	5,27	7,34	4,01	6,62
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc=0*		Ucalc= 0*	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004	

(^o) Estatisticamente significativa para $\alpha=0,01$.

Tabela X. Valores estereológicos médios dos volumes citoplasmático e celular (μm^3), da relação núcleo/ citoplasma, da espessura (μm), e da densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) das células da camada basal do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Volume citoplasmático		Volume Celular		Relação N/C		Espessura		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
703,48	57,71	1019,76	282,16	0,16	0,5625	4,10	3,85	0,98	3,50
74,64	85,74	279,34	304,00	0,47	0,4925	3,10	3,47	3,58	3,30
213,47	73,91	438,26	221,72	0,29	0,3889	4,90	3,97	2,28	4,50
259,68	44,29	484,02	201,77	0,26	0,4925	6,70	3,77	2,07	5,00
380,57	164,44	721,58	358,25	0,29	0,3158	6,40	5,83	1,39	2,80
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
326,37	85,18	588,59	273,65	0,29	0,45	5,04	4,18	2,06	3,82
Ucalc= 2*		Ucalc= 3*		Ucalc= 2*		Ucalc= 7 ^{ns}		Ucalc= 3*	
p[U]= 0,016		p[U]= 0,028		p[U]= 0,016		p[U]= 0,155		p[U]= 0,028	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela W. Valores estereológicos médios dos volumes citoplasmático e celular (μm^3), da relação núcleo/ citoplasma, da espessura (μm), e da densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) das células da camada espinhosa do epitélio da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon- Mann-Whitney.

Volume citoplasmático		Volume Celular		Relação N/C		Espessura		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
592,98	263,77	879,27	520,95	0,17	0,2987	22,30	7,10	1,14	1,9
469,77	282,00	758,64	506,44	0,21	0,2500	23,50	7,87	1,32	2,0
495,31	255,19	809,47	446,57	0,23	0,2346	24,10	8,57	1,24	2,2
199,44	235,93	425,28	424,54	0,29	0,2346	29,90	7,99	2,35	2,4
431,54	186,20	778,02	345,81	0,28	0,2500	29,40	8,61	1,29	2,9
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
437,81	244,62	730,14	448,86	0,24	0,25	25,84	8,03	1,47	2,28
Ucalc= 4*		Ucalc= 3*		Ucalc= 8 ^{ns}		Ucalc= 0*		Ucalc= 3**	
p[U]= 0,048		p[U]= 0,028		p[U]= 0,210		p[U]= 0,004		p[U]= 0,028	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela Y. Valores estereológicos médios da densidade de superfície (mm^2/mm^3), da espessura total do epitélio (μm), espessura de queratina (μm), da relação superfície externa/camada basal e da densidade numérica celular ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) do epitélio total da gengiva inserida do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon- Mann-Whitney.

Densidade de Superfície		Espessura Total do Epitélio		Espessura de Queratina		Relação Superfície Ext./Camada Basal		Densidade numérica ($\times 10^6$)	
C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
18,63	37,91	48,50	20,35	7,70	3,23	0,6670	1,1000	0,80	2,10
26,08	38,40	41,40	29,45	8,80	6,25	0,8330	1,0000	1,08	2,00
21,49	33,73	48,60	31,40	8,80	5,68	0,8330	1,1100	0,94	1,95
18,41	29,54	66,60	32,10	8,80	4,24	1,1430	0,8200	1,79	1,75
16,30	43,03	58,30	26,40	8,30	3,75	0,7270	0,7310	0,95	3,14
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
20,18	36,52	52,68	27,94	8,32	4,63	0,8406	0,9522	1,11	2,19
Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 0*		Ucalc= 9 ^{ns}		Ucalc= 4**	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,004		p[U]= 0,274		p[U]= 0,048	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$; (^{ns}) Não significante.

Tabela Z. Valores estereológicos médios da relação N/C, volumes celular e citoplasmático (μm^3) e densidade numérica ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$) das fibras do ligamento periodontal do 1º molar superior de ratos controles (C) e tratados com etanol (T) durante a lactação. Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Relação N/C		Volume Citoplasmático		Volume Celular		Densidade numérica ($\text{n}^\circ/\text{m m}^3$)	
C	T	C	T	C	T	C	T
0,13	0,05	1047,50	1832,17	1152,49	1935,64	0,86	0,51
0,13	0,05	1156,72	1563,67	1282,76	1651,95	0,77	0,60
0,12	0,09	1172,06	1570,90	1286,90	1719,80	0,77	0,58
0,09	0,07	1614,94	1855,32	1733,67	2000,55	0,57	0,49
0,13	0,08	1002,41	1552,14	1106,96	1688,07	0,90	0,59
\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0,12	0,06	1198,73	1674,84	1312,48	1799,20	0,78	0,55
Ucalc= 0*		Ucalc= 3**		Ucalc= 3*		Ucalc= 3**	
p[U]= 0,004		p[U]= 0,028		p[U]= 0,028		P[U]= 0,028	

(*) Estatisticamente significante para $\alpha=0,01$; (**) Estatisticamente significante para $\alpha=0,05$.