

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

LIANA PRETO WEBBER

ALTERAÇÕES NUCLEARES EM CÉLULAS ESFOLIADAS DA MUCOSA BUCAL
CLINICAMENTE NORMAL DE ALCOOLISTAS E USUÁRIOS DE CRACK

Porto Alegre

2013

LIANA PRETO WEBBER

ALTERAÇÕES NUCLEARES EM CÉLULAS ESFOLIADAS DA MUCOSA BUCAL
CLINICAMENTE NORMAL DE ALCOOLISTAS E USUÁRIOS DE CRACK

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Coelho Carrard

Porto Alegre

2013

Webber, Liana Preto.

Alterações nucleares em células esfoliadas da mucosa bucal clinicamente normal de usuários de crack / Liana Preto Webber. – 2013.

46 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

Orientador: Vinícius Coelho Carrard

1. Micronúcleos. 2. Citologia esfoliativa. 3. Câncer bucal. I. Carrard, Vinícius Coelho. II. Título.

A aqueles que sempre me apoiaram, e sempre me apoiarão: Tailor,
Terezinha, Mariana e Pedro.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo que me foi proporcionado.

Aos meus pais, por terem possibilitado eu ter chegado até aqui. Serem meu exemplo, meu apoio, meu porto seguro.

Aos meus irmãos, Mariana, meu exemplo de Cirurgiã-Dentista; e Pedro, por todo apoio e ajuda, principalmente tecnológicos.

Ao Lucas, por deixar esse conturbado último semestre, bem mais leve e doce.

Aos meus colegas de faculdade (ATO 2013/01), por toda a vivência, ajuda e resumos compartilhados ao longo desses cinco anos. Foi um prazer aprender a Odontologia ao lado de vocês.

Às minhas amigas Mariana, por ter sido minha dupla, meu referencial nesses cinco anos; Isadora, minha companheira na iniciação científica e dividindo, inclusive, o orientador e Bruna minha confidente, conselheira e parceira de estágio.

À UFRGS, por ter me proporcionado estudo gratuito e de alta qualidade. A todos os professores, funcionários e técnicos que garantem que essa Universidade seja uma das 100 melhores do mundo.

Aos meus colegas de Patologia, Técnicas, ICs, Mestrandos, Doutorandos, Professores por todo conhecimento adquirido ao longo desses três anos e meio de iniciação científica, não apenas acadêmico, mas principalmente pessoal.

Agradecimento especial ao meu orientador Vinícius, não apenas pela imensa dedicação ao longo da minha iniciação científica e desse trabalho, mas, principalmente, pela pessoa que é e pelos ensinamentos e confiança em mim depositados. Não sendo apenas um orientador para assuntos patológicos ou odontológicos, mas sendo verdadeiramente um orientador para vida e um grande amigo.

Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!
(Mário Quintana)

RESUMO

WEBBER, Liana Preto. **Alterações nucleares em células esfoliadas da mucosa bucal clinicamente saudável de usuários de crack.** 2013. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

O tabaco e o álcool são os principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de boca, principalmente quando consumidos de forma combinada. O consumo de crack aumentou nos últimos anos, mas existem poucos estudos sobre o seu efeito na mucosa bucal. A citopatologia tem sido utilizada para avaliar a mucosa bucal clinicamente saudável de indivíduos que se expõe habitualmente a diferentes agentes externos como tabaco e álcool. A citopatologia permite a detecção de distúrbios precoces nas células esfoliadas do epitélio bucal, tanto em estruturas como os núcleos, tanto em eventos como o processo de maturação ou no comportamento proliferativo. O objetivo desse estudo foi, por meio de um estudo observacional transversal, avaliar a ocorrência de alterações nucleares (micronúcleo-MN, binucleação-BN, *broken-egg*-BE, cariorrexe-CR) em células esfoliadas da mucosa bucal de indivíduos que consumiam tabaco, álcool e crack. Noventa indivíduos foram divididos em três grupos: grupo controle (n=35), composto de indivíduos que não fumavam, consumiam menos do que 15g de álcool por semana e que estavam iniciando tratamento odontológico na Faculdade de Odontologia/UFRGS; grupo alcoolistas (Alc, n=29), composto de indivíduos dependentes de bebidas alcoólicas; e grupo usuários de crack (CrCo, n=26), composto de indivíduos que consumiam crack habitualmente. Alc e CrCo contaram com participantes do grupo de abandono de substâncias químicas do ambulatório da Cruz Vermelha/RS. Foram obtidos raspados da mucosa da borda de língua e do assoalho de boca. As amostras foram dispostas em lâminas histológicas e submetidas à reação de Feulgen. Avaliou-se a frequência das alterações nucleares (MN, BN, BE e CR) sendo analisadas 1000 células por lâmina. Observou-se aumento na frequência de MN nas células esfoliadas da borda de língua dos indivíduos do CrCo quando comparado aos outros grupos (CrCo=51,31; controle=39,77; Alc=39,69; Kruskal Wallis/Dunn; p=0,013) e na frequência de cariorrexe nas células do assoalho de boca dos Alc quando comparado aos demais grupos (Alc=54,77; CrCo=41,15; controles=36,68; Kruskal Wallis/Dunn; p=0,013). Estes resultados sugerem que indivíduos que consomem crack apresentam mais quebras de DNA quando comparados com indivíduos que não fazem uso destas substâncias. Além disso, alcoolistas apresentam aumento da morte celular no epitélio bucal.

Palavras-chave: Micronúcleos. Citologia esfoliativa. Câncer bucal.

ABSTRACT

WEBBER, Liana Preto. **Nuclear changes in exfoliated cells from clinically healthy buccal mucosa of users of Crack.** 2013. 46f. Final paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

Tobacco and alcohol are the main risk factors for oral cancer development, especially when consumed in combination. The use of crack cocaine has increased in recent years, but there are few studies on its effect on the oral mucosa. Cytopathology has been used to evaluate the clinically healthy oral mucosa from individuals who habitually exposed to various external agents such as tobacco and alcohol. Cytopathology allows detection of early disturbances in the oral exfoliated cells, either in structures such as nuclei either in events such as maturation process or cell proliferation. The aim of this study was, by means of a cross-sectional observational study, to evaluate the occurrence of nuclear abnormalities (micronucleus-MN, binucleation-BN, broken-egg-BE, CR karyorrhexis) in exfoliated cells from oral mucosa of individuals who consumed tobacco, alcohol and crack. Ninety subjects were divided into three groups: control group (n=35), that was comprised by individuals who did not smoke, consumed less than 15g of alcohol per week and who were starting dental treatment at the Dental School / UFRGS. Alcoholic group (Alc, n=29), composed of alcoholics and crack cocaine users group (CrCo, n=26), individuals who habitually consume crack cocaine. Alc and CrCo included a group of participants of a abuse substances program attending Red Cross / RS. Oral cells were obtained from the tongue border and floor of the mouth. The samples were spread onto slides and subjected to the Feulgen reaction. We evaluated the frequency of nuclear abnormalities (MN, BN, BE and CR) were assessed 1000 cells per slide. There was an increase in the frequency of MN in CrCo when compared to the other groups (CrCo=51,31; controls=39,77; Alc=39,69; Kruskal Wallis/Dunn; p=0,013) and the frequency of karyorrhexis was higher in Alc when compared to the control and CrCo (Alc=54,77; CrCo=41,15; controles=36,68; Kruskal Wallis/Dunn; p=0,013). These results suggest that individuals who consume crack cocaine present more DNA breaks than individuals who do not use these substances. Furthermore, alcoholics display cell death increase in oral epithelium.

Keywords: Micronuclei. Exfoliative cytology. Oral cancer.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Description of the sample according to demographics, oral health conditions and removable prosthesis use.....	22
Tabela 2- Characteristics of Alcoholics and Crack cocaine users according to exposition to tobacco smoking, alcohol and other drugs.....	23
Table 3- Distribution of nuclear changes in cells exfoliated from different oral sites in alcoholics, crack cocaine users, and controls.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Alc	Grupo alcoolistas
ASSIST	<i>Alcohol, smoking and substance involvement screening test</i>
BE	<i>Broken-egg</i>
BN	Célula Binucleada
CrCo	Grupo usuários de crack
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
KR	Cariorrexe
MN	Micronúcleo
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVAS	10
2 OBJETIVO	13
3 ARTIGO CIENTÍFICO	14
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	145
REFERÊNCIAS.....	37
APÊNDICE A - FICHAS PARA CADASTRAMENTO DE PACIENTES.....	39
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	40
APÊNDICE C – RESULTADOS PRELIMINARES ESTUDO LONGITUDINAL.....	42
ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	44
ANEXO B – FICHA PARA TRIAGEM DO USO DE ÁLCOOL, TABACO, CRACK E OUTRAS SUBSTÂNCIAS (ASSIST OMS - MODIFICADO).....	45

1 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVAS

O câncer de boca representa 1% - 2% de todos os tipos de cânceres que podem desenvolver no organismo. Dentre as neoplasias malignas que ocorrem na boca, o carcinoma espinocelular é o tipo mais comum, apresentando crescimento rápido e invasivo (NEVILLE et al., 2009; VAN DER WAAL, 2013). Em função disso, quanto mais tardio é o diagnóstico, pior é o prognóstico, ou seja, maior a probabilidade de o paciente vir a óbito. Estas lesões podem ser identificadas através de um exame bucal de rotina e o diagnóstico é confirmado através da biópsia seguida do exame histopatológico. Contudo, apesar de a boca ser uma região de fácil acesso para a realização de exame, cerca de 50% das lesões são diagnosticadas em estágios mais avançados (VAN DER WAAL, 2013). Em 2010, o número de óbitos por câncer de boca foi de 4.891, sendo 3.882 homens e 1.009 mulheres (BRASIL, 2013). O tratamento pode ser realizado por meio de cirurgia e radioterapia, sendo a quimioterapia indicada em casos mais avançados (NEVILLE et al., 2009).

Esta neoplasia está associada a diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, que provocam alterações nos eventos de proliferação, morte e diferenciação celulares. Estudos têm mostrado que o consumo de fumo e álcool, os principais fatores de risco para o câncer de boca, induzem alterações morfológicas no epitélio bucal principalmente quando de forma combinada (HINDLE et. al., 2000, NEVILLE et al., 2009; PETERSEN et al., 2009).

Nos últimos anos, houve uma mudança no estilo de vida das pessoas e o consumo de substâncias ilícitas, antes restrito a grupos sociais específicos, tem se difundido entre indivíduos de diferentes níveis sócio-econômicos. Surgiram novas drogas como o crack, formado da mistura da pasta básica da cocaína com bicarbonato de sódio. Esta droga começou a ser utilizada na década de 80 e se disseminou em virtude dos seus efeitos estimulantes e prazerosos aliados ao baixo custo. Hoje este é um importante problema de saúde pública, apresentando significativo impacto social e econômico (HORTA et al., 2011; MARQUES et al., 2012; PULCHERIO et al., 2010; RODRIGUES et al., 2012). Em 2010, o número de usuários no Brasil atingiu aproximadamente 1,2 milhão de pessoas. O início do uso tem sido observado cada vez mais cedo, sendo 13 anos a idade média da primeira

experiência de uso (BRASIL, 2011a). Seu consumo se dá frequentemente de forma combinada com o de álcool, de tabaco ou de outras drogas ilícitas (LIMA et al., 2007; RODRIGUES et al., 2012; WOYCEICHOSKI et al., 2008). Atualmente, o Estado do Rio Grande do Sul exibe uma epidemia com cerca de 50 mil usuários e seis mortes diárias relacionadas, direta ou indiretamente, ao consumo desta droga (RODRIGUES et al., 2012)

O aumento do consumo de drogas lícitas e ilícitas tem gerado maior preocupação com relação aos seus efeitos na mucosa bucal e seu possível papel no desenvolvimento do câncer de boca. Dessa forma, o uso de técnicas que possibilitem o monitoramento dos efeitos dessas substâncias no organismo, como por exemplo, a citopatologia de boca tem se tornado relevante (MEHROTRA et al., 2009). Essa técnica é de execução fácil e rápida, além de ser pouco invasiva e indolor. Por meio dela, é possível detectar alterações celulares na mucosa bucal, mesmo na ausência de lesões clinicamente detectáveis (LUCENA et al., 2011). Por essa razão, tem sido utilizada como um recurso para estudar a influência de diferentes agentes sobre maturação e proliferação epitelial, bem como ocorrência de alterações nucleares. Além disso, esta técnica poderia auxiliar na identificação dos indivíduos com maior risco ao desenvolvimento de câncer bucal (THOMAS et al., 2009).

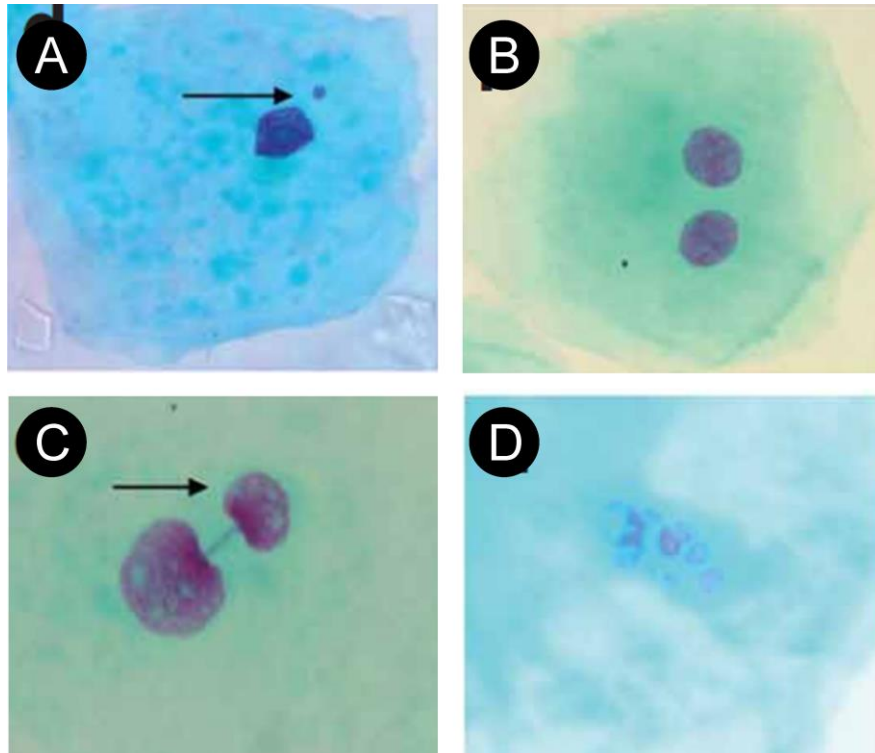
A partir da utilização da citopatologia de boca associada à técnica de Feulgen, podem ser avaliadas diferentes alterações nucleares (Figura 1) como micronúcleos, células binucleadas, *broken eggs* e cariorrexes (TOLBERT; SHY; ALLEN, 1992). Esses parâmetros informam a respeito de danos ao DNA (micronúcleo e *broken egg*), defeitos citocinéticos (células binucleadas) e morte celular (cariorrexe). Micronúcleos se caracterizam pela presença de estruturas nucleares secundárias próximas ao núcleo principal, produzidas pela quebra de DNA (agentes clastogênicos). A observação de células binucleadas indica falha na citocinese. *Broken eggs* são alterações de significado incerto, mas aparentemente relacionadas com a eliminação de DNA danificado ou a sua reparação. Cariorrexe é caracterizada pela fragmentação do núcleo, indicando morte celular (CARRARD et al., 2007; THOMAS et al.; 2009, TOLBERT; SHY; ALLEN, 1992).

Poucos estudos foram realizados para avaliar o efeito do consumo de crack na mucosa bucal (LIMA et al., 2010; MARQUES et al., 2012; WOYCEICHOSKI et al.,

2008), sendo o seu na carcinogênese pouco compreendido. Portanto, torna-se necessário o aprofundamento dos estudos a respeito do seu efeito na mucosa bucal.

Figura 1. Fotomicrografias representativas das alterações nucleares avaliadas

(A) Micronúcleo (B) Células binucleadas (C) *Broken Egg* (D) Cariorrexe



Fonte: Adaptado de THOMAS et al., 2009.

2 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência de alterações nucleares (micronúcleo, células binucleadas, *broken egg* e cariorrexe) em células esfoliadas da mucosa bucal clinicamente normal de alcoolistas e usuários de crack.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Nuclear changes in oral mucosa of alcoholics and crack cocaine users

Liana Preto Webber (lianawebber@gmail.com),^a Ana Carolina Amorim Pellicoli (anacarolinapellicoli@gmail.com),^a Alessandra Selinger Magnusson (alessandramag@hotmail.com),^a Chris Krebs Danilevicz (chriskrebs@gmail.com),^a Manoel Sant'Ana-Filho (manoel@ufrgs.br),^a Pantelis Varvaki Rados (pantelis@ufrgs.br),^a Vinicius Coelho Carrard (vinicius.carrard@ufrgs.br)^a

^a Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2492/503, CEP 90035-003, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

***Corresponding author**

Vinicius Coelho Carrard

Mailing address: Rua Ramiro Barcelos 2492/503, CEP 90035-003, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

Tel.: +55-51-3308.5011, Fax: +55-51-3308.5023

E-mail: vinicius.carrard@ufrgs.br

Manuscrito formatado segundo as normas da revista Toxicology para posterior submissão.

Nuclear changes in oral mucosa of alcoholics and crack cocaine users

Webber LP, Pellicoli ACA, Magnusson AS, Danilevicz CK, Sant'Ana-Filho M, Rados PV, Carrard VC

Abstract

The effects of alcoholism and crack cocaine use on oral mucosa are only partly understood. The aim of the present study was to evaluate the frequency of nuclear changes in cells exfoliated from normal-appearing oral mucosa of alcoholics and crack cocaine users. Oral smears were obtained from the border of the tongue and floor of the mouth of 26 crack cocaine users (24 males and 2 females), 29 alcoholics (17 males and 12 females), and 35 controls (17 males and 18 females). Histological slides were submitted to Feulgen staining to assess the frequency of micronuclei (MN), binucleated cells (BN), broken eggs (BE), and karyorrhexis (KR). A significant increase in the frequency of MN was observed in cells exfoliated from the tongue of crack cocaine users ($p = 0.01$); alcoholics showed a higher frequency of KR in cells obtained from the floor of the mouth ($p = 0.01$). Our findings suggest that the use of crack cocaine induces clastogenic effects, whereas alcoholism is associated with higher degrees of keratinization in the floor of the mouth, both possibly indicating early stages of oral carcinogenesis.

Keywords: ethanol; addiction; micronuclei; genotoxicity; oral mucosa.

1. Introduction

Oral cancer is an important public health issue due to the morbidity and mortality rates associated with the condition, which have remained relatively stable over the last years (Biazevic et al., 2006). Apparently, cancer prevention can only be achieved by cessation of tobacco smoking and alcohol drinking (van der Waal, 2013). Despite many educational campaigns, some noxious habits, particularly heavy alcohol drinking and the consumption of illicit drugs, such as crack cocaine, have continued to increase (Barbassa, 2011; Dualibi et al., 2008).

In oral cytopathology, cells are collected by scraping of the oral mucosa for microscopic evaluation. The technique is noninvasive, painless, simple, and inexpensive. Currently, it has been used as a strategy to detect early changes in the oral mucosa of subjects exposed to noxious substances as a result of their habits or occupational activities. Some studies have shown changes in epithelial maturation (Burzlaff et al., 2007; Ogden et al., 1999), in cell proliferation rates (Bustos et al., 2004; Campos Fontes et al., 2008; Cançado et al., 2001; Paiva et al., 2004; Salehinejad et al., 2007; Sampaio et al., 1999), and also in the frequency of micronuclei (MN) (Bohrer et al., 2005; Bremmer et al., 2009; Reis et al., 2002) in oral cells exfoliated from the oral mucosa of smokers and smokers, drinkers.

MN are extranuclear bodies composed of chromosomes or chromosomal fragments and separated from the daughter nuclei during mitosis. Presence of MN indicates DNA breaks, i.e., clastogenicity or aneuploidy due to disturbances in the mitotic spindle caused by exposure to genotoxic agents (Holland et al., 2008). Tolbert et al. (1992) proposed the inclusion of other nuclear changes, e.g., BN, nuclear buds (also called broken eggs [BE]), and karyorrhexis (KR), so as to improve the evaluation of the effects of occupational or behavioral exposure to carcinogens. MN

quantification appears to be useful as a biomarker, as its frequency gradually increases in potentially malignant lesions, showing a direct relationship with tumor progression (Mahimkar et al., 2010; Pelliccioli et al., 2011).

Despite the increased consumption of crack cocaine and alcohol, few studies have evaluated the effect of these substances on oral mucosa (Lima et al., 2010; Woyceichoski et al., 2008; Reis et al., 2002). Woyceichoski et al. (2008) found that illicit drug use caused cytomorphometric changes compatible with an increased keratinization of the oral mucosa. Conversely, among the patients assessed by Lima et al. (2010), crack cocaine users presented higher amounts of MN, however at a non-significant level. In contrast, Reis et al. (2002) found increased levels of MN and KR in alcoholics, non-smokers who attended a Brazilian addiction treatment center.

The primary aim of the present study was to evaluate the frequency of nuclear changes in cells exfoliated from the oral mucosa of crack cocaine users and alcoholics, based on the hypothesis that individuals exposed to these substances are more susceptible to presenting abnormalities. The secondary aim was to investigate if occur variations in nuclear changes after crack cocaine and alcohol cessation.

2. Materials and methods

2.1 Characteristics of the sample

This cross-sectional study assessed 90 subjects, selected from August 2010 to April 2012. Groups were established as follows: 1) crack cocaine users: 26 adult crack users (24 males and 2 females) attending a chemical dependence treatment group at the International Federation of Red Cross in Porto Alegre, state of Rio Grande do Sul, southern Brazil; 2) alcoholics: 29 adult alcohol abusers (17 males and 12 females), crack non-users, attending an alcohol dependence program also at

the Red Cross in Porto Alegre; and 3) controls: 35 adults (17 males and 18 females), crack non-users, tobacco non-smokers, who consumed less than 1 dose of alcohol weekly (14 g) and received treatment at the School of Dentistry of Universidade Federal do Rio Grande do Sul, also in Porto Alegre, southern Brazil.

Patients with a history of malignant oral tumors and those showing visible oral lesions were excluded from the study. Sample size was determined based on previous oral cytopathology studies involving smokers and drinkers, which have usually included about 25 subjects per group (Bohrer et al., 2005; Lima et al., 2010; Paiva et al., 2004; Woyceichoski et al., 2008) .

The present study was conducted in accordance with ethical guidelines set forth in the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the local Ethics Committee. All patients signed an informed consent form prior to their inclusion.

2.2 Questionnaire and oral examination

Each subject was interviewed using a structured questionnaire to collect information on age, skin color, monthly income, educational level, use of removable prosthesis, alcohol and tobacco consumption, and relevant medical history

Total lifetime exposure to cigarette smoke (pack-years) was calculated by multiplying the number of cigarettes smoked per day by the number of years of smoking habit, divided by 20 (1 pack). Subjects were classified into four groups (Carrard et al. 2011): non-smokers (0 pack-years), light (> 0-7.5 pack-years), moderate (> 7.5-20 pack-years), and heavy smokers (> 20 pack-years).

Daily alcohol consumption was calculated by multiplying the number of drinks consumed weekly by the average alcohol content of a glass of beer, wine, or

cachaça (a typical Brazilian drink distilled from sugarcane), divided by 7 days. The volume of alcohol was estimated to be 10 ml in a glass of beer, 12 ml in a glass of wine, and 10 ml in a drink of *cachaça*. Alcohol by volume was converted to alcohol by weight using a 0.8 conversion factor. Drinkers were classified into three categories (Carrard et al., 2011): light (> 0-2 g/day), moderate (> 2-6 g/day), and heavy drinkers (> 6 g/day). Because age and exposure to tobacco and alcohol are factors known to modify cell proliferation, these variables were compared only across study groups.

The consumption of other drugs was assessed using the Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test (ASSIST), a questionnaire recommended by the World Health Organization (World Health Organization, 1997) to assess exposure to different substances in crack users and alcoholics.

Finally, oral health conditions were recorded in a simplified manner, according to the classification proposed by Lima et al. (2010): poor - presence of residual roots, loss of various teeth, and advanced periodontal disease; regular - presence of caries and tartar but loss of few teeth; good - many restorations, no caries or tartar; and very good - absence of caries, restorations or tartar.

2.3 Cell collection

Before the collection of oral cells, patients rinsed their mouth with tap water for 1 minute (Bohrer et al., 2005). Then, smears were collected from the mucosa of the lateral border of the tongue and floor of the mouth using cytobrushes. These anatomical sites were chosen because they are the most affected by oral cancer (Jovanovic et al, 1993). Samples were spread onto histological slides and stored in plastic vials with 100% ethanol for fixation.

2.4 Cytological preparation and slide evaluation

Slides were Feulgen stained to assess the frequency of MN, BN, BE, and KR, according to the criteria proposed by Tolbert et al. (1992). A total of 1,000 cells/slide were evaluated.

MN were defined as oval or round extranuclear bodies present in the cytoplasm with similar staining intensity as the main nucleus and having a diameter between 1/3 and 1/16 of the main nucleus. Presence of MN was considered indicative of genotoxicity (Fenech et al., 2011). BN were characterized by the presence of two main nuclei with similar morphology. This disturbance is supposed to be associated with aneuploidy (Thomas et al., 2009). BE are accessory nuclei connected to the main nucleus by a chromatin filament. The clinical relevance of BE is still controversial, but they seem to precede MN (Utani et al., 2010). BE result from the expulsion of amplified DNA from the main nucleus (Dutra et al., 2010; Fenech, 2002). Finally, KR are cells presenting nuclear disintegration involving loss of integrity of the nucleus which are considered indicative of cell death/apoptosis (Thomas et al., 2009).

From each slide, 1,000 cells were examined using X1000 magnification. The criteria established by Tolbert et al. (1991) were used to determine nuclear changes. Only well-spread, non-overlapping cells were included in the analysis. The examiner was blinded to group allocation.

2.5 Statistical analysis

Data distribution was analyzed using the Shapiro-Wilk test. Parametric tests (Student's *t* test or Analysis of Variance [ANOVA]/Tukey) were used to analyze data following a Gaussian distribution. Non-normally distributed data were analyzed using

the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's multiple comparison test. Significance was set at 5%.

3. Results

Sample characteristics, including demographic data, oral health conditions, and use of licit and illicit substances are summarized in Tables 1 and 2. Mean age was not significantly different across groups. Males predominated in the crack cocaine user group. The same group presented a lower percentage of individuals with good/very good oral health conditions (Table 1).

Duration of smoking habit was on average 1.5-fold longer, and lifetime exposure to tobacco 1.9-fold higher, in alcoholics than in crack cocaine users. Crack cocaine users, in turn, consumed a higher amount of alcohol (g/day), but presented a shorter duration of the habit, when compared with alcoholics (non-significant differences; $p > 0.05$). Marijuana consumption was frequent among both alcoholics and crack cocaine users. The use of cocaine, sedatives, and/or sleeping pills was more frequently reported among alcoholics (Table 2).

Table 1. Characteristics of the sample: demographic data, oral health conditions.

Variable	Controls (n = 35)	Alcoholics (n = 29)	Crack cocaine users (n = 26)
Age			
Mean (SD)^a	40.94 (11.02)	45.83 (9.89)	39.62 (12.79)
Age group			
21-33 (n = 25)	37.14%	10.34%	34.61%
34-47 (n = 34)	31.43%	41.38%	42.31%
48+ (n = 31)	31.43%	48.28%	23.08%
Total (n = 90)			
Gender			
Male (n = 58)	48.57%	58.62%	92.31%
Female (n = 32)	51.43%	41.38%	7.69%
Total (n = 90)			
Skin color			
White (n = 72)	82.86%	86.21%	69.23%
Non-white (n = 18)	17.14%	13.79%	30.77%
Total (n = 90)			
Oral health conditions			
Poor (n = 24)	2.86%	48.27%	34.61%
Regular (n = 47)	68.57%	34.48%	50%
Good/Very good (n = 16)	28.57%	17.25%	3.85%
Not informed (n = 3)	0	0	11.54%
Total (n=90)			

SD = standard deviation.

^a p = 0.10 (ANOVA).

Data related to nuclear changes observed in tongue and floor of the mouth mucosa are shown in Table 3. MN were more frequently detected in crack cocaine users when compared with controls and alcoholics ($p < 0.05$). Conversely, a higher number of KR was found in cells exfoliated from the floor of the mouth of alcoholics.

Table 2. Characteristics of alcoholics and crack cocaine users according to exposure to tobacco, alcohol, and other drugs.

Habit	Alcoholics n=29	Crack cocaine users n=26	p ^a
Smoking			
No. cigarettes/day			
Mean (SD)	22.66 (14.25)	20.16 (15.69)	0.55
Duration (years)			
Mean (SD)	27.41 (11.78)	18.35 (8.38)	< 0.01
Pack-years			
Mean (SD)	33.94 (28.42)	17.87 (17.11)	0.02
Consumption level (cigarettes/day)			
Light (n = 18)	24.14%	42.31%	
Moderate (n = 12)	17.24%	26.92%	
Heavy (n = 24)	58.62%	26.92%	
N/A (n = 1)	-	3.85%	
Alcohol			
Weight (g/day)			
Mean (SD)	27.99 (24.78)	73.28 (125.22)	0.08
Duration (years)			
Mean (SD)	21.31 (9.81)	15.92 (10.80)	0.06
Drinking status (g/day)			
Non-drinker (n = 1)			
Light (n = 19)	37.93%	30.77%	
Moderate (n = 15)	24.14%	30.77%	
Heavy (n = 21)	37.93%	38.46%	
N/A (n = 11)			
Use of other drugs (last 3 months)^b			
Marijuana (n = 11)	20.69%	19.23%	
Cocaine (n = 7)	17.24%	7.69%	
Amphetamine-type stimulants (n = 1)	3.45%	0%	
Sedatives and sleeping pills (n = 6)	17.24%	3.85%	

^a Student t test.

^b Adapted from the Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test – ASSIST (World Health Organization). The use of inhalants, hallucinogens, and opioids was not reported by any patient.

N/A-not available

Table 3. Distribution of nuclear changes in cells exfoliated from different oral sites in alcoholics, crack cocaine users, and controls.

Variable	Border of tongue				Floor of mouth			
	N	Mean (SD)	Mean rank	p ^a	n	Mean (SD)	Mean rank	p ^a
Micronuclei								
Controls	32	0.16 (0.51)	39.77	0.01	34	0.15 (0.36)	38.38	0.12
Alcoholics	29	0.10 (0.31)	39.69		26	0.50 (0.76)	48.04	
Crack cocaine users	24	0.46 (0.66)	51.31*		26	0.38 (0.64)	45.65	
Binucleated cells								
Controls	32	0.75 (0.84)	44.56	0.87	34	1.16 (0.20)	40.24	0.43
Alcoholics	29	0.83 (1.26)	42.57		26	1.54 (0.30)	46.65	
Crack cocaine users	24	0.75 (1.11)	41.44		26	1.26 (0.25)	44.62	
Broken eggs								
Controls	32	0.84 (1.63)	39.19	0.32	34	0.68 (1.63)	40.53	0.38
Alcoholics	29	1.13 (1.36)	47.92		26	1.23 (3.06)	42.85	
Crack cocaine users	24	0.88 (1.36)	43.73		26	1.57 (3.01)	48.00	
Karyorrhexis								
Controls	32	5.47 (7.60)	36.73	0.06	34	1.74 (2.90)	36.68	0.01
Alcoholics	29	13.38 (13.77)	52.24		26	8.92 (10.96)	54.77*	
Crack cocaine users	24	7.08 (7.96)	41.40		26	4.69 (8.40)	41.15	

SD = standard deviation.

^a Kruskal-Wallis/Dunn. Differences in sample size are due to the exclusion of some histological slides for technical reasons. Asterisks (*) indicates the group that was different from the others.

4. Discussion

The present study investigated whether subjects with a history of chronic exposure to alcohol and crack cocaine show cytogenetic changes in oral mucosal cells. In line with our expectations, patients showed remarkable changes in cells exfoliated from the oral mucosa of the tongue and floor of the mouth. To the best of the authors' knowledge, this is the third study to investigate the frequency of MN in oral mucosal cells of crack cocaine users (Lima et al., 2010; Almeida et al. 2012). In addition, this is first attempt to assess the reversibility of damage induced under those circumstances.

Our main result was an increased frequency of MN in cells exfoliated from the border of the tongue of crack cocaine users when compared with alcoholics and controls. This result extends the findings reported by Lima et al. (2010) and Almeida et al. (2012). The former had demonstrated the same alteration, however with non-significant differences in relation to controls. Other point is that the evaluation of Lima et al (2010) included only 600 cells by slide, whereas it is recommended at least 1000 cells/slide (Thomas et al.,2009). Almeida et al. (2012) were capable to find statistically increase of micronucleus, picnosis and karyorrhexis in crack cocaine users when compared to controls, but their sample could be consider small (10 subjects in exposed group and 10 subjects in controls) and was comprised only by males. In addition, it was not included a smokers group, which is important to appropriate comparisons.

Our findings strongly suggest that crack cocaine use, tobacco smoking, and alcohol consumption, especially when combined, are all harmful and induce clastogenic events in the oral mucosa. In previous studies, subjects were also

exposed to different substances used in combination, showing the difficulty to evaluate the effect of each single substance (Lima et al., 2010; Gorelick et al., 1997).

Woyceichoski et al. (2008) demonstrated that crack users who did not consume alcohol or tobacco presented only slight cytomorphometric changes, compatible with an increased keratinization. According to Fligiel et al. (1997), when smoked alone, crack cocaine apparently produced fewer histopathologic changes in the bronchial mucosa than when combined with tobacco and marijuana. The same authors pointed out that the combined use of tobacco and crack cocaine was more harmful, suggesting an additive effect. Conversely, Barsky et al. (1998) found morphological disturbances and increased cell proliferation rates in the bronchial mucosa of subjects who smoked tobacco, marijuana, and crack-cocaine, either alone or combined. These changes were interpreted by those authors as indicative of field cancerization.

The above mentioned findings are in agreement with our results and suggest an important additive effect of tobacco and crack cocaine. Moreover, it is likely that other comorbidities, e.g., nutritional deficiencies, very common among substance abusers (Ziegler, 1986), may maximize the effects of toxic substances and further increase the number of MN (Benner et al., 1994; Thomas et al., 2011; Titenko-Holland et al., 1998). In fact, previous studies have pointed to nutritional deficiencies as an independent risk factor for oral carcinogenesis (Marshall et al., 1982; Prasad et al., 1995; Stich et al., 1984; Winn et al., 1984). Nutritional status was not assessed in our sample, as the routine care of patients at the institution where the study was carried out only indicates hematological exams when signs suggestive of anemia are present. The lack of nutritional assessment could be considered a limitation of the present study. Another important factor in these subjects is the frequent presence of

a psychological disorder as the main diagnosis, a condition that is known to be associated with a higher risk for several diseases, e.g., nutritional deficiencies, sexually transmitted diseases, and also oral cancer (Dualibi et al., 1991; Akkina et al., 2012).

One important aspect that should be taken into account when assessing users of multiple toxic substances is related to the potential harmful effects of cocaethylene, a toxic metabolite produced by the combined use of alcohol and cocaine (Dean et al., 1992; Fowler et al., 1992). Several studies have shown that cocaethylene induces noxious effects on the central nervous (Farooq et al., 2009; Laizure and Parker, 2009) and cardiovascular (Farooq et al., 2009; Jatlow et al., 1991) systems, but the oral mucosa has not been investigated. These mechanisms are probably also implicated in the increase in MN counts observed in our crack cocaine users and deserve to be further investigated.

In alcoholics, the evaluation of cells exfoliated from the floor of the mouth revealed a higher frequency of KR, which may be attributed to the concomitant use of alcohol and tobacco, typically reported by these patients, both in our sample and also in previous studies (Blot et al., 1988; Bohrer et al., 2005; Nersesyan et al., 2006; Reis et al., 2006). In particular, the influence of such combined exposure on epithelial maturation/keratinization is well documented (Burzlaff et al., 2007; Nersesyan et al., 2006). In relation to MN, alcoholics (who were also smokers) showed no differences in relation to controls, which is in accordance with the findings of Bohrer et al. (2005). In contrast, Stich and Rosin (1984), and also Nersesyan et al. (2006) observed increased frequencies of MN in smokers who habitually consume alcohol, as well as a dose-response relationship in the same patients.

The differences in MN levels reported by previous studies vs. our sample may probably be explained by the different amounts of cigarettes consumed by patients: those studies reported changes in MN frequencies in heavy smokers (> 20 cigarettes per day) (Nersesyan et al., 2011; Wu et al., 2004) whereas many of our subjects consumed less than 20 cigarettes and could be considered as light smokers (Burzlaff et al., 2007). Reis et al. (2006), in turn, demonstrated MN frequencies increase in oral mucosal cells of non-smoking alcoholics, a difference that, again, probably reflects a higher consumption of alcohol in that author's sample. Also, Reis et al. (2006) used a different histochemical technique to assess nuclear changes, namely, Papanicolaou stain, compared to Feulgen stain in the present study.

Notwithstanding, the latter has been shown to be more reliable, which justifies its use in the present study (Nersesyan et al., 2006; Roberts, 1997). In contrast, Cançado et al. (2004) found a dose-response relationship between number of cigarettes per day and cell proliferation rate in normal appearing mucosa of the floor of the mouth.

Curiously, alcoholics showed a slight lower (even though not statistically significant) daily alcohol consumption than crack cocaine users, most likely a reflection of the highly variable abuse patterns observed among crack cocaine users. In contrast, alcoholics tended to report a longer duration of alcohol consumption.

Regarding sociodemographic characteristics, this sample was similar to others previously described in the literature. The predominance of males among crack cocaine users deserves mention and had already been reported (Horta et al., 2011; Lima et al., 2010). The male/female ratio among alcoholics, in turn, is fairly balanced, probably because drinking alcohol is more socially acceptable (Westermeyer, 1987). Finally, poor oral health conditions were observed in the two groups assessed and

reflect the typical lack of self-care among substance misusers (Harris et al., 1997; Harris et al., 1996).

The study of nuclear changes in cells exfoliated from the oral mucosa is a minimally invasive method that allows to assess the effects of exposure to different substances. Our results underscore the relevance of MN testing in the evaluation of genotoxicity caused by supposedly carcinogenic agents (Bolt et al., 2011; Suhas et al., 2004), and therefore, as a tool to monitor populations exposed to toxic substances. Further cross-sectional and prospective studies should be performed to improve our knowledge of the effects of specific behaviors, lifestyle habits, and/or exposure to different substances on nuclear changes in the oral mucosa.

In conclusion, our findings suggest that the use of crack cocaine induces clastogenic effects, whereas alcoholism is associated with higher degrees of keratinization in the floor of the mouth, both possibly indicating early stages of oral carcinogenesis. Cessation programs aimed at the users of these substances should be encouraged and could show benefits in reducing the risk for oral cancer development.

Conflict of interest statement

None of the authors has any conflict of interest to declare concerning this study.

Acknowledgements

This study received grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Rio Grande do Sul Foundation for Research Support (FAPERGS). The authors are grateful to the International

Federation of Red Cross Red Cross in Porto Alegre for their assistance with patient selection.

REFERENCES

Almeida, T.C., Stefanon, E.B., Rech, V.C., Sagrillo, M.R., Bohrer, P.L. 2012. Analysis of oral mucosa of users of crack through micronucleus technique. *Clin Lab.* 58, 1269-1275.

Akkina, S.K., Ricardo, A.C., Patel, A., Das, A., Bazzano, L.A., Brecklin, C., Fischer, M.J., Lash, J.P. 2012. Illicit drug use, hypertension, and chronic kidney disease in the US adult population. *Transl Res.* 160, 391-398.

Barbassa, J. International Drug Policy Consortium, 2011. A global network promoting objective and open debate on drug policy. Crack hits Brazil late but hard. *Posted on:* <http://idpc.net/alerts/2011/07/crack-hits-brazil-late-but-hard>. *Access on:* 16-4-2013.

Barsky, S.H., Roth, M.D., Kleerup, E.C., Simmons, M., Tashkin, D.P., 1998. Histopathologic and molecular alterations in bronchial epithelium in habitual smokers of marijuana, cocaine, and/or tobacco. *J. Natl. Cancer Inst.* 90, 1198-1205.

Benner, S.E., Wargovich, M.J., Lippman, S.M., Fisher, R., Velasco, M., Winn, R.J., Hong, W.K., 1994. Reduction in oral mucosa micronuclei frequency following alpha-tocopherol treatment of oral leukoplakia. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 3, 73-76.

Biazevic, M.G., Castellanos, R.A., Antunes, J.L., Michel-Crosato, E., 2006. Trends in oral cancer mortality in the city of São Paulo, Brazil, 1980-2002. *Cad. Saude Publica.* 22, 2105-2114. (in Portuguese)

Blot, W.J., McLaughlin, J.K., Winn, D.M., Austin, D.F., Greenberg, R.S., Preston-Martin, S., Bernstein, L., Schoenberg, J.B., Stemhagen, A., Fraumeni, J.F. Jr., 1988. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 48, 3282-3287.

Bolt, H.M., Stewart, J.D., Hengstler, J.G., 2011. A comprehensive review about micronuclei: mechanisms of formation and practical aspects in genotoxicity testing. *Arch. Toxicol.* 85, 861-862.

Bohrer, P.L., Filho, M.S., Paiva, R.L., da Silva, I.L., Rados, P.V., 2005. Assessment of micronucleus frequency in normal oral mucosa of patients exposed to carcinogens. *Acta Cytol.* 49, 265-272.

Bremmer, J.F., Graveland, A.P., Brink, A., Braakhuis, B.J., Kuik, D.J., Leemans, C.R., Bloemena, E., van der Waal, I., Brakenhoff, R.H., 2009. Screening for oral precancer with noninvasive genetic cytology. *Cancer Prev. Res.* 2, 128-133.

Burzlaff, J.B., Bohrer, P.L., Paiva, R.L., Visioli, F., Sant'Ana Filho, M., da Silva, V.D., Rados, P.V., 2007. Exposure to alcohol or tobacco affects the pattern of maturation in oral mucosal cells: a cytohistological study. *Cytopathology.* 18, 367-375.

Bustos, A. I. O., Santander, I. L. E., Martínez, M. E. F., Jaimes-Freyre, N. L., Pinto, A. V O., 2004. Evaluación del grado de queratinización y el recuento de AgNORs en citología exfoliativa de mucosa oral normal de individuos fumadores y no fumadores. *Med. Oral.* 9, 197-203.

Campos Fontes P., Marques Corrêa, G.H., Scholz Issa, J., Almeida, J.D., 2008. Quantitative analysis of AgNOR proteins in exfoliative cytology specimens of oral mucosa from smokers and nonsmokers. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 30, 16-24.

Cançado, R.P., Yurgel, L.S., Filho, M.S., 2001. Evaluation of the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. *Oral Oncol.* 37, 446-454.

Cançado, R.P., Yurgel, L.S., Filho, M.S., 2004. Comparative analyses between the smoking habit frequency and the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of smokers' normal buccal mucosa. *Tob. Induc. Dis.* 15, 43-49.

Carrard, V., Haas, A., Rados, P., Filho, M., Oppermann, R., Albandar, J., Susin, C., 2011. Prevalence and risk indicators of oral mucosal lesions in an urban population from South Brazil. *Oral Dis.* 17, 171-179.

Dean, R.A., Harper, E.T., Dumauval, N., Stoeckel, D.A., Bosron, W.F., 1992. Effects of ethanol on cocaine metabolism: formation of cocaethylene and norcocaethylene. *Toxicol Appl Pharmacol.* 117, 1-8.

Duailibi, L.B., Ribeiro, M., Laranjeira, R., 2008. Profile of cocaine and crack users in Brazil. *Cad Saude Publica.* 24, Suppl 4, 545-557.

Dutra, A., Pak, E., Wincovitch, S., John, K., Poirier, M. C. and Olivero, O. A., 2010. Nuclear bud formation: a novel manifestation of Zidovudine genotoxicity. *Cytogenet. Genome Res.* 128, 105–110.

Farooq, M.U., Bhatt, A., Patel, M., 2009. Neurotoxic and cardiotoxic effects of cocaine and ethanol. *J. Med. Toxicol.* 5, 134-138.

Fenech, M., Holland, N., Zeiger, E., Chang, W.P., Burgaz, S., Thomas, P., Bolognesi, C., Knasmueller, S., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., 2011. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells--past, present and future. *Mutagenesis.* 26, 239-245.

Fenech, M., 2002. Chromosomal biomarkers of genomic instability relevant to cancer. *Drug Discov.* 7, 1128–1137.

Fligiel, S.E., Roth, M.D., Kleerup, E.C., Barsky, S.H., Simmons, M.S., Tashkin, D.P. 1997., Tracheobronchial histopathology in habitual smokers of cocaine, marijuana, and/or tobacco. *Chest* 112, 319-326.

Fowler J.S., Volkow, N.D., Logan, J., MacGregor, R.R., Wang, G.J., Wolf, A.P., 1992. Alcohol intoxication does not change [11C]cocaine pharmacokinetics in human brain and heart. *Synapse* 12, 228-235.

Gorelick, D.A., Simmons, M.S., Carriero, N., Tashkin, D.P., 1997. Characteristics of smoked drug use among cocaine smokers. *Am J Addict.* 6, 237-245.

Harris, C., Warnakulasuriya, K.A., Gelbier, S., Johnson, N.W., Peters, T.J., 1997. Oral and dental health in alcohol misusing patients. *Alcohol Clin Exp Res.* 21, 1907-1709.

Harris, C.K., Warnakulasuriya, K.A., Johnson, N.W., Gelbier, S., Peters, T.J., 1996. Oral health in alcohol misusers. *Community Dent Health.* 13, 199-203.

Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., Fenech, M., 2008. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat. Res.* 659, 93-108.

Horta, R.L., Horta, B.L., Rosset, A.P., Horta, C.L., 2011. Crack cocaine users who attend outpatient services. *Cad. Saude Publica.* 27, 2263-2270. [in Portuguese]

Jatlow, P., Elsworth, J.D., Bradberry, C.W., Winger, G., Taylor, J.R., Russell R., Roth, R.H., 1991. Cocaethylene: a neuropharmacologically active metabolite associated with concurrent cocaineethanol ingestion. *Life Sci.* 48, 1787-1794.

Jovanovic, A., Schulten, E.A., Kostense, P.J., Snow, G.B., van der Waal, I., 1993. Tobacco and alcohol related to the anatomical site of oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.* 22, 459-462.

Laizure, S.C., Parker, R.B., 2009. Pharmacodynamic evaluation of the cardiovascular effects after the coadministration of cocaine and ethanol. *Drug Metab. Dispos.* 37, 310-314.

Lima, C.F., Oliveira, L.U., Cabral, L.A., Brandão, A.A., Salgado, M.A., Almeida, J.D.J., 2010. Cytogenetic damage of oral mucosa by consumption of alcohol, tobacco and illicit drugs. *J. Oral Pathol. Med.* 39, 441-446.

Mahimkar, M.B., Samant, T.A., Kannan, S., Patil, T., 2010. Influence of genetic polymorphisms on frequency of micronucleated buccal epithelial cells in leukoplakia patients *Oral Oncol.* 46, 761-766.

Marshall, J., Graham, S., Mettlin, C., Shedd, D., Swanson, M., 1982. Diet in the epidemiology of oral cancer. *Nutr. Cancer.* 3, 145-149.

Nersesyan, A., Muradyan, R., Kundi, M., Knasmueller, S. 2011. Impact of smoking on the frequencies of micronuclei and other nuclear abnormalities in exfoliated oral cells: a comparative study with different cigarette types. *Mutagenesis.* 26, 295-301.

Nersesyan, A., Kundi, M., Atefie, K., Schulte-Hermann, R., Knasmüller, S., 2006. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15, 1835-1840.

Ogden, G.R., Wight, A.J., Rice, P., 1999. Effect of alcohol on the oral mucosa assessed by quantitative cytomorphometry. *J. Oral Pathol. Med.* 28, 216-220.

Paiva, R.L., Sant'Ana Filho, M., Bohrer, P.L., Lauxen Ida, S., Rados, P.V., 2004. AgNOR quantification in cells of normal oral mucosa exposed to smoking and alcohol. A cytopathologic study. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 26, 175-180.

Prasad, M.P., Mukundan, M.A., Krishnaswamy, K., 1995. Micronuclei and carcinogen DNA adducts as intermediate end points in nutrient intervention trial of precancerous lesions in the oral cavity. *Eur. J. Cancer B Oral Oncol.* 31B, 155-159.

Pelliccioli, A.C., Visioli, F., Ferreira, L.A., Danilevicz, C.K., Carrard, V.C., Rados, P.V., 2011. Cytogenetic abnormalities in exfoliated oral mucosal cells and their association with oral cancer. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 33, 271-276.

Reis, S.R., do Espírito Santo, A.R., Andrade, M.G., Sadigursky, M., 2006. Cytologic alterations in the oral mucosa after chronic exposure to ethanol. *Braz. Oral Res.* 20, 97-102. [in Portuguese]

Reis, S.R., Sadigursky, M., Andrade, M.G., Soares, L.P., Espirito Santo, A.R., Vilas Boas, D.S., 2002. Genotoxic effect of ethanol on oral mucosa cells. *Pesqui. Odontol. Bras.* 16, 221-225.[in Portuguese]

Roberts, D.M., 1997. Comparative Cytology of the Oral Cavities of Snuff Users. *Acta Cytol.*, 41, 1008-1014.

Salehinejad, J.J., Kalantari, M.R., Omid, A.A., Zare, R. 2007. Evaluation of AgNOR Staining in Exfoliative Cytology of Normal Oral (Buccal) Mucosa: Effect of Smoking. *J. Mash. Dent. Sch.* 31, 22-24.

Sampaio, H. de C., Loyola, A.M., Gomez, R.S., Mesquita, R.A., 1999. AgNOR count in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. *Acta Cytol.* 43, 117-120.

Stich, H.F., Rosin, M.P., 1984. Micronuclei in exfoliated human cells as a tool for studies in cancer risk and cancer intervention. *Cancer Lett.* 22, 241-253.

Stich, H.F., Stich, W., Rosin, M.P., Vallejera, M.O., 1984. Use of the micronucleus test to monitor the effect of vitamin A, beta-carotene and canthaxanthin on the buccal mucosa of betel nut/tobacco chewers. *Int. J. Cancer.* 34, 745-750.

Suhas, S., Ganapathy, K.S., Gayatri Devi, M., Ramesh, C., 2004. Application of the micronucleus test to exfoliated epithelial cells from the oral cavity of beedi smokers, a high-risk group for oral cancer. *Mutat. Res.* 561, 15-21.

Thomas, P., Wu, J., Dhillon, V., Fenech, M., 2011. Effect of dietary intervention on human micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis*. 26, 69-76.

Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., Fenech, M., 2009. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* 4, 825-837

Titenko-Holland, N., Jacob, R.A., Shang, N., Balaraman, A., Smith, M.T., 1998. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mutat. Res.* 417, 101-114.

Tolbert, P.E., Shy, C.M., Allen, J.W., 1992. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res.* 271, 69-77.

Tolbert, P.E., Shy, C.M., Allen, J.W., 1991. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am. J. Epidemiol.* 134, 840-850.

Utani, K., Kohno, Y., Okamoto, A., Shimizu, N., 2010. Emergence of micronuclei and their effects on the fate of cells under replication stress. *Plos One*. 5, 1-12.

van der Waal I., 2013. Are we able to reduce the mortality and morbidity of oral cancer; some considerations. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 18. 33-37.

Westermeyer, J., 1987. Cultural patterns of drug and alcohol use: an analysis of host and agent in the cultural environment. *Bull Narc.* 39, 11-27.

Winn, D.M., Ziegler, R.G., Pickle, L.W., Gridley, G., Blot, W.J., Hoover, R. W., 1984. Diet in the etiology of oral and pharyngeal cancer among women from the southern United States. *Cancer Res.* 44,1216-1223.

Woyceichoski, I.E., de Arruda, E.P., Resende, L.G., Machado, M.A., Grégio, A.M., Azevedo, L.R., de Lima, A.A., 2008. Cytomorphometric analysis of crack cocaine effects on the oral mucosa. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 105, 745-749.

World Health Organization. 1997. ASSIST - Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test . The WHO ASSIST Project. Posted on: http://www.who.int/substance_abuse/activities/assist/en/index.html. Access on: 19/08/2012.

Wu, P.A., Loh, C.H., Hsieh, L.L., Liu, T.Y., Chen, C.J., Liou, S.H. 2004. Clastogenic effect for cigarette smoking but not areca quid chewing as measured by micronuclei in exfoliated buccal mucosal cells. *Mutat. Res.* 562, 27-38.

Ziegler, R.G., 1986. Alcohol-nutrient interactions in cancer etiology. *Cancer*. 58,1942-1948.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diariamente, os meios de comunicação noticiam a respeito da epidemia do crack e suas consequências devastadoras na sociedade. O governo tem se mobilizado para atenuar esse problema de saúde pública, adotando medidas como internação compulsória e implementação de Centro de Atenção Psicossocial (CAPs) (ANTUNES; QUEIROZ, 2007; BRASIL, 2011b), tentando assim mudar o rumo letal dessa droga, e aumentando o número de ex-usuários. Portanto, o número de indivíduos que consumiram essa droga por determinado período de tempo vem crescendo, sendo necessário investigar seus efeitos na mucosa bucal. Neste contexto, uma das perguntas que surgiria é: “será que as substâncias presentes no *crack* seriam capazes de provocar efeitos genotóxicos no DNA, contribuindo no surgimento de uma neoplasia?” Esse questionamento motivou a realização desse estudo.

Buscando na literatura, apenas dois artigos abordam esse assunto (WOYCEICHOSKI et al., 2008; LIMA et al., 2010), porém não foram observados resultados conclusivos. Os resultados do presente estudo contribuem neste discussão, indicando que o uso de crack é capaz de produzir efeitos clastogênicos no DNA. Além disso, demonstrou-se que o consumo de álcool juntamente com o tabaco é capaz de estimular a ceratinização da mucosa, reforçando o que havia sido mostrado por estudos prévios (ORELLANA-BUSTOS et al., 2004; REIS et al., 2006).

Como seguimento do estudo apresentado, foi realizado um estudo longitudinal, com o objetivo de avaliar os mesmos parâmetros após três e seis meses da cessação de exposição ao crack. Até o presente momento, os resultados provenientes desta etapa do projeto não permitiram a compilação dos resultados na forma de um artigo científico e estão apresentados como material suplementar (Apêndice B).

A dificuldade de criar vínculo com o paciente é um dos principais problemas em estudos longitudinais com esse tipo de população. Na nossa amostra transversal (presente nesse trabalho), foram coletadas amostras de 55 indivíduos participantes dos ambulatórios de dependentes químicos da Cruz Vermelha e apenas 13 pacientes (23,63%) completaram todas as coletas, ou seja, não tivemos mais

contato com 42 pacientes (76,36%), tendo a maioria deles abandonado o tratamento na Cruz Vermelha e/ou voltado a consumir crack.

Outra dificuldade é o estudo do efeito de uma substância isoladamente (crack ou etanol), porque dificilmente o indivíduo consome só um tipo de substância, na maioria das vezes, o seu uso é combinado com tabaco, maconha, opióides, alucinógenos, etc. Entretanto, consideramos mais importante avaliar o estilo de vida destes pacientes, que compreende a combinação de diferentes substâncias psicoativas, bem como comportamento de risco para outras doenças que envolvem o autocuidado como as sexualmente transmissíveis (DUALIBI; RIBEIRO; LARANJEIRA, 2008).

Como conclusão final do estudo podemos inferir que programas de cessação para o consumo de álcool, tabagismo e uso de drogas devem ser estimulados visando, também, a redução do risco de câncer oral, além da reinserção dos indivíduos na sociedade.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, S. M. M. de O. ; QUEIROZ, M. de S. A configuração da reforma psiquiátrica em contexto local no Brasil: uma análise qualitativa. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro v.23, n.1, p.207-215, Jan. 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Tipos de câncer – boca**. Brasília, 2013a. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/boca/definicao>> Acesso em: 16 maio 2013.
- BRASIL. Confederação Nacional dos Municípios. **Observatório do crack**. Brasília, 2011b. Disponível em: <http://portal.cnm.org.br/sites/9700/9797/docBibliotecaVirtual/cartilha_observatoriocrack> Acesso em: 15 agosto 2012.
- BRASIL. Lei nº 10.216, de 6 de abril de 2011. Dispõe sobre a proteção e os direitos das pessoas portadoras de transtornos mentais e redireciona o modelo assistencial em saúde mental. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 9 abr. 2011.
- CARRARD V. C. et al. Teste dos micronúcleos – um biomarcador de dano genotóxico em células descamadas da mucosa bucal. **R. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 48, n. 1/3, p. 77-81, jan./dez. 2007.
- DUALIBI, L.B.; RIBEIRO, M.; LARANJEIRA, R. Profile of cocaine and crack users in Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v 24, Suppl. 4, p.545-557, 2008.
- HINDLE, I. et al. Is alcohol responsible for more intra-oral cancer? **Oral Oncol.**, Amsterdam, v.36, no. 4, p. 328-333, July 2000.
- HORTA, R. L. et al. Perfil dos usuários de crack que buscam atendimento em Centros de Atenção Psicossocial. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 11, p.2263-2270, nov. 2011.
- LIMA, C. F. et al. Cytogenetic damage of oral mucosa by consumption of alcohol, tobacco and illicit drugs. **Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 39, no. 6, p.441–446, 2010.
- LIMA, A. A. S. et al. Cytopathological changes in oral epithelium induce by crack cocaine smoking. **Pharmacologyonline**, Salerno, v.1, p.31-40, 2007.
- LUCENA, E. E. de S. et al. Método de coleta e a qualidade do esfregaço de mucosa Oral. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac.**, Camaragibe, v.11, n.2, p. 55-62, abr./jun. 2011.
- MARQUES, A. C. P. R. et al. Abuse and addiction: crack. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 58, n. 2, p. 141-153, 2012.

MEHROTRA, R. et al. Oral cytology revisited. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.38, no. 2, p. 161–166, Feb. 2009.

NEVILLE, B. W. et al. **Patologia oral e maxilofacial**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 972 p.

ORELLANA- BUSTOS, A.I. et al. Evaluation of keratinization and AgNORs count in exfoliative cytology of normal oral mucosa from smokers and nonsmokers. **Med. Oral.**, Madrid, v.9, no.3, p. 97 – 203, Maio /Jul. 2004.

PETERSEN, P. E. Oral cancer prevention and control – The approach of the World Health Organization. **Oral Oncol.**, Amsterdam, v. 45, no. 4-5, p. 454–460, Apr./ May 2009.

PULCHERIO G. et al. Crack – da pedra ao tratamento. **Rev. AMRIGS**, Porto Alegre, v. 54, n.3, p.337-343, jul./ set. 2010.

REIS, S. R. et al. Cytologic alterations in the oral mucosa after chronic exposure to ethanol. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 20, n. 2, p.97-102, Apr./June 2006.

RODRIGUES, D. S. et al. Conhecimentos produzidos acerca do crack: uma incursão nas dissertações e teses brasileiras. **Ciên. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 5, p. 1247-1258, 2012.

THOMAS, P. et al. Buccal micronucleus cytome assay. **Nat. Protoc.**, London, v.4, no.6, p. 825-837, May 2009.

TOLBERT, P.E.; SHY, C.M.; ALLEN, J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 271, no. 1, p. 69–77, Feb. 1992.

VAN DER WAAL, I. Are we able to reduce the mortality and morbidity of oral cancer; some considerations. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, Valencia, v.18, no.1, p. 33-37, Jan. 2013.

WOYCEICHOSKI, I. E. C. et al. Cytomorphometric analysis of crack cocaine effects on the oral mucosa. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 105, no. 6, p.745-749, June 2008.

APÊNDICE A - FICHAS PARA CADASTRAMENTO DE PACIENTES

Nome (Iniciais): _____ CI _____ Data: ___/___/_____

Idade: _____ Gênero: () Masculino () Feminino Cor: _____

Endereço: _____ nº _____ cidade _____

Telefone: _____

Nº Registro Cito: _____ Técnica: _____

Escolaridade: () 1º Grau () 2º Grau () 3º Grau () Incompleto
Ocupação: _____ **Renda:** () até R\$ 500,00 () de R\$ 501,00 a R\$ 1000,00
 () de R\$ 1001,00 a 1500,00 () acima R\$ 1500,00

Doenças Sistêmicas:
 Hipertensão () Não () Sim Diabetes () Não () Sim Hepatite () Não () Sim
 Colesterol alto () Não () Sim Outras () Não () Sim Qual(is)? _____
Medicamentos (em caso afirmativo, especificar abaixo)
 Antihipertensivo () Não () Sim Diurético () Não () Sim Hipoglicemiante () Não () Sim
 Antibiótico () Não () Sim Analgésico () Não () Sim AINE () Não () Sim
 Anticoncepcional () Não () Sim Antidepressivo () Não () Sim
 Outro(s) () Não () Sim Qual(is)? _____

Hábitos:
Fumo
 Não Sim Parou há _____ (meses,anos)
 Tipo _____ Cig/dia _____ Tempo _____ anos
Chimarrão
 Não Sim
 Temp. _____ Qtde/dia _____ Tempo _____ anos
Outros (Especificar): _____
 Temp. _____ Qtde/dia _____ Tempo _____ anos

Álcool
 Não Sim Parou há _____ (meses,anos)
 Tipo _____ Qtde/sem (ml) _____ Tempo _____ anos
Exposição solar (atual e anterior)
 Não Sim Parou há _____ (meses,anos)
 Tipo _____ Uso de protetor _____ Tempo _____ anos
 Ocupacional Não Sim
 Lazer FPS _____

Uso de prótese:
 Não Sim Tipo: _____ Condições: _____
 Remove à noite
 Tempo de uso _____ anos Última troca _____ (meses, anos) Tempo (anos) _____ Não Sim

Exame Físico:
 () intra-óssea () extra-óssea

	Lesão fundamental	Tamanho (mm)	Cor	Consistência	Diagnóstico Clínico	Conduta
Lesão 1						
Lesão 2						
Lesão 3						
Lesão 4						

Condição de saúde bucal:

() Pobre	() Regular	() Boa	() Muito boa
Raízes residuais, perda de vários dentes e doença periodontal avançada	Presença de cáries e tártaro, mas poucos dentes perdidos	Muitas restaurações, mas sem cáries e com tártaro.	Ausência de cáries, restaurações ou tártaro

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Caro participante,

Estamos realizando um estudo para avaliar o que acontece na boca dos indivíduos quando eles param de fumar e/ou de beber. Este será um dos primeiros estudos sobre esse assunto e tem a possibilidade de contribuir para o entendimento das conseqüências do consumo de fumo e de álcool sobre a mucosa bucal.

É importante que o diário de consumo seja preenchido no final de cada semana, informando a quantidade de fumo ou álcool consumida com honestidade. A idéia do estudo não é fazer nenhuma espécie de julgamento a respeito do seu comportamento e sim entender o que acontece na boca quando a pessoa interrompe os hábitos de fumar ou beber. Em função disso, informações imprecisas podem prejudicar o resultado da pesquisa.

Serão feitas raspagens com o auxílio de uma escova (semelhante a uma escova dental) na língua e abaixo dela, para que seja possível estudar as células da boca. Além disso, será feita coleta de saliva, a partir da qual serão estudadas as bactérias presentes na boca. As coletas são simples, rápidas e indolores e serão repetidas a cada 6 meses. O comparecimento nessas consultas de controle é fundamental, pois ao longo do tempo é que será possível avaliar o que realmente está acontecendo na sua boca. Ainda não se sabe se, ao parar de fumar ou beber, o tecido da boca volta ao normal depois de um tempo ou se permanece alterado por tempo indeterminado.

O estudo proposto também envolve o exame da boca e das gengivas, pois a higiene bucal é outro fator que pode ter relação com o câncer de boca.

Os possíveis desconfortos associados à participação neste estudo são aqueles decorrentes da realização de um exame bucal completo. Todas as medidas de biossegurança necessárias tais como uso de materiais descartáveis e instrumentais esterilizados, serão dotadas.

Os benefícios relacionados à participação neste estudo são o exame bucal completo, que inclui um exame detalhado das gengivas, bem como orientação de higiene e diagnóstico a respeito das doenças bucais presentes e necessidades de tratamento. Fica ainda assegurado o direito ao sigilo de todas as informações

coletadas, não sendo permitido acesso por outra pessoa que não o próprio participante ou responsável.

Fica, ainda, assegurada a liberdade dos participantes de recusarem-se a participar ou retirarem-se do estudo a qualquer momento que desejarem, sem que isso traga conseqüências aos mesmos. Entretanto, é importante lembrar que a pessoa que fumou ou bebeu tem uma chance maior de desenvolver câncer de boca e deve ser examinado periodicamente.

Toda e qualquer dúvida no decorrer do estudo poderá ser esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa através dos telefones (51) 9241. 0234 e (51) 8215.5121 (Paula Daniele Matheus). Os pesquisadores envolvidos no estudo estarão sempre à disposição para esclarecimentos.

Possíveis problemas podem ser reportados diretamente ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS 3308.3738.

Eu, _____ (participante), declaro que fui informado dos objetivos e procedimentos que serão realizados nesta pesquisa, bem como sei dos meus direitos e dos deveres dos pesquisadores.

Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

Participante: _____

R.G.: _____

APÊNDICE C – RESULTADOS PRELIMINARES DO ESTUDO LONGITUDINAL

Quadro 1 – Frequência das alterações nucleares nas células esfoliadas da mucosa da borda de língua nos diferentes tempos experimentais.

PACIENTE	CÓDIGO	MN			BN			BE			CR		
		INICIAL	3 MESES	6 MESES	INICIAL	3 MESES	6 MESES	INICIAL	3 MESES	6 MESES	INICIAL	3 MESES	6 MESES
1	GC m4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0
2	GC m17	SD	0	0	SD	2	0	SD	1	0	SD	2	0
3	GC f4	0	0	0	0	0	0	4	0	0	8	1	0
4	GC f7	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
5	GC f12	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	4
6	Alc m1	0	0	0	3	1	0	2	0	6	36	114	21
7	Alc m4	0	0	0	1	0	0	0	0	1	10	0	0
8	Alc m5	0	0	0	0	1	1	0	2	1	42	40	6
9	Alc m6	1	0	0	5	3	1	3	4	1	19	0	6
10	Alc m8	0	1	0	1	2	0	0	4	0	5	11	0
11	Alc f1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	31	10	17
12	Alc f5	0	2	0	1	0	1	1	0	0	8	8	9
13	CrCo m1	1	0	1	0	0	2	0	1	4	16	2	11
14	CrCo m3	0	1	0	3	0	1	2	3	1	9	15	45
15	CrCo m4	0	0	0	4	0	0	1	1	0	14	0	2
16	CrCo m5	2	0	0	0	0	1	0	0	2	21	39	45
17	CrCo m6	2	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
18	CrCo f1	1	0	0	0	2	0	2	0	1	18	33	3

SD = Sem dados. GCm – grupo controle/masculino. GCf – grupo controle/ feminino. Alc m – grupo alcoolistas / masculino. Alc f- grupo alcoolistas / feminino. CrCo m- grupo crack masculino. CrCo f – grupo crack feminino.

Obs.: Não foram realizadas as análises de 8 lâminas no grupo controle masculino e de 2 lâminas no grupo controle feminino, devido a falta de reagentes.

Quadro 2 – Frequência das alterações metanucleares nas células esfoliadas da mucosa do assoalho de boca nos diferentes tempos experimentais.

PACIENTE	CÓDIGO	MN			BN			BE			CR		
		INICIAL	3 MESES	6 MESES	INICIAL	3 MESES	6 MESES	INICIAL	3 MESES	6 MESES	INICIAL	3 MESES	6 MESES
1	GC m4	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	3	0
2	GC m17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	GC f4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	GC f7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
5	GC f12	1	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0
6	Alc m1	0	3	1	0	7	4	4	7	3	20	12	7
7	Alc m4	0	0	0	1	0	0	0	2	0	4	0	0
8	Alc m5	1	1	SD	0	0	SD	0	0	SD	1	14	SD
9	Alc m6	SD	0	2	SD	1	0	SD	0	4	SD	1	1
10	Alc m8	0	1	1	0	1	0	9	1	1	5	10	0
11	Alc f1	0	0	0	0	0	2	0	2	1	8	20	6
12	Alc f5	1	1	0	4	2	2	0	2	11	0	0	2
13	CrCo m1	0	0	0	0	2	1	4	0	0	12	6	7
14	CrCo m3	0	0	0	1	1	1	0	3	0	7	0	0
15	CrCo m4	0	1	0	5	1	0	5	0	0	1	0	0
16	CrCo m5	0	1	0	0	4	2	13	2	0	20	1	0
17	CrCo m6	2	0	1	0	0	0	0	0	0	5	1	0
18	CrCo f1	2	0	0	3	0	1	0	0	0	0	3	0

*SD = Sem dados. GCm – grupo controle/masculino. GCf – grupo controle/ feminino. Alc m – grupo alcolistas/ masculino. Alc f -grupo alcolistas / feminino. CrCo m- grupo crack masculino. CrCo f – grupo crack feminino.

Obs.: Não foram realizadas as análises de 8 lâminas no grupo controle masculino, 2 lâminas no grupo controle feminino, devido a falta de reagentes.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs

**CARTA DE APROVAÇÃO**

O Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs analisou o projeto:

Número: 17267

Título: Estudo dos Efeitos da Cessação de Exposição aos Carcinógenos Externos em Células Epiteliais da Mucosa Bucal: Fumo, Álcool e Acetaldeído Microbiano

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

MANOEL SANTANA FILHO - coordenador desde 08/10/2009
ISABEL DA SILVA LAUXEN - pesquisador desde 08/10/2009
VINICIUS COELHO CARRARD - pesquisador desde 08/10/2009

O mesmo foi aprovado pelo Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs, em reunião realizada em 18/03/2010 - Sala 3 do CEPE, andar térreo do prédio da Reitoria, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho nacional de Saúde.

Porto Alegre, Terça-Feira, 23 de Março de 2010

JOSE ARTUR BOGO CHIES
Coordenador da comissão de ética

ANEXO B – FICHA PARA TRIAGEM DO USO DE ÁLCOOL, TABACO, CRACK E OUTRAS SUBSTÂNCIAS (ASSIST OMS - MODIFICADO)

5. Durante os três últimos meses, com que frequência, por causa do seu uso de (*primeira droga, depois a segunda droga, etc*), você deixou de fazer coisas que eram normalmente esperadas de você?

	NUNCA	1 OU 2 VEZES	MENSALMENTE	SEMANALMENTE	DIARIAMENTE OU QUASE TODOS OS DIAS
a. derivados do tabaco	0	5	6	7	8
b. bebidas alcoólicas	0	5	6	7	8
c. maconha	0	5	6	7	8
d. cocaína, crack	0	5	6	7	8
e. anfetaminas ou êxtase	0	5	6	7	8
f. inalantes	0	5	6	7	8
g. hipnóticos/sedativos	0	5	6	7	8
h. alucinógenos	0	5	6	7	8
i. opióides	0	5	6	7	8
j. outras, especificar	0	5	6	7	8

- FAÇA as questões 6 e 7 para todas as substâncias mencionadas na questão 1

6. Há amigos, parentes ou outra pessoa que tenha demonstrado preocupação com seu uso de (*primeira droga, depois a segunda droga, etc...*) ?

	NÃO, Nunca	SIM, nos últimos 3 meses	SIM, mas não nos últimos 3 meses
a. derivados do tabaco	0	6	3
b. bebidas alcoólicas	0	6	3
c. maconha	0	6	3
d. cocaína, crack	0	6	3
e. anfetaminas ou êxtase	0	6	3
f. inalantes	0	6	3
g. hipnóticos/sedativos	0	6	3
h. alucinógenos	0	6	3
i. opióides	0	6	3
j. outras, especificar	0	6	3

7. Alguma vez você já tentou controlar, diminuir ou parar o uso de (*primeira droga, depois a segunda droga, etc...*) e não conseguiu?

	NÃO, Nunca	SIM, nos últimos 3 meses	SIM, mas não nos últimos 3 meses
a. derivados do tabaco	0	6	3
b. bebidas alcoólicas	0	6	3
c. maconha	0	6	3
d. cocaína, crack	0	6	3
e. anfetaminas ou êxtase	0	6	3
f. inalantes	0	6	3
g. hipnóticos/sedativos	0	6	3
h. alucinógenos	0	6	3
i. opióides	0	6	3
j. outras, especificar	0	6	3

Nota Importante: Pacientes que tenham usado drogas injetáveis nos últimos 3 meses devem ser perguntados sobre seu padrão de uso injetável durante este período, para determinar seus níveis de risco e a melhor forma de intervenção.

8- Alguma vez você já usou drogas por injeção? (Apenas uso não médico)

NÃO, nunca	SIM, nos últimos 3 meses	SIM, mas não nos últimos 3 meses

Guia de Intervenção para Padrão de uso injetável

Uma vez por semana ou menos Ou menos de três dias seguidos	Intervenção Breve incluindo cartão de "riscos associados com o uso injetável"
Mais do que uma vez por semana Ou mais do que três dias seguidos	Intervenção mais aprofundada e tratamento intensivo*

PONTUAÇÃO PARA CADA DROGA

	Anote a pontuação para cada droga. SOME <u>SOMENTE</u> das Questões 2, 3, 4, 5, 6 e 7	Nenhuma intervenção	Receber Intervenção Breve	Encaminhar para tratamento mais intensivo
Tabaco		0-3	4-26	27 ou mais
Alcool		0-10	11-26	27 ou mais
Maconha		0-3	4-26	27 ou mais
Cocaína		0-3	4-26	27 ou mais
Anfetaminas		0-3	4-26	27 ou mais
Inalantes		0-3	4-26	27 ou mais
Hipnóticos/sedativos		0-3	4-26	27 ou mais
Alucinógenos		0-3	4-26	27 ou mais
Opióides		0-3	4-26	27 ou mais

Cálculo do escore de envolvimento com uma substância específica.

Para cada substância (de 'a' a 'j') some os escores obtidos nas questões 2 a 7 (inclusive). Não inclua os resultados das questões 1 e 8 aqui. Por exemplo, um escore para maconha deverá ser calculado do seguinte modo: Q2c + Q3c + Q4c + Q5c + Q6c + Q7c. Note que Q5 para tabaco não é codificada, sendo a pontuação para tabaco = Q2a + Q3a + Q4a + Q6a + Q7a

Fuma () Fumou () Tipo _____ Qtde _____ Parou há _____ Por quanto tempo _____

Bebe () Bebia () Tipo _____ Qtde _____ Parou há _____ Por quanto tempo _____