

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

NATÁLIA BATISTA DAROIT

**AVALIAÇÃO CITOLÓGICA DA FREQUÊNCIA DE ALTERAÇÕES
METANUCLEARES DA MUCOSA BUCAL EM INDIVÍDUOS
EXPOSTOS À RADIAÇÃO DE TELEFONIA CELULAR**

PORTO ALEGRE

2011

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

à Deus, ao plano espiritual e aos meus guias tutelares por me iluminar e me guiar em todos os momentos de desafio pelos quais eu passei. Para construir um castelo precisamos de proteção;

aos meus pais, Eduardo e Yára, por me mostrarem sempre o caminho correto e honesto e por me instruírem como pessoa. Agradeço a educação, o carinho, o amor e por contribuírem para a formação do meu caráter, muito do que sou hoje devo aos dois. Agradeço a minha irmã, Naíla pelo sorriso e alto-astrol nas horas difíceis, pelo nosso crescimento e desenvolvimento juntas. Para começarmos a construção do castelo precisamos também de uma base sólida;

ao meu namorado Diego, pelos anos vividos dentro da faculdade. Obrigada simplesmente por participar comigo desta caminhada, por torná-la mais prazerosa e feliz. Sou grata pela cumplicidade, pelo carinho e pela compreensão em todos os momentos. Para que as paredes do castelo sejam erguidas precisamos de inspiração;

aos mestres Anna Fossati pelos conhecimentos tanto teóricos como os de vida, o seu entusiasmo pelo ensino é exemplo para todos; e Pantelis Varvaki Rados pelo convite de construir o castelo, para isso contribuístes com a paciência, a sabedoria, a competência, a disciplina e a confiança que foram imprescindíveis para que o sonho se tornasse real;

a todos do departamento de Patologia da FO-UFRGS, o local foi o melhor possível, sem a tranqüilidade, bom-humor e o ambiente afetuoso a conclusão do castelo seria árdua.

as amigas que deram cor ao meu castelo, Isabel, Alessandra e Chris. Os dias de trabalho foram muito melhores sabendo que tinha o apoio de vocês;

Enfim, obrigada a todos aqueles que estiveram ao meu lado nestes anos. O castelo está brilhando!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	06
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	08
2.1 Delineamento do Estudo.....	08
2.2 Amostra	08
2.3 Preparo do Material	08
2.4 Quantificação das Alterações	09
2.5 Análise Estatística	10
3. RESULTADOS	12
4. DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO.....	18
REFERÊNCIAS	19
ANEXO A	22
ANEXO B	23
ANEXO C	25
ANEXO D	27

**AVALIAÇÃO CITOLÓGICA DA FREQUÊNCIA DE ALTERAÇÕES
METANUCLEARES DA MUCOSA BUCAL EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS À
RADIAÇÃO DE TELEFONIA CELULAR**

Natália Batista Daroit*
Alessandra Selinger Magnusson**
Isabel da Silva Lauxen***
Francinne Miranda da Rosa****
Geila Radunz Vieira*****
Pantelis Varvaki Rados*****

* Acadêmica do 10º semestre da Faculdade de Odontologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

** Acadêmica da Faculdade de Farmácia
Técnica do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*** Bióloga, Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**** Doutoranda em Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

***** Geila Radunz Vieira
Médica Especialista em Medicina do Trabalho
Médica da Vigilância Sanitária de Porto Alegre

***** Professor de Patologia da Faculdade de Odontologia
Orientador do Trabalho de Conclusão de Curso
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Rua Ramiro Barcellos, 2492
Porto Alegre – Brasil
pantelis@ufrgs.br

**Este trabalho está de acordo com as normas da Revista Científica Cytopathology
para futura submissão à publicação.**

**Avaliação Citológica da Frequência de Alterações Metanucleares da Mucosa Bucal
em Indivíduos expostos à Radiação de Telefonia Celular**

Daroit N.B.; Magnusson A.S.; Lauxen I.S.; Rosa F.M.; Vieira G.R.; Rados P.V.

Devido ao desenvolvimento da telefonia celular e seu uso amplo na população há uma preocupação com os efeitos adversos da sua radiofrequência sobre as células humanas. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da radiação eletromagnética, do tipo radiofrequência, proveniente da telefonia móvel sobre a frequência de micronúcleos, *broken eggs*, cariorrexe e células binucleadas em células epiteliais descamadas da mucosa bucal de humanos. Neste estudo transversal, clínico com análise da relação de associação foram avaliados 60 acadêmicos de Odontologia sem lesões bucais clinicamente visíveis, não fumantes e não alcoolistas, que usassem telefone celular. As coletas citológicas foram feitas no lábio inferior, borda de língua e assoalho da boca e todas as lâminas foram coradas pela reação de Feulgen. Foram quantificados micronúcleos, *broken eggs*, cariorrexe e células binucleadas em 1000 células/lâmina. Os participantes utilizavam telefone celular em média há 8,36 (4-14) anos e com uso médio de 128,6 (10-1260) minutos/semana. Os indivíduos que usavam o celular mais de 60 minutos/semana apresentaram maior número de micronúcleos em lábio inferior e de células binucleadas em assoalho bucal. No lábio observou-se maior número de *broken eggs* e células binucleadas do que na borda de língua e no assoalho bucal. *Broken eggs* foram encontrados em maior número em indivíduos com uso de telefone celular há mais de 8 anos. Este estudo sugere que quanto maior o tempo de uso do telefone celular, maiores as probabilidades de alterações metanucleares nas células da mucosa bucal considerando as características desse grupo amostral.

Palavras-chave: Mucosa bucal. Teste para micronúcleos. Telefone celular. Citopatologia.

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da União Internacional de Telecomunicações o número de assinaturas de telefonia móvel em todo o mundo atingiu 4,6 bilhões em 2010 e espera-se aumentar para 5 bilhões em 2011, com uma densidade aproximada de 90 celulares a cada 100 habitantes. ⁽¹⁾

Dado o grande número de usuários de telefones celulares, mesmo um pequeno efeito negativo sobre a saúde pode ter uma grande implicação para a saúde pública. ⁽²⁾

Este tipo de exposição à radiação eletromagnética, provoca um estresse aos sistemas biológicos nos organismos vivos, não importando o quão pequeno seja. ^(3,4) Embora a associação causa/efeito não tenha sido demonstrada de forma definitiva até o momento, a incidência de câncer ou de outras condições patológicas genéticas ou não pode ter relação com esta exposição. ^(5,6) As células da cavidade bucal estão numa área de exposição próxima à radiação oriunda do uso de telefones celulares.

Yadav e Sharma em 2008 ⁽⁶⁾ encontraram uma correlação direta estatisticamente significativa entre a frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal e os anos de exposição à radiação eletromagnética proveniente de aparelhos de telefonia celular. Em contrapartida Hintzsche e Stopper em 2010 ⁽⁷⁾ não encontraram indícios do aumento da frequência de micronúcleos com relação ao tempo de exposição – tanto em anos, como em minutos.

Uma alternativa para o monitoramento de danos genéticos é a utilização de marcadores biológicos intermediários, micronúcleos, que sinalizam um processo de exposição do organismo a agentes genotóxicos. ⁽⁸⁾ A análise dos micronúcleos, que são corpos extranucleares constituídos por cromossomos inteiros ou fragmentos de cromossomos que não foram incorporados ao núcleo principal durante a mitose ⁽⁹⁾ permite avaliar danos cromossômicos numéricos e estruturais. ⁽¹⁰⁾

Inúmeros pesquisadores chamam atenção para outras alterações metanucleares, além dos micronúcleos, as quais aumentam a sensibilidade dos testes que detectam genotoxicidade;⁽¹¹⁻¹⁴⁾ dentre as quais se destacam: células com *broken eggs* que, segundo Ramires⁽¹⁵⁾ constitui uma alteração nuclear inicial, provavelmente uma resposta adaptativa a ação de agentes clastogênicos; células em cariorrexe que estão presentes em estágios iniciais de apoptose;⁽¹⁴⁾ e células binucleadas cujo significado ainda não está completamente elucidado.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da radiação eletromagnética, do tipo radiofrequência, proveniente da telefonia móvel sobre a frequência de micronúcleos, *broken eggs*, cariorrexe e células binucleadas em células epiteliais descamadas da mucosa bucal de humanos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento do Estudo

Este é um estudo transversal, clínico com análise da relação de associação.

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o número 17764 e também pelo Comitê de Pesquisa em Odontologia sob o mesmo número (anexo A).

2.2 Amostra

Os indivíduos incluídos neste estudo foram alunos da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul que se enquadram nos seguintes critérios de inclusão: possuíam telefone celular, não fumavam, não apresentavam lesão bucal clinicamente visível e não relatavam a existência de agravo de saúde geral. Além disso, eles não deveriam beber mais de uma dose de bebida alcoólica por dia, segundo Tezal *et al*⁽¹⁶⁾, 340 ml de cerveja, 113 ml de vinho e 28 ml de destilados.

Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo B) concordando em fazer parte do estudo, e responderam a um questionário (anexo C) com objetivo de estabelecer o perfil do uso de telefone celular.

2.3 Preparo do Material

As coletas de células foram realizadas em três sítios anatômicos: lábio inferior, borda de língua e assoalho de boca. Para a coleta de cada sítio anatômico foi utilizada uma escova citológica que era girada sobre o local de 4 a 5 vezes.

O material coletado foi distendido sobre uma lâmina histológica – identificada com o número de registro de cada participante por cada sítio anatômico, garantindo o cegamento do examinador – e fixado em álcool etílico a 96%.

Todas as lâminas foram submetidas à coloração de Feulgen (anexo D).

2.4 Quantificação das Alterações

Em cada lâmina foram analisadas 1000 células distendidas e isoladas entre si, em microscópio binocular (modelo CX31RBSFA, Olympus America, Inc., Center Valley, PA, USA), em aumento de 1000X sob óleo de imersão. As células que apresentaram cariólise e picnose ou aquelas que estavam sobrepostas não foram contadas. Foram quantificadas as seguintes alterações: micronúcleos - estrutura e intensidade de coloração da cromatina similar ou mais fraca que o núcleo principal; bordas nítidas, sugerindo a presença de membrana; estruturas arredondadas e incluídas no mesmo citoplasma do núcleo principal e tamanho igual ou inferior a 1/5 do maior diâmetro do núcleo principal; células com *broken eggs* - formação nuclear onde o núcleo aparece unido a um fragmento arredondado, eventualmente maior que um micronúcleo, por um “fio” Feulgen-positivo; células em cariorrexe - desintegração nuclear associada à perda de integridade da membrana e células binucleadas - que são células contendo duas estruturas nucleares de volume semelhante com membranas nucleares separadas.⁽¹⁴⁾

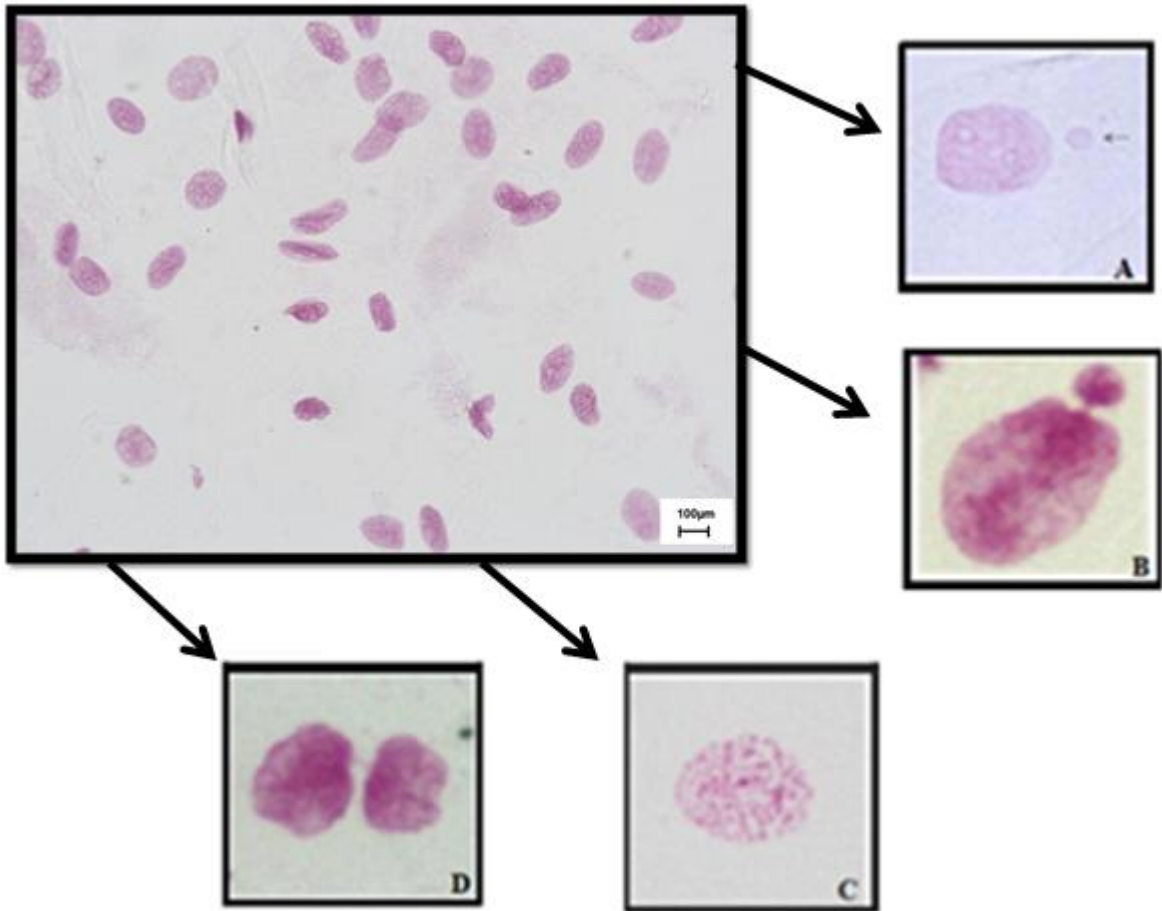


Figura 1: Fotomicrografia de núcleos celulares apresentando as alterações quantificadas: A) célula micronucleada, B) célula com *broken egg*, C) célula em cariorrexe e D) célula binucleada. Feulgen, 1000 x.

2.5 Análise Estatística

Utilizou-se o teste não-paramétrico de Friedman complementado pelo seu teste de comparações múltiplas para comparar a mediana e o rank médio dos valores relativos às alterações metanucleares em cada sítio anatômico.

O teste não-paramétrico Mann Whitney foi usado para avaliar os dados relativos à mediana das alterações metanucleares em cada sítio anatômico comparado com o tempo de uso progressivo (em anos) e tempo de uso semanal (em minutos) de telefone celular. Este

mesmo teste foi utilizado para verificar as medianas das alterações metanucleares sem a distinção entre os sítios anatômicos comparadas com os tempos de uso pregresso e semanal.

Por meio do coeficiente de correlação de Spearman foram analisados os dados relativos ao tempo de uso pregresso, uso semanal e a contagem de alterações metanucleares.

Para a realização dos testes estatísticos foi utilizado o programa SPSS versão 17.0.

3 RESULTADOS

A amostra foi composta por 60 indivíduos, dos quais 24 eram homens (40%) e 36 mulheres (60%), com média de idade de 23,28 anos (19-33 anos).

Os participantes possuíam o telefone celular em média há 8,36 anos (4-14 anos) e falavam semanalmente ao aparelho em média 128,6 minutos (10-1260 minutos), esses dados foram obtidos do questionário que os participantes responderam ao ingressar no grupo estudado.

Quanto à comparação de sítios e do rank médio de alterações metanucleares no lábio inferior observou-se maior rank médio de *broken eggs* e de células binucleadas com diferença estatisticamente significativa do que nos sítios borda de língua e assoalho de boca. Porém em relação ao rank médio de células micronucleadas não houve diferença estatisticamente significativa entre os sítios. Já na alteração cariorrexe a mediana do sítio borda de língua diferiu de maneira estatisticamente significativa da mediana do assoalho de boca e ambas foram diferentes do sítio lábio (tabela 1).

Tabela 1: Teste Não-paramétrico de Friedman complementado pelo seu Teste de Comparações Múltiplas verificando as medianas e o rank médio das alterações em cada sítio anatômico (1000 células)

Alterações	Sítio	Contagem					Rank médio
		Mediana	P25	P75	Mínimo	Máximo	
<i>Broken egg</i>	Lábio	2,0	0,0	5,0	0	23	2,39 ^A
	Língua	1,0	0,0	2,0	0	9	1,94 ^B
	Assoalho	0,0	0,0	1,0	0	7	1,67 ^B
Células Binucleadas	Lábio	1,0	0,0	2,0	0	26	2,38 ^A
	Língua	0,0	0,0	1,0	0	6	1,78 ^B
	Assoalho	0,0	0,0	1,0	0	10	1,83 ^B
Cariorrexe	Lábio	8,0	1,0	18,3	0	52	2,04 ^{AB}
	Língua	7,0	4,0	23,5	0	85	2,35 ^A
	Assoalho	2,0	0,0	6,5	0	42	1,61 ^B
Micronúcleos	Lábio	0,0	0,0	0,0	0	2	2,08 ^A
	Língua	0,0	0,0	0,0	0	1	2,01 ^A
	Assoalho	0,0	0,0	0,0	0	1	1,91 ^A

Ranks médios seguidos de letras distintas diferem significativamente, ao nível de significância de 5%.

Comparando tempo de uso pregresso com as medianas das alterações metanucleares a mediana de células com *broken eggs*, no sítio borda de língua, foi maior em indivíduos que utilizam o telefone celular há mais de oito anos ($p=0,033$) comparadas aos que utilizam há menos que este tempo. Os outros achados encontrados nesta comparação não diferem estatisticamente. (tabela 2)

Tabela 2: Teste Não-paramétrico Mann Whitney comparando tempo de uso pregresso do telefone celular com as medianas das alterações em cada sítio anatômico (1000 células)

Alterações	Sítio	Tempo pregresso						P
		Até 8 anos			Mais de 8 anos			
		Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	
<i>Broken egg</i>	Lábio	2,0	1,0	5,8	1,0	0,0	4,8	0,253
	Língua	0,0	0,0	1,0	1,0	0,0	2,8	0,033
	Assoalho	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,521
Células Binucleadas	Lábio	1,0	0,0	3,8	1,0	0,0	2,0	0,567
	Língua	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,671
	Assoalho	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,790
Cariorrexe	Lábio	6,5	1,3	15,3	9,0	0,3	19,0	0,783
	Língua	7,5	4,3	23,5	6,5	4,0	23,3	0,750
	Assoalho	3,5	0,0	12,5	2,0	1,0	3,8	0,329
Micronúcleos	Lábio	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,410
	Língua	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,494
	Assoalho	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,182

p = nível mínimo de significância do Teste Não-paramétrico Mann Whitney

Na comparação entre o uso semanal do telefone celular e a mediana das alterações metanucleares por sítio anatômico, os indivíduos que utilizam o celular por mais de 60 minutos semanais apresentaram uma mediana maior estatisticamente significativa de células binucleadas em assoalho bucal ($p=0,032$) e células micronucleadas em lábio inferior ($p=0,040$) quando comparados as pessoas que utilizam menos que este tempo por semana (tabela 3).

Tabela 3: Teste Não-paramétrico Mann Whitney comparando tempo de uso semanal do telefone celular com as medianas das alterações em cada sítio anatômico (1000 células)

Alterações	Sítio	Uso semanal						P
		Até 60 minutos			Mais de 60 minutos			
		Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	
<i>Broken egg</i>	Lábio	2,0	0,0	4,8	3,0	0,3	5,8	0,452
	Língua	1,0	0,0	2,0	1,0	0,0	2,0	0,802
	Assoalho	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,240
Células Binucleadas	Lábio	1,0	0,0	2,8	1,0	0,0	2,0	0,789
	Língua	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,380
	Assoalho	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,032
Cariorrexe	Lábio	8,0	0,3	19,0	9,0	2,0	14,8	0,835
	Língua	7,0	4,0	23,5	7,5	3,3	22,3	0,523
	Assoalho	3,0	0,0	8,8	1,5	0,3	6,5	0,615
Micronúcleos	Lábio	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,040
	Língua	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,305
	Assoalho	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,924

p = nível mínimo de significância do Teste Não-paramétrico Mann Whitney

Quando avaliadas as medianas das alterações metanucleares agrupando todos os sítios anatômicos, isto é, analisando 3000 células por indivíduo, em comparação ao uso semanal do telefone celular foram estatisticamente significativos ($p=0,049$) os resultados da mediana das células micronucleadas para os indivíduos que utilizam mais de 60 minutos semanais (tabela 4).

Tabela 4: Teste Não-paramétrico Mann Whitney comparando a mediana das alterações metanucleares de toda a mucosa bucal (3000 células) e tempo de uso semanal do telefone celular

Alterações	Uso semanal						p
	Até 60 minutos			Mais de 60 minutos			
	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	
<i>Broken egg</i>	3,0	2,0	6,8	4,0	3,0	7,0	0,332
Células Binucleadas	1,5	1,0	4,0	2,0	1,0	6,5	0,191
Cariorrexe	28,0	11,0	54,8	21,0	11,5	51,8	0,419
Mironúcleos	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,049

p= nível mínimo de significância do Teste Não-paramétrico Mann Whitney

4 DISCUSSÃO

O perfil de uso do telefone celular da amostra de indivíduos incluídos neste estudo é similar com o dado da União Internacional de Telecomunicações no qual a densidade mundial de telefones móveis é de cerca de 90 celulares a cada 100 habitantes ⁽¹⁾ na medida em que todos informaram possuir pelo menos um aparelho celular estando eles expostos ao risco de desenvolverem agravos físicos. ^(17, 18)

A avaliação de alterações nucleares em células esfoliadas da mucosa bucal pode ser usada como um marcador simples e confiável para avaliar a genotoxicidade a semelhança dos estudos de diagnóstico precoce das lesões pré-malignas e malignas. ⁽¹⁹⁾ A reação de Feulgen em células coletadas por meio de raspado da mucosa bucal demonstrou ser uma técnica adequada e efetiva para a detecção de alterações metanucleares, uma vez que foi possível analisar todo o material coletado da amostra deste estudo.

Na realização do estudo, a avaliação das células coletadas, em média, durava cerca de 60 ± 40 minutos a cada lâmina. No estudo de Pellicioli, a análise da lâmina levava aproximadamente 82 ± 42 minutos, e a sua conclusão foi que este é um método de avaliação que pode ser uma ferramenta útil para detecção e monitoramento de indivíduos com risco aumentado de desenvolver câncer oral. ⁽²⁰⁾

Os indivíduos desta amostra possuem telefone celular, em média pelo período de um terço de suas vidas, aqueles com telefone há mais de oito anos apresentaram uma maior mediana de *broken eggs* na borda de língua (tabela 2). Yadav e Sharma⁽⁶⁾ analisaram a frequência de alterações metanucleares em células da língua de usuários de telefone celular e encontraram como resultado uma correlação positiva entre os 4 anos iniciais de exposição e a frequência de micronúcleos e uma leve diminuição desta frequência na medida em que

umentam os anos de uso. Estes autores sugerem que com uma exposição prolongada à ondas de baixa frequência, são ativados mecanismos de reparo de DNA.

Em nosso estudo observamos que aqueles indivíduos que semanalmente falavam por mais de 60 minutos apresentaram maior mediana de células com micronúcleos em lábio inferior (0,8) e de células binucleadas em assoalho bucal (1,8) do que os que falam menos que esse tempo (tabela 3). Quando foram cruzadas as alterações metanucleares com o tempo em minutos falados por semana, considerando o seu impacto sobre o conjunto total de células avaliadas, foi encontrada uma maior mediana para células micronucleadas nos indivíduos que falam ao celular mais de 60 minutos do que aqueles que falam menos tempo (tabela 4). Hintzsche, et al ⁽⁷⁾ realizaram estudo semelhante quantificando as células micronucleadas da mucosa bucal em indivíduos que usavam o telefone celular. Em seu estudo ficou demonstrado que o uso progressivo e também o uso semanal do celular não mostrou diferença estatisticamente significativa entre as alterações nucleares e estes tempos, ao contrário dos resultados apresentados no nosso estudo. O Brasil, bem como, outros 25 países segue a regulamentação da ICNRP (Comissão Internacional de Proteção a Radiação Não-ionizante), porém não existem dados publicados e comparáveis entre os modelos de fiscalização da radiação eletromagnética proveniente de aparelhos celulares e também de estações radio bases adotados por estes países. ⁽²¹⁾ Este fato pode explicar o motivo pelo qual estudos *in vivo* em diferentes localizações geográficas podem apresentar resultados estatisticamente diferentes.

Na comparação de alterações metanucleares por sítio anatômico, o lábio inferior apresentou maior rank médio com relação às alterações *broken eggs* e células binucleadas. Esse dado indica que comparando com os demais sítios anatômicos analisados o lábio foi o local que apresentou maior dano. Este comportamento pode ser explicado porque a mucosa de transição do lábio inferior está exposta também a outros agentes externos, como por exemplo, a radiação solar. ⁽¹³⁾ A mucosa do lábio inferior é, dos sítios anatômicos considerados neste

estudo, aquele com maior proximidade física da fonte de radiação eletromagnética. O assoalho de boca apresentou os menores valores para rank médio nas alterações metanucleares sugerindo também ser a região mais protegida à exposição da radiação, provavelmente por haver barreiras físico-biológicas como a mucosa jugal e mesmo a língua que sejam atingidos primeiro. No sítio anatômico língua verificou-se que o maior rank médio com diferença estatisticamente significativa foi de células em cariorrexe. Stich, et al⁽²²⁾ sugere que a cariorrexe ocorre frente a uma agressão de intensidade moderada, onde a célula que não consegue reverter danos é eliminada do organismo, sugerindo que a mucosa bucal pode apresentar diferentes vias de adaptação ao mesmo estímulo.⁽¹³⁾

A finalidade de ter-se feito comparações estatísticas reunindo as alterações metanucleares de todos os sítios foi para avaliar se o poder estatístico era maior com um número maior de células (3000). O único resultado estatisticamente significativo foi que a mediana das células micronucleadas das pessoas que utilizam telefone celular mais de 60 minutos por semana foi maior (tabela 4); resultado esse que já era visto em lábio inferior nas pessoas que falavam mais que 60 minutos semanais (tabela 3) em que a mediana das células micronucleadas foi maior estatisticamente significativa mesmo com o número de 1000 células. Esse dado comprova que a mucosa bucal pode ser avaliada reunindo um grupo de células, porém mais resultados estatisticamente significantes foram encontrados quando os sítios anatômicos foram avaliados isoladamente, isto porque cada sítio anatômico da mucosa bucal pode apresentar uma resposta específica aos agentes mutagênicos e também apresenta um diferente padrão de ceratinização.⁽¹³⁾

Por fim, os achados deste estudo sugerem a necessidade de avaliações longitudinais a fim de medir o efeito das radiações eletromagnéticas advindas do uso do telefone celular em uma perspectiva cumulativa ao longo do tempo, tomando como base o mesmo indivíduo.

5 CONCLUSÃO

Este estudo sugere que quanto maior o tempo de uso do telefone celular, maiores as probabilidades de alterações metanucleares nas células da mucosa bucal considerando as características desse grupo amostral.

REFERÊNCIAS


1. ITU World Telecommunication /ICT Indicators database. Disponível em: <http://www.itu.int/ITU-D/ict/definitions/regions/index.html>. Acesso em 07 de julho de 2011.
2. OMS (Organização Mundial da Saúde), Electromagnetic fields and public health: mobile telephones and their base stations: fact sheet. nº. 193 (june 2000 revision), World Health Organization, 2000.
3. Lai H, Singh NP. Single and double strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int. Journal Radiation Biolog.* 1996 Apr; 69(4):513-21.
4. D'Ambrosio MB, Lioi MR, Scarfi O. Genotoxic effects of amplitude-modulated microwaves on human lymphocyte exposed *in vitro* under controlled conditions. *Electro-Magnetbiol.* 1995; 14:157-64.
5. Repacholi MH. Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic field: health effect and research needs. *Bioelectromagnetics.* 1998;19(1):1-19
6. Yadav AS, Sharma MK. Increased frequency of micronucleated exfoliated cells among humans exposed *in vivo* to mobile telephone radiations. *Mutation Research* 2008 Feb; 650:175-80.
7. Hintzsche H, Stopper H. Micronucleus frequency in buccal mucosa cells of mobile phone users. *Toxicology Letters* 2010 Mar; 193:124-30.
8. Andrade MGS, Reis SRA, Robinson WM, Borges-Osório MR. Micronúcleo: um importante marcador biológico intermediário na prevenção do câncer bucal. *Rev. Odonto Ciência* 2005 abr./jun; 20(48):137-141.

9. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res* 2000 Nov 20; 455(1-2):81-95.
10. Casartelli G, Monteghirfo S, De Ferrari M, Bonatti S, Scala M, Toma S et al. Staining of micronuclei in squamous epithelial cells of human oral mucosa. *Anal Quant Cytol Histol* 1997 dez; 19(6):475-81.
11. da Silva AE, Rados PV, da Silva Lauxen I, Gedoz L, Villarinho EA, Fontanella V. Nuclear changes in tongue epithelial cells following panoramic radiography. *Mutat Res*. 2007 Aug 15;632(1-2):121-5.
12. Cerqueira EM, Gomes-Filho IS, Trindade S, Lopes MA, Passos JS, Machado-Santelli GM. Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to x-rays during panoramic dental radiographies. *Mutat Res*. 2004 Aug 8;562(1-2):111-7.
13. Bohrer PL, Filho MS, Paiva RL, da Silva IL, Rados PV. Assessment of micronucleus frequency in normal oral mucosa of patients exposed to carcinogens. *Acta Cytol*. 2005 May-Jun;49(3):265-72.
14. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat Res*. 1992 Feb;271(1):69-77.
15. Ramires A. Análise de células metanucleadas de alcoólicos portadores de carcinomas orais. Thesis, USP/Universidade do Instituto de Biociências/ Área de Concentração Biologia (Genética), 2000.
16. Tezal M, Grossi SG, Ho AW, Genco RJ. The effect of alcohol consumption on periodontal disease. *J Periodontol*. 2001 Feb;72(2):183-9.
17. Khurana VG, Teo C, Kundi M, Hardell L, Carlberg M. Cell phones and brain tumors: a review including the long-term epidemiologic data. *Surg Neurol*. 2009 Sep;72(3):205-14.

18. Moulder JE, Foster KR, Erdreich LS, McNamee JP. Mobile phones, mobile phone base stations and cancer: a review. *Int J Radiat Biol.* 2005 Mar;81(3):189-203.
19. Kamboj M, Mahajan S. Micronucleus--an upcoming marker of genotoxic damage. *Clin Oral Investig.* 2007 Jun;11(2):121-6.
20. Pelliciolli ACA, Visioli F, Ferreira LA, Danilevicz CK, Carrard VC, Rados PV. Cytogenetic Abnormalities in Exfoliated Oral Mucosal Cells and Their Association with Oral Cancer. *Anal Quant Cytol Histol*, Forthcoming, 2011.
21. Tavares WML. Radiação das antenas do serviço móvel celular e seu tratamento na legislação brasileira e de outros países. Brasília – DF, câmara dos deputados, praça 3 poderes, consultoria legislativa, 2004.
22. Stich HF, Rosin MP. Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells. *Int J Cancer.* 1983 Mar 15;31(3):305-8.

ANEXO A

Carta de Aprovação do Comitê de Ética da UFRGS


UFRGS
 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: 17764

Título: Avaliação da frequência de micronúcleos, broken eggs e cariorrexe mucosa bucal de indivíduos expostos à radiação de telefonia móvel

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

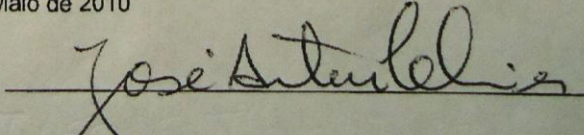
PANTELIS VARVAKI RADOS - coordenador desde 01/04/2010
 ISABEL DA SILVA LAUXEN - pesquisador desde 01/04/2010
 ALESSANDRA SELINGER MAGNUSSON - Auxiliar de Laboratório
 NATÁLIA BATISTA DAROIT - Aluno de Graduação desde 01/04/2010
 FRANCINNE MIRANDA DA ROSA - Aluno de Doutorado desde 01/04/2010

Equipe Externa:

GEILA RADUNZ VIEIRA - pesquisador desde 01/04/2010

O mesmo foi aprovado pelo Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs 27/05/2010 - Sala de Reuniões do Gabinete do Reitor (Ex Salão V andar, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo complementares do Conselho nacional de Saúde.

Porto Alegre, Quinta-Feira, 27 de Maio de 2010


 JOSE ARTUR BOGO CHIES
 Coordenador da comissão de ética

ANEXO B**FACULDADE DE ODONTOLOGIA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Caro participante,

Esta pesquisa, cujo título é: **AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS, *BROKEN EGGS* E CARIORREXE EM CÉLULAS ESFOLIADAS DA MUCOSA BUCAL DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À RADIAÇÃO DE TELEFONIA MÓVEL**, realizada na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), justifica-se pelo aumento do uso de telefonia celular, o que causa uma preocupação na comunidade científica sobre os efeitos da radiação destes aparelhos, nos tecidos humanos. O objetivo deste estudo é avaliar a ação da radiação não ionizante proveniente de telefones celulares no núcleo das células da mucosa bucal clinicamente normal.

Primeiro você responderá a uma entrevista com perguntas sobre seus hábitos e condição sócio-econômica.

Após, serão retiradas com uma escova citológica células de seu lábio inferior, parte lateral da língua e assoalho bucal (porção abaixo de sua língua). Estas células serão colocadas sobre uma lâmina de vidro, coradas e analisadas as alterações normalmente associadas a agentes que causam danos ao DNA.

A remoção dessas células da sua mucosa pode gerar uma leve sensibilidade na região em função do atrito da escova citológica.

Você não terá nenhuma despesa ao participar desta pesquisa. Se for encontrada alguma alteração microscópica você será devidamente informado e instruído a procurar atendimento médico especializado, além disso, será monitorado pelo setor de Patologia Bucal desta Faculdade com exames periódicos.

Ao assinar este consentimento, declaro que fui esclarecido de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento, dos objetivos e dos procedimentos que serei submetido pelo presente projeto de pesquisa.

Sei que terei a garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;

Sei que não serei identificado e, que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade.

Tenho liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto me traga prejuízo.

Há o compromisso de este grupo de pesquisa me proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo.

O pesquisador responsável por este projeto de pesquisa é Dr. Pantelis Varvaki Rados (fone: 51.3308.5023 ou 51.3308.5011).

Nome e Assinatura do voluntário

Data: _____ Telefone: _____

Observação: o presente documento, baseado no item IV das Diretrizes e Normas Regulamentares para Pesquisa em Saúde do Conselho Nacional de Saúde (resolução a96/96), será assinado em duas vias, de igual teor, ficando uma em poder do paciente e a outra do pesquisador responsável.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, telefone: 51.3308.3629

ANEXO C**QUESTIONÁRIO**1. Dados Pessoais

1.1. Nome _____

1.2. Telefone _____

1.3. Sexo: 1() masculino 2() feminino

1.4. Qual sua data de nascimento: _____

1.5. A sua raça ou cor é

1() branca 2() negra 3() parda 4() amarela 5() indígena

2. Fatores comportamentais

2.1 Você fumou anteriormente 1() sim 2() não

2.2 Quantos cigarros por dia _____

2.3 Por quantos anos _____

2.4 Quanto tempo faz que você parou de fumar _____

2.5 Você toma chimarrão:

1() freqüentemente 2() algumas vezes 3() raramente 4() nunca

2.6 Você ingere bebidas alcoólicas:

1() freqüentemente 2() algumas vezes 3() raramente 4() nunca

2.7 Qual tipo de bebida:

1() nenhum 2() cerveja 3() cachaça 4() vinho

5() outros _____

2.8 Quantas doses/copos você ingere por semana: _____

2.9 Com relação ao uso do celular:

2.9.1 Há quantos anos você possui telefone celular? _____

2.9.2 Em média, por semana, quanto tempo você usa o telefone celular? _____

3. Nível Socioeconômico

Com relação a esses aparelhos, você possui algum?

3.1 Televisão 1()sim 2()não Quantas:_____

3.2 Rádio 1()sim 2()não Quantos:_____

3.3 Computador 1()sim 2()não Quantos:_____

3.4 Microondas 1()sim 2()não Quantos:_____

4. História Médica

Você tem:

4.1 Diabetes 1()sim 2()não

4.2 Asma, alergias 1()sim 2()não

4.3 Doença cardíaca ou renal 1()sim 2()não

4.4. Artrite 1()sim 2()não

4.5 Outro problema de saúde 1()sim 2()não Qual?_____

4.6 Está usando alguma medicação 1()sim 2()não Qual?_____

ANEXO D

REAÇÃO DE FEULGEN

Protocolo indicado pelo fabricante, Merck

- Ácido Hidroclorídrico 5M a 22 °C (+/- 0,5°C) 50 min
- Lavagem em água destilada 2 min
- Lavagem em água destilada 2 min
- Reagente de Schiff 60 min
- Lavagem em solução de Metabisulfito de sódio* 3 min
- Lavagem em solução de Metabisulfito de sódio* 3 min
- Lavagem em água destilada 2 min
- Lavagem em água destilada 2 min
- Etanol 50% 1 min
- Etanol 70% 1 min
- Etanol 80% 1 min
- Etanol 99% 1 min
- Xilol 10 min
- Xilol 10 min

*Metabisulfito de sódio concentrado 5 ml + Água destilada 95ml + ácido clorídrico 5M
1m