

MICRONÚCLEOS EM FUMANTES E ETILISTAS

*Fabiola Jardim Barbon^a, Paula Wiethölter^b, Alessandra Burille^c, Daiane Casarin^c,
Caroline Solda^d, Ricardo Antunes Flores^b, Clarice Elvira Saggin Sabadin^e*

^aCirurgiã dentista, aluna de especialização CEOM e mestranda na Universidade Federal de Pelotas UFPEL

^bDocente da Escola de Odontologia da Faculdade Especializada na Área da Saúde do Rio Grande do Sul (FASURGS), Passo Fundo, RS, Brasil

^cAcadêmica da Escola de Odontologia da Faculdade Meridional (IMED), Passo Fundo, RS, Brasil

^dCirurgiã-dentista e mestranda do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

^eDocente da Escola de Odontologia da Faculdade Meridional (IMED), Passo Fundo, RS, Brasil

RESUMO

Os micronúcleos são fragmentos de DNA que se separam do núcleo resultando em instabilidade celular. O seu aparecimento pode estar associado a exposição a substâncias genotóxicas, tais como o álcool e o cigarro. O objetivo deste trabalho foi avaliar, em uma população ao acaso, se a exposição social a estes fatores implicaria na formação de micronúcleos. Para isso, foram coletadas células da mucosa oral de sujeitos entre 18 e 83 anos. Os resultados das análises celulares foram associados às informações fornecidas pelos sujeitos em seus respectivos prontuários odontológicos. Os resultados demonstraram que 100% dos sujeitos que apresentaram micronúcleos eram fumantes e/ou etilistas. Entretanto, entre os sujeitos não fumantes e não etilistas, 17% também apresentaram micronúcleos, indicando que outros fatores poderiam ser responsáveis pelo desenvolvimento destas alterações nestes sujeitos. Nossos resultados indicam que o consumo destas substâncias parece representar uma condição necessária para promover a instabilidade celular, porém não suficiente, pois outros fatores também podem estimular a sua formação.

Palavras-chave: Micronúcleo, mucosa bucal, tabaco, alcoolismo.

INTRODUÇÃO

A população está continuamente exposta a diversas substâncias tóxicas, de forma consciente ou inconsciente. Entre estas substâncias, o álcool e o cigarro figuram entre os mais comuns. Entretanto, apesar de serem considerados fatores de risco ao desenvolvimento de diversos tipos de cânceres ou outras doenças, estas substâncias são utilizadas de forma expressiva pela população.

De acordo com Martins e Filho (1), indivíduos geneticamente sensíveis a agentes genotóxicos tais como radiações, drogas e vírus, podem apresentar danos no DNA genômico, levando aos mais diversos tipos de alterações celulares. Entre estas alterações se destaca a micronucleação.

Os micronúcleos são fragmentos de cromatina que se perdem durante o processo de divisão celular, dias ou semanas após a exposição a substâncias genotóxicas. Eles são considerados importantes indicadores de danos citogenéticos, podendo ser observados em diferentes tipos celulares, como em células da medula, do sangue e em células da mucosa bucal (2).

Na cavidade bucal, a formação de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa tem sido utilizada como marcador biológico intermediário para avaliar o efeito preventivo de protocolos de quimioprevenção ou o grau de comprometimento da mucosa bucal (2).

A vantagem deste tipo de análise é sua capacidade de verificar, *in vivo*, a mucosa que está simultaneamente sendo exposta a carcinógenos,

co-carcinógenos e antioxidantes, possibilitando mensurar de forma rápida a frequência de alterações no núcleo da célula. Além disso, o micronúcleo surge após o dano, antes mesmo de qualquer alteração pré-maligna clínica (2).

Diversas doenças têm sido investigadas quanto a sua relação com a presença de micronúcleos, sendo que algumas já tiveram a sua confirmação efetivada e outras precisam de mais pesquisas. Entre as confirmadas figuram a AIDS, a Doença de Alzheimer e diversos tipos de cânceres, tais como de colo de útero, esôfago e boca (2-6).

A identificação de micronúcleos pode ser realizada por meio de uma técnica rápida e de baixo custo. Sendo assim, o emprego desta metodologia torna-se um importante aliado ao diagnóstico precoce do câncer. Os micronúcleos, em geral, podem desaparecer quando a substância genotóxica deixa de ser utilizada, reforçando a importância da sua identificação precoce quando o indivíduo encontra-se em exposição (2).

O álcool e o cigarro são considerados agentes celulares nocivos, responsáveis pela expressão de diversas doenças graves. Compreender a intensidade, a evolução e posteriormente o significado dos danos biológicos provocados por estas exposições é fundamental para alertar a população quanto a necessidade de evitar o contato com estas substâncias.

Neste trabalho nós analisamos, em uma população aleatória de pacientes de uma clínica odontológica, se a presença de micronúcleos na mucosa bucal estava associada às informações prestadas anteriormente pelos sujeitos participantes, associadas principalmente ao consumo de álcool e cigarro, registradas nos seus prontuários odontológicos.

Aqui nós mostramos que todos os indivíduos que apresentaram micronúcleos nas células da mucosa bucal faziam uso de álcool e/ou cigarro, indicando que estas substâncias oferecem condições suficientes para promover esta alteração. Por outro lado, também mostramos que não fazer uso destas substâncias não garante que estas alterações não ocorram, uma vez que outros agentes genotóxicos também podem provocá-las.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Foram coletados dados e células de

37 pacientes de uma Clínica Odontológica, sendo 19 do sexo masculino e 18 do sexo feminino. Para cada indivíduo foram coletadas células para a confecção de três lâminas de material esfoliativo, fazendo uso de escova de cerdas macias na mucosa da língua, gengiva, bochechas e palato. As lâminas foram congeladas à -4°C. Para a análise, as lâminas foram retiradas do refrigerador e mantidas em temperatura ambiente por 10 minutos. Em seguida foram submersas em fixador 3:1 (metanol: ácido acético), coradas com Giemsa 5% por cinco minutos e lavadas com água destilada. As lâminas foram mantidas em temperatura ambiente até a secagem completa. Foram analisadas 200 células por lâmina ao microscópio óptico.

Para serem classificados como micronúcleos, as estruturas observadas apresentaram as seguintes considerações (7,8): ser menor que um terço () do diâmetro do núcleo principal, estar no mesmo plano (foco), apresentar cor e textura semelhantes ao núcleo, forma ovalada ou arredondada e estar claramente separado do núcleo principal.

Os resultados foram submetidos a uma análise estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação a caracterização da amostra, 35% dos sujeitos eram mulheres e 65% homens. Os participantes tinham em média 42 anos, variando entre 18 e 83.

Em relação ao hábito de consumir pelo menos, socialmente, álcool e ou cigarro, observou-se que, aproximadamente 46% dos sujeitos declararam não utilizar estas substâncias. Entre estes, 47% eram mulheres e 53% homens. Entre os que declararam fazer uso destas substâncias, 70% eram homens e 30% mulheres.

Em relação aos micronúcleos, 32% dos sujeitos apresentaram entre um e 10 micronúcleos a cada 200 células analisadas. Em relação aos dados coletados nos prontuários, todos estes sujeitos declararam utilizar álcool e/ou cigarro. Entre os sujeitos que declararam não utilizar estas substâncias, 17% apresentaram entre um e 10 micronúcleos a cada 200 células analisadas.

Estes resultados indicam que o álcool e o cigarro podem representar condições suficientes para desenvolver micronúcleos, como observado entre os sujeitos que se declararam usuários destas substâncias. Entretanto, também indicam que

o álcool e o cigarro não representam as condições necessárias, como observado entre os sujeitos de declararam não utilizar estas substâncias, porém apresentaram micronúcleos. Sendo assim, é possível que outros fatores também possam provocar o seu aparecimento. Estes fatores podem estar associados à enxaguatórios bucais, devido ao alto índice de álcool em suas formulações; radiações, não ionizantes e ionizantes; dieta, como as ricas em gordura animal e também os fatores genéticos de cada indivíduo (9-12,14).

O consumo de álcool e cigarro tem sido associado ao desenvolvimento de micronúcleos, assim como de outras alterações celulares e nucleares. As principais alterações celulares incluem núcleos irregulares, mitocôndrias pleiomórficas, retículo endoplasmático reduzido e aparelho de Golgi distorcido (14). Estas alterações têm sido observadas em pacientes com diversos tipos de doenças como AIDS e Doença de Alzheimer, e também em diversos tipos de câncer, tais como de pele, oral, esôfago e colo do útero (2-6), indicando ser um eficiente marcador para instabilidade celular e, conseqüentemente, um indicador de que algo no organismo do indivíduo não vai bem.

Estudos indicam que os micronúcleos se desenvolvem a partir de exposições contínuas, podendo desaparecer quando o agente genotóxico deixa de ser utilizado (2). Sendo assim, este tipo de análise simples e de baixo custo poderia ser utilizado como um exame rotineiro nas clínicas odontológicas, auxiliando o paciente no controle do que os seus hábitos podem provocar nas células da mucosa oral. Em geral, a população acredita que os maus hábitos nunca lhes provocarão qualquer malefício e, quando descobrem uma doença, ela já está, muitas vezes, em um estágio muito avançado.

Entretanto, havendo a possibilidade de demonstrar biologicamente e precocemente que o uso deste tipo de substâncias genotóxicas, como o álcool e o cigarro, está iniciando um processo de alteração celular (que pode estar associado a algum tipo de câncer), é possível que um número significativo de sujeitos passasse a refletir com mais seriedade em relação ao que os maus hábitos estão lhes provocando.

Com isso, levando em consideração que a retirada do agente causador pode promover uma estabilização celular (13,14), é possível que o número de casos de pacientes com câncer de boca, por exemplo, se reduza na mesma medida em que

seja possível conscientizá-los precocemente, ou seja, a partir da identificação das primeiras células apresentando algum tipo de instabilidade celular.

CONCLUSÕES

O álcool e o cigarro promovem a instabilidade celular, porém, outros agentes genotóxicos também podem provocá-la.

A presença de alterações celulares como a presença de micronúcleos não garante que o sujeito desenvolverá alguma doença, entretanto, pode representar um sinal de instabilidade importante. Descobrir o que ocorre com a célula que sofreu a alteração, se propagará tal instabilidade ou se sofrerá morte celular é um caminho importante a ser seguido pelos cientistas.

REFERÊNCIAS

1. Martins KF, Filho, J.B. Determinação da frequência de micronúcleos e outras alterações nucleares em células da mucosa bucal de indivíduos não-fumantes e fumantes, *Rev Fac Ciênc Méd* 2003; 5: 43-53.
2. Setúbal, AMG, Reis SRA, Robinson WM, Borges-Osório MR. Micronúcleo: um importante marcador biológico intermediário na prevenção do câncer bucal, *Rev Odonto Ciência- Fac.Odonto/PUCRS* 2005; 20: 137-41.
3. Melo Junior MRM, Araujo Filho JLS, Telles MAS, Pontes Filho NT. Avaliação Histomorfométrica de Micronúcleos e Colágeno como Métodos Adicionais no Diagnóstico Diferencial de Neoplasias Cutâneas, *Arquiv Ciênc Saúde* 2009; 16: 48-50.
4. Campos LMFR, Dias FL, Antunes LMG, Murta EFC. Prevalence of micronuclei in exfoliated uterine cervical cells from patients with risk factors for cervical cancer. *Med J* 2008; 126: 323-8.
5. Mendes CF, Gardinalli Filho G, Faroni RM, Miranda LVV, Bosquini Filho J, Sampaio Neto LF. Micronúcleos em células do colo uterino em mulheres HIV+ segundo sua condição de imunidade. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2011; 33: 305-9.
6. Misulis KE, Head TC. *Netter Neurologia Essencial*, Edt. Elsevier 2008: 116-22.
7. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: method development. *Mutat Res* 1992: 69-7.

8. Titenko-Holland N, Jacob RA, Shang N, et al. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mutat Res* 1998; 101-14.
9. Kignel S. *Estomatologia: bases do diagnóstico para o clínico geral*. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2007. p.450.
10. Pereira CCT, Dias AA, Melo NS, Lemos Junior CA, Oliveira EMF. Abordagem do câncer da boca: uma estratégia para os níveis primário e secundário de atenção em saúde. *Caderno Saúde Pública* 2012; 28: 530-39.
11. Villalba JP. *Odontologia e saúde geral*. São Paulo: Livraria Santos Editora, 2008. p189.
12. Leite ANE, Guerra ENS, Melo NS. Fatores de risco relacionados com o desenvolvimento do câncer bucal: revisão. *Rev. de Clín. Pesq. Odontol* 2005; 1: 31-6.
13. Oliveira NFP, Planello AC, Andia DC, Pardo APS. Metilação de DNA e câncer. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2010; 56: 493-99.
14. Silva MM, Silva VH. Envelhecimento: fator importante de risco para o câncer. *Arq Med ABC* 2005; 30: 11-8.

Micronuclei in smokers and alcoholics

ABSTRACT

Micronuclei are DNA fragments that separate from cell nucleus resulting in cell instability. Its appearance may be associated with exposure to genotoxic substances such as alcohol and cigarettes. The objective of this study was to evaluate, in a population at random, if the exposure to these factors implies in formation of micronuclei. For this, mouth mucosal cells were sampled from people between 18 and 83 years old. The results of cell analyzes were associated with the information provided by the individuals in their dental records. The data showed that 100% of the persons with micronuclei were smokers and/or alcoholics. However, among non-smoking subjects and non-alcoholic, 17% also had micronuclei, indicating that other factors could be responsible for the development of these changes in these subjects. Our results indicate that use of these substances appears to represent a necessary condition to promote cell instability, but other factors may also stimulate micronuclei formation.

Keywords: micronuclei, mouth mucosa, tobacco, alcoholism

Autor correspondente:

Fabiola Jardim Barbon
 Rua Uruguai, 920, Petrópolis, CEP 99050-030
 E-mail: <fabi_barbon@hotmail.com>