



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE  
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

**HORRANA LAIS DANTAS DIAS**

**TESTE DE MICRONÚCLEO COMO BIOMARCADOR PARA  
DETECÇÃO DOS DANOS GENOTÓXICOS CAUSADOS PELO  
TABAGISMO**

CUITÉ – PB  
2022

**HORRANA LAIS DANTAS DIAS**

**TESTES DE MICRONÚCLEO COMO BIOMARCADOR PARA  
DETECÇÃO DOS DANOS GENOTÓXICOS CAUSADOS PELO  
TABAGISMO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito obrigatório da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Júlia Beatriz Pereira de Souza

CUITÉ-PB

2022

D541t

Dias, Horrana Lais Dantas.

Testes de micronúcleo como biomarcador para detecção dos danos genotóxicos causados pelo tabagismo / Horrana Lais Dantas Dias. - Cuité, 2022.

32 f. il. color.

Monografia (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2022.

"Orientação: Profa. Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza."

Referências.

1. Câncer. 2. Cessão Tabágica. 3. Tabagismo. 4. Genotoxicidade. I. Souza, Júlia Beatriz Pereira de. II. Título.

CDU 616-006.6(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE - CES  
Sítio Olho D'água da Bica, - Bairro Zona Rural, Cuité/PB, CEP 58175-000  
Telefone: (83) 3372-1900 - Email: uas.ces@setor.ufcg.edu.br

## REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

HORRANA LAIS DANTAS DIAS

### TESTE DE MICRONÚCLEO (MN) COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DOS DANOS GENOTÓXICOS CAUSADOS PELO TABAGISMO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 26/07/2022.

#### BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Júlia Beatriz Pereira de Souza

Orientador(a)

Profª Drª Glaucia Verissimo Faheina Martins

Avaliador(a)

Profª Drª Vanessa Carvalho Nilo Bitu

Avaliador(a)



Documento assinado eletronicamente por **JULIA BEATRIZ PEREIRA DE SOUZA, PROFESSOR 3 GRAU**, em 26/07/2022, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **VANESSA DE CARVALHO NILO BITU, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 26/07/2022, às 18:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **GLAUCIA VERÍSSIMO FAHEINA MARTINS, Usuário Externo**, em 29/07/2022, às 10:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **2577899** e o código CRC **D11220D8**.

Dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos que estiveram ao lado, especialmente aos meus amados pais, Orlando e Maria da Guia, eles que me deram todo suporte e apoio para que eu conseguisse realizar o sonho de concluir a graduação, prometo fazer valer todo o esforço dedicado.

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus, ele me deu forças e coragem para enfrentar toda essa caminhada de graduação, me manteve firme mesmo nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Maria da Guia Dantas Dias e José Orlando Dias, que estiveram sempre apoiando todos os meus objetivos e não mediram esforços para que eu pudesse realizá-los. São minha fonte de orgulho e inspiração. Aos meus irmãos, Ruana Mallu e Fernando Erick, minha sobrinha Ana Lais, e a todos os meus familiares e amigos que torcem pelo meu sucesso.

A Breno Ferreira, meu companheiro de vida, namorado e melhor amigo, a quem eu confidencio diariamente todos os meus planos e sonhos. Apesar das adversidades vivenciadas, conseguimos supera-las e hoje é meu ponto de apoio.

Quero agradecer imensamente a todos aqueles que de alguma forma contribuiu com meu crescimento profissional e pessoal. Em especial a professora Dra. Glaucia Faheina, que me deu a oportunidade de participar de projetos de pesquisa, sou muito grata por todos os ensinamentos, um exemplo de ser humano e profissional. A professora Dra. Júlia Beatriz, por ter aceitado me orientar, um exemplo de profissionalismo, paciência e tranquilidade, adjetivos esses que com certeza irei me espelhar para se tornar a farmacêutica que pretendo ser.

A Jussiara Garcia por sempre me ouvir, me entender e me aconselhar. Esteve sempre ao meu lado e sempre acreditou em mim. A Priscila, amiga e supervisora de estágio, que tanto admiro sua garra e perseverança.

Enfim, sou muito grata a vida por ter sido tão generosa comigo, por todas as oportunidades, amizades e relacionamentos construídos, me sinto abençoada por ter pessoas maravilhosas no meu ciclo e que assim permaneça. A caminhada é longa, mas valerá a pena, e eu tenho muita fé que, se Deus permitir com muita saúde, essa conquista será a primeira de muitas.

“Ninguém vai bater mais forte do que a vida. Não importa como você bate e sim o quanto aguenta apanhar e continuar lutando; o quanto pode suportar e seguir em frente, é assim que se ganha”.

Sylvester Stallone

## RESUMO

O tabagismo é uma doença crônica considerada mundialmente como a principal causa de morte evitável. A prática tabágica expõe o corpo humano a milhares de compostos nocivos responsáveis pelo aparecimento de diversas doenças crônicas e neoplásicas. O câncer é uma doença multifatorial que está sempre associada a doença genética, iniciando com dano ao DNA. O monitoramento de lesões celulares tem sido útil como forma de identificar e prevenir o desenvolvimento de processos carcinogênicos. Com isso, o objetivo desse trabalho foi utilizar a técnica de micronúcleo e avaliar o seu potencial como biomarcador de genotoxicidade causada pelo cigarro e outros fatores associados. A metodologia foi realizada por meio da análise de esfregaço de células da mucosa bucal coradas com azul de metileno e avaliação da presença de micronúcleos, juntamente com aplicação de questionários. Os dados demonstram que houve um aumento no número de micronúcleos nas células de pessoas fumantes ( $p < 0,0001$ ), seguida pelos fumantes passivos ( $p < 0,001$ ) e ex-fumantes ( $p < 0,01$ ), respectivamente, quando comparados com pessoas não fumantes. Não foi observada relação de aumento de micronúcleos com os fatores intrínsecos, como tempo de uso do cigarro, idade, sexo ou consumo de bebidas alcoólicas. Após a cessação do tabaco os danos ao DNA estavam presentes em menor proporção que nos fumantes, mas continuaram aumentados quando comparados ao grupo não fumantes. Assim, pode-se confirmar a eficiência do teste de MN como bioindicador de lesões em células bucais, reafirmar a relação significativa do tabagismo com a genotoxicidade, além de estar relacionado com o surgimento de diversas enfermidades crônicas, a toxicidade causada pela fumaça do cigarro em fumantes passivos também foi comprovada a partir dos resultados.

**Palavras-chave:** Câncer. Cessação tabágica. Tabagismo. Genotoxicidade.

## ABSTRACT

Smoking is a chronic disease considered worldwide as the leading cause of preventable death. Tobacco practice exposes the human body to thousands of harmful compounds responsible for the emergence of several chronic and neoplastic diseases. Cancer is a multifactorial disease that is always associated with genetic disease, starting with DNA damage. The monitoring of cellular injuries has been useful as a way to identify and prevent the development of carcinogenic processes. Thus, the objective of this work was to use the micronucleus technique and evaluate its potential as a biomarker of genotoxicity caused by cigarettes and other associated factors. The methodology was carried out through the analysis of smears of cells from the oral mucosa stained with methylene blue and evaluation of the presence of micronuclei, together with the application of questionnaires. Our data demonstrate that there was an increase in the number of micronuclei in the cells of smokers ( $p < 0.0001$ ), followed by passive smokers ( $p < 0.001$ ) and ex-smokers ( $p < 0.01$ ), respectively, when compared to non-smoking people. There was no relationship between the increase in micronuclei and intrinsic factors, such as time of cigarette use, age, sex or consumption of alcoholic beverages. After smoking cessation, DNA damage was present to a lesser extent than in smokers, but continued to be increased when compared to the non-smoking group. Thus, we can confirm the efficiency of the MN test as a bioindicator of lesions in oral cells, reaffirm the significant relationship between smoking and genotoxicity, in addition to being related to the emergence of several chronic diseases, the toxicity caused by cigarette smoke in passive smokers was also proven from the results.

**Keywords:** Cancer. Tobacco Use Cessation. Tobacco Use Disorder. Genotoxicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Célula epitelial escamosa com presença de micronúcleo.....	20
Figura 2 - Células da mucosa bucal com um MN ou mais de um MN.....	30
Figura 3 - Avaliação da presença de micronúcleos entre os voluntários fumantes, não fumantes e ex-fumantes. ....	31
Figura 4 - Gráfico de avaliação da presença de micronúcleos de acordo com o tempo de exposição ao cigarro (A) e o tempo de cessação tabágica (B).....	32
Figura 5 - Gráfico de avaliação da influência da idade (A) e gênero (B) na quantidade de micronúcleos em células da mucosa bucal dos voluntários fumantes.....	33
Figura 6 - Gráfico de avaliação da presença de micronúcleos relacionado ao hábito de fumar ou fumar e fazer uso de bebida alcoólica. ....	33

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

MN - Micronúcleo

INCA - Instituto Nacional do Câncer

WHO - World Health Organization

CO - Monóxido de carbono

pH - Potencial hidrogeniônico

SUS - Sistema único de saúde

OMS - Organização Mundial de Saúde

DNA – Ácido desoxirribonucleico

PB- Paraíba

DP- Desvio padrão

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>13</b>
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1 Tabagismo ativo e passivo.....</b>	<b>14</b>
3.1.1 Tabagismo passivo .....	14
<b>3.2 Nicotina.....</b>	<b>15</b>
3.2.1 Dependências química à nicotina .....	15
3.2.2 Álcool e nicotina.....	15
<b>3.3 Cessação do tabagismo .....</b>	<b>18</b>
<b>3.4 Riscos à saúde .....</b>	<b>19</b>
3.4.1 Câncer.....	19
<b>3.5 Teste de Micronúcleo (MN) como biomarcador de lesões ao DNA .....</b>	<b>20</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Caracterização dos voluntários .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Agrupamento dos voluntários .....</b>	<b>27</b>
<b>4.3 Procedimento da técnica de micronúcleo (MN).....</b>	<b>27</b>
<b>4.4 Análises microscópica e estatística.....</b>	<b>28</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos para o fumo são produzidos principalmente a partir das folhas da planta *nicotiana tabacum*, popularmente conhecida como tabaco, sua comercialização iniciou-se no final do século XIX. Durante a década de 60 surgiu os primeiros relatos sobre os efeitos nocivos do cigarro para a saúde humana (DUARTE; OLIVEIRA; SILVA, 2021). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2022), o tabagismo trata-se de uma condição clínica de caráter crônico resultante da dependência da nicotina, substância química psicoativa presente em produtos derivados do tabaco. Atualmente, o hábito de fumar é a principal causa de óbitos evitáveis em escala global (SALES *et al.*, 2019).

Essa prática expõe o corpo humano a mais de sete mil substâncias químicas tóxicas presentes na fumaça. A exposição pode ocorrer de modo ativo pelo ato de fumar ou por pessoas não fumantes de modo passivo pela inalação da fumaça presente no ambiente (AL-BASHAIREH *et al.*, 2018). Segundo a World Health Organization (WHO, 2021), a epidemia do tabaco causa mundialmente mais de 8 milhões de óbitos, onde aproximadamente 15% são resultados da exposição passiva.

O contato frequente, ativamente ou passivamente, ao tabaco fumado está relacionado com o aparecimento de diversas enfermidades em diferentes sistemas e órgãos do corpo humano (INCA, 2021). “Causa diabetes, debilidade do sistema imunológico, aumento do risco de tuberculose, problemas de fertilidade, provoca acidentes cerebrovasculares em pessoas não fumantes pela exposição passiva” (HCS, 2014), além de contribuir para o surgimento de diversos tipos de câncer, como por exemplo, leucemia mielóide aguda, de rim, de boca, faringe, estômago, colorretal, bem como câncer de pulmão (INCA, 2021).

O câncer ou neoplasia é caracterizada pela sua rápida criação de células anormais que surgem a partir de danos no DNA, elas crescem descontroladamente e invadem tecidos e órgãos vizinhos, fenômeno conhecido como metástase. Essa enfermidade é a segunda principal causa de mortalidade no mundo, sendo o tabagismo o principal fator de risco (OMS, 2020).

Os danos ao DNA das células humanas surgem bem antes dos sinais clínicos das neoplasias, sendo assim tornando importante a prevenção e o diagnóstico precoce (KOKILA *et al.*, 2021). Os produtos à base de tabaco possuem agentes químicos que causam efeitos genotóxicos para o ser humano que entra em contato com a fumaça do mesmo, esses efeitos podem ser avaliados utilizando células epiteliais esfoliadas da mucosa oral (NEZHAD; NEDERI; SEMYARI, 2020).

As células bucais são alvos de pesquisa por serem consideradas um local preferencial para ocorrer os eventos genotóxicos. A contagem de Micronúcleo (MN) é bastante utilizada principalmente no rastreamento do câncer bucal (UPADHYAY *et al.*, 2019). Os MN são elementos genéticos resultantes de cromossomos íntegros ou da quebra cromossômica. Estes elementos não são transmitidos às células filhas durante a divisão celular (DIETZ *et al.*, 2000; UPADHYAY *et al.*, 2019).

O teste de MN é uma técnica simples avaliativa dos efeitos genotóxicos, não invasiva e confiável, rastreia alterações cromossômicas bem antes dos sinais clínicos ou histológicos de câncer ser evidente (SINGAM *et al.*, 2019). Segundo Ferigolo e Sagrillo (2013), a presença de MN em células esfoliadas pode determinar o grau de lesões provocadas por um agente genotóxico ao genoma, servindo como potencial indicador do desenvolvimento de neoplasias malignas.

Nesse sentido, o presente estudo julga-se necessária a busca por métodos eficazes de detecção de possíveis processos carcinogênicos associados ao tabagismo que possam ser utilizados como meio de rastreamento. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial do teste de MN como biomarcador para identificar a genotoxicidade em células epiteliais esfoliadas bucais de tabagistas ativos e passivos expostos a produtos fumados, identificar a relação da cessação da exposição ao tabaco com a diminuição de danos ao genoma por meio da pontuação de MN dos ex-fumantes, bem como verificar se os danos estão associados a outros fatores intrínsecos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Verificar a eficiência do teste de Micronúcleo como um indicador de genotoxicidade em células epiteliais esfoliadas bucais dos tabagistas e ex-fumantes.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a aplicabilidade do teste de micronúcleo como biomarcador de danos genéticos em células epiteliais da mucosa bucal corada com azul de metileno,
- verificar o efeito genotóxico do cigarro em fumantes ativos e passivos usando a contagem de micronúcleos em células epiteliais da mucosa bucal,
- identificar a influência do álcool, idade e gênero entre os fumantes ativos do cigarro, e
- determinar se a prática de cessação tabágica causa redução na contagem de MN no grupo de ex-fumantes.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Tabagismo ativo e passivo

O tabagismo classifica-se como sendo uma doença crônica causada pela dependência da nicotina, substância psicoativa presente nos produtos à base de tabaco, podendo ser responsável por transtornos mentais e comportamentais, além de induzir outras enfermidades e neoplasias. No mundo, o número de óbitos por ano decorrente do hábito de fumar ultrapassa 8 milhões (WHO, 2021). O Brasil registra, por ano, aproximadamente 162 mil óbitos decorrente do uso do tabaco causando mais de R\$ 125 bilhões de gastos aos cofres públicos (BRASIL, 2021).

Os produtos oriundos das folhas da planta *nicotiana tabacum* (DUARTE; OLIVEIRA; SILVA, 2021) são vendidos principalmente para adolescentes e grupos vulneráveis. A acessibilidade, preço baixo e facilidade na compra desses produtos faz com que cada vez mais jovens consumam o tabaco (DROPE *et al*, 2018; OLIVEIRA, 2018). A mercadoria varia suas formas de uso, dentre eles existem: o fumado/inalado, exemplos: cigarro, cachimbo e charuto, mais comum no Brasil; o aspirado; mascado e absorvido pela mucosa oral. Todas as formas de produção dessas drogas englobam, além da nicotina, milhares de substâncias tóxicas (INCA, 2020).

##### 3.1.1 Tabagismo passivo

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2022a), o tabagismo passivo “é a inalação da fumaça de derivados do tabaco por indivíduos não fumantes que convivem com fumantes em ambientes fechados”. O número de mortalidade e morbidade é altíssimo dentro dos países. No mundo, os grupos socioeconômicos mais baixos e mulheres não fumantes são os mais afetados a exposição passiva. Em 2016 o número de mortes estimado foi de 884.000, onde aproximadamente 64,8% eram do sexo feminino (DROPE *et al*, 2018).

A fumaça inalada pelo fumante passivo há em média 3x mais nicotina e 50 vezes mais substâncias cancerígenas em relação a fumaça que o fumante inala (BRASIL, 2020). Além da nicotina, a fumaça contém duas substâncias tóxicas principais: o alcatrão e o monóxido de carbono (CO). O alcatrão presente na fumaça induz insuficiência respiratória e neoplasias. O CO dificulta o bombeamento de sangue com oxigênio para o cérebro e outras partes do corpo. (SARMENTO *et al.*, 2019).

## 3.2 Nicotina

A fumaça do cigarro contém milhares de substâncias químicas. Contudo, a nicotina é a principal droga responsável pela dependência química dos produtos à base de tabaco, além de vários outros danos à saúde do ser humano. A nicotina é um alcaloide orgânico encontrado nas folhas das plantas do gênero *Nicotiana* numa concentração aproximadamente entre 2% e 8% (SARMENTO *et al.*, 2019).

Rosemberg (2003) aponta os principais riscos à saúde causadas pela nicotina. Os riscos diretos incluem a hipertensão, aterosclerose, espessamentos da parede das artérias e sua obliteração, impotência, doenças coronárias, angina do peito, infarto do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais. Os riscos indiretos estão relacionados com a participação em processos oncogênicos, redução dos estrógenos e da fertilidade em mulheres, na gestação pode afetar diretamente o feto podendo causar morte súbita infantil.

### 3.2.1 Dependências química à nicotina

A dependência é o efeito mais grave causado pela nicotina, substância psicoativa estimulante do sistema nervoso central. Essa dependência físico-química e comportamental se inicia a partir da chegada ao cérebro, ativando o sistema de recompensa dopaminérgico e aumentando a concentração de dopamina, processo semelhante ao que acontece no organismo com a utilização do etanol, heroína e cocaína (OLIVEIRA, 2018). A dopamina é um neurotransmissor responsável pela sensação de prazer, satisfação, melhora da atenção, aprendizado e memória, fazendo com que o fumante se torne dependente da substância em questão (SARMENTO *et al.*, 2019).

### 3.2.2 Álcool e nicotina

O fumo associado com as bebidas alcoólicas reforçam os efeitos nocivos ao fumante. A nicotina é metabolizada principalmente no fígado e excretada pelos rins por filtração glomerular e secreção tubular. A velocidade da excreção depende do pH em que a urina se encontra. A alcalinada permite altas concentrações da nicotina por mais tempo na corrente sanguínea, o contrário acontece em casos de acidificação. O álcool diminui o pH da urina, conseqüentemente diminui a concentração de nicotina no sangue, obrigando o fumante diminuir os intervalos entre os cigarros fumados (ROSEMBERG, 2003).

### 3.3 Cessação do tabagismo

Uma alternativa para redução da mortalidade e adoecimento da população causada pelo tabaco é prevenir o início da prática tabagista e aumentar a cessação do tabagismo (TRAN *et al.*, 2019). A cessação é a melhor estratégia para o controle do tabaco. No Brasil, o sistema único de saúde (SUS) oferece tratamento desde 2001, métodos seguros e com eficácia comprovada. No ano de 2018, 163.995 pacientes foram até o SUS em busca de ajuda para cessar o fumo. No ano seguinte houve um aumento de 46.946 pacientes. Contudo, no ano de 2020 houve um declínio no número de pessoas atendidas. Esse declínio é justificado pelo início da pandemia decorrente do vírus SARS-CoV-2 (Covid-19), consequentemente o isolamento social (INCA, 2022b).

As intervenções governamentais participam diretamente no controle do tabaco e na cessação tabagista. O Brasil está entre os primeiros países a alcançar os melhores desempenhos nas estratégias aconselhadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS). De 2006 até 2018 houve uma redução de 40% nos números de fumantes ativos (BRASIL, 2019). Dentre as ações estabelecidas estão a proibição da publicidade do tabaco; proibição do ato de fumar em locais fechados, públicos e abertos; fiscalização da venda desses produtos para adolescentes menor de idade; aumento nos valores dos produtos derivados do tabaco, além da obrigatoriedade de rótulos apontando os riscos à saúde causado pelo tabagismo (DOMINGUEZ, 2018).

Os benefícios da interrupção do hábito de fumar são praticamente imediatos e benéficos à saúde em todas as idades, contudo, quando a cessação acontece antes dos 40 anos, em média, o risco de mortalidade nos ex-fumantes por doenças relacionadas do tabaco diminui em 90% (DROPE *et al.*, 2018).

A cessação da nicotina não é uma prática simples, requer força de vontade por parte do fumante, tendo em vista que a ausência da nicotina no organismo do dependente causa a síndrome de abstinência. Essa síndrome é responsável por diversos sintomas indesejáveis: mal humor, insônia, irritabilidade, bradicardia, ganho de peso e entre outros (SARMENTO *et al.*, 2019).

Existem algumas estratégias para auxiliar a cessar o tabagismo. Dentre as alternativas farmacológicas, com comprovação científica, é utilizada a reposição de nicotina e bupropiona com acompanhamento médico. Meios alternativos funcionaram com alguns pacientes, como por exemplo acupuntura, exercício, hipnose e agonista de opioides, porém não há reconhecimento científico da sua eficácia (OLIVEIRA, 2018).

### 3.4 Riscos à saúde

No mundo, o tabagismo é responsável por uma taxa elevada de mortalidade e morbidade, além de agravar doenças já existentes. No Brasil, o número de obtidos ultrapassa 160 mil por ano (INCA, 2021). Esses valores estatísticos aumentam proporcionalmente de acordo com a quantidade de cigarros fumados, contudo os danos surgem com quantidades bem pequenas (DROPE *et al*, 2018).

Cerca de 50 doenças que atinge diferentes sistemas do corpo humano estão associadas a exposição ao tabaco: as doenças respiratórias obstrutivas, doenças cardiovasculares, e inúmeras neoplasias são as mais frequentes. O câncer de pulmão de destaca, 90% é consequência dos fumantes ativos (OLIVEIRA, 2018; INCA, 2021).

#### 3.4.1 Câncer

A etiologia do câncer é multifatorial, os fatores de risco para o câncer são diversos e podem estar associados na progressão de neoplasias malignas. De modo geral, os fatores externos são aqueles relacionados a exposição aos carcinogênicos e hábito de vida, os mais relevantes são: o tabagismo; alcoolismo; má alimentação; obesidade, exposição solar excessiva e exposição às radiações. Os fatores internos são independentes do indivíduo, como por exemplo o gênero, hereditariedade e o envelhecimento (SÃO LUIZ, 2022).

O processo de carcinogênese inicia-se quando as células normais sofrem mutações genéticas, ou seja, alteração no DNA dos genes. As células defeituosas se multiplicam rápido e descontroladamente, passando a substituir as células normais por células cancerosas, que por sua vez, possui a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos fenômeno conhecido como metástase. Em geral, a carcinogênese acontece lentamente podendo demorar anos até o surgimento do tumor visível (BRASIL, 2012).

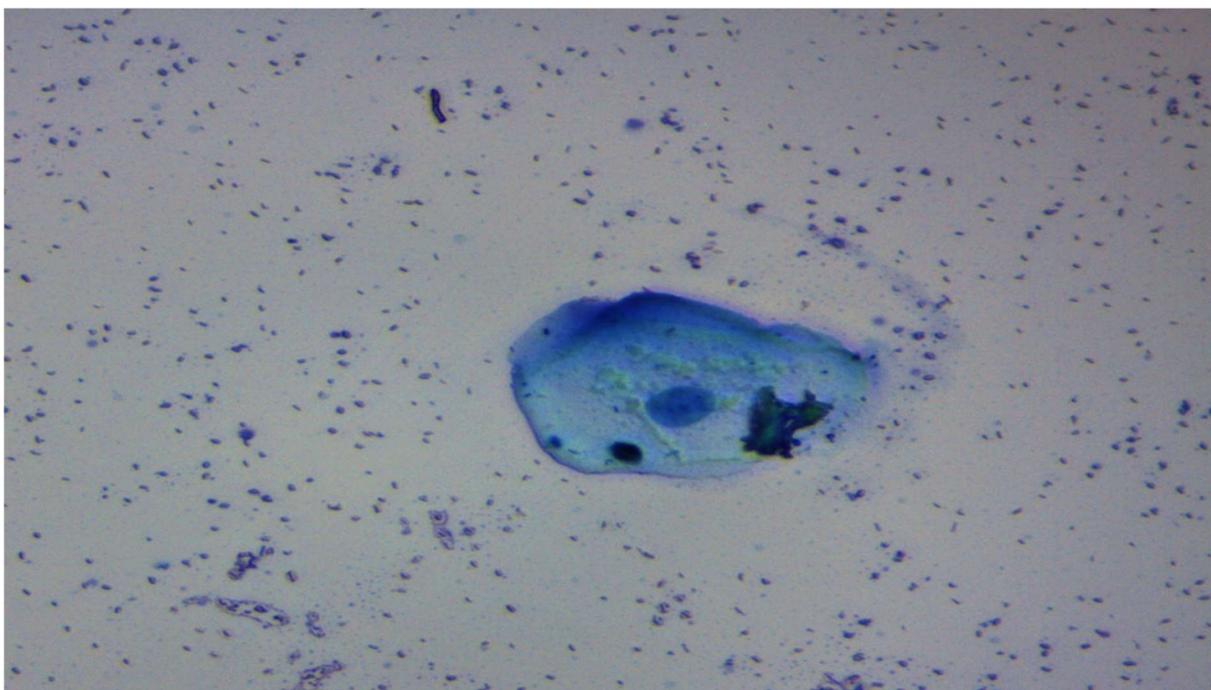
A detecção precoce é fundamental para melhor prognóstico da doença, um tratamento mais eficiente, e minimizar os riscos de metástase. Os dois métodos utilizados com esta finalidade são o diagnóstico precoce e o rastreamento (BRASIL, 2012). O diagnóstico precoce identifica a doença através de pessoas sintomáticas. O rastreamento é realizado por meio de testes na população saudável e assintomática. Esses testes devem ser seguros, com baixo custo, sensibilidade e especificidade comprovada (INCA, 2021a).

### 3.5 Teste de Micronúcleo (MN) como biomarcador de lesões ao DNA

As substâncias tóxicas presente no cigarro são indutores de mutações nas células humanas, resultando em alterações no gene do DNA (SINGAM, 2019). As células esfoliadas da mucosa oral são de primeira escolha para investigação genotóxica em fumantes por ser o primeiro local sujeito à exposição aos carcinógenos do tabaco, seja por inalação ou ingestão (SOUZA *et al.*, 2014)

Segundo Souza e colaboradores (2014), o teste de MN é um biomarcador bastante utilizado no rastreamento de enfermidades relacionadas ao tabaco devido sua eficácia, teste não invasivo, com acessibilidade e baixo custo. A presença de MN é observada em células epiteliais (Figura 1), principalmente bucais, esofágica e brônquica.

**Figura 1- Célula epitelial escamosa com presença de micronúcleo**



Legenda: célula epitelial escamosa da mucosa bucal corada com azul de metileno, aumento de 400x.

Fonte: arquivos da pesquisa, 2022.

Os MN são elementos genéticos resultantes de cromossomos inteiros ou da quebra cromossômica durante a divisão celular. Sua forma geralmente é oval ou redonda, o tamanho é aproximadamente 1/3 do núcleo principal, sua coloração é geralmente a mesma intensidade ou mais intensa em relação ao núcleo principal. Geralmente aparece um MN isoladamente, contudo pode surgir dois ou mais MN por célula (JIMÉNEZ, 2019).

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Caracterização dos voluntários**

Neste estudo foram recrutados aleatoriamente 80 voluntários (sexo masculino e feminino) residentes das cidades Nova palmeira-PB e Cuité-PB. Todos os participantes apresentaram idade igual ou superior a 18 anos. Para confirmar o consentimento de participação na pesquisa, os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Inicialmente, os voluntários que aceitaram participar da pesquisa responderam a um questionário com perguntas para os resultados: idade, sexo, tempo de uso do cigarro/tempo de cessação, consumo de bebidas alcoólicas, bem como as doenças crônicas existentes entre os participantes para verificar a influência de outros fatores com o aparecimento de MN.

O projeto de pesquisa foi submetido à análise ética do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e aprovado sob o número de parecer 3.854.343 do CEP/HUAC.

### **4.2 Agrupamento dos voluntários**

Os voluntários foram divididos e classificados em quatro grupos de acordo com a relação atual com o tabaco: fumantes ativos, ex-fumantes, fumantes passivos e indivíduos controle. Alguns critérios foram estabelecidos para selecionar o grupo de cada participante:

Grupo I - fumantes ativos definidos como indivíduos que fumam pelo menos um cigarro por dia há mais de um ano;

Grupo II - ex-fumantes são os indivíduos que estão a mais de 4 meses sem utilizar nenhum cigarro;

Grupo III - fumantes passivos são aqueles que atualmente não fumam, porém mora com pelo menos um fumante ativo;

Grupo IV - os participantes controle nunca fumaram produtos à base de tabaco ao longo da vida.

### **4.3 Procedimento da técnica de micronúcleo (MN)**

Realizaram-se duas coletas da mucosa oral para cada voluntário da pesquisa com auxílio de uma espátula de madeira. A coleta do material foi realizada seguindo as regras de

biossegurança, com pesquisador paramentado com EPIs adequados. Posteriormente, realizou-se o esfregão em lâmina de vidro de microscopia comum. Consecutivamente, as amostras foram identificadas com o número do voluntário e imersas em uma solução fixadora de metanol e ácido acético (3:1) por 15 minutos. Após a fixação as lâminas foram retiradas para secar em temperatura ambiente e em seguida foram imersas em corante azul de metileno por 10 minutos. Por fim, procederam-se as análises em microscopia óptica comum.

#### **4.4 Análises microscópica e estatística**

As análises das células foram realizadas em microscópio óptico binocular, em aumento final de 400x (objetiva de 40x e ocular de 10x). Para analisar a frequência do aparecimento de MN foi realizada uma contagem de 1000 células por lâmina de cada participante e uma média de duas lâminas por voluntário.

Durante as análises, foram consideradas apenas as células não fragmentadas e não sobrepostas. Os critérios utilizados para a identificação dos micronúcleos foram os relatados por Martins; Paz e Brentano (2010, p. 15): 1 – não está conectado ao núcleo principal da célula; 2 – apresentar a mesma intensidade de coloração que o núcleo principal; 3 – apresentar proporção entre 1/5 e 1/3 do tamanho do núcleo principal.

Os valores estáticos e gráficos foram obtidos a partir do software *GraphPad Prism 8* e foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta pesquisa contou com a participação de 80 voluntários (tabela 1), distribuídos da seguinte forma: 23 voluntários no grupo fumantes ativos, 23 pessoas no grupo ex-fumantes, 13 participantes no grupo de fumantes passivos e 21 indivíduos no grupo controle (indivíduos que nunca fumaram). Após análise das respostas contidas nos questionários, verificou-se que a idade dos participantes variou entre 18 e 90 anos. Nos quatro grupos da pesquisa, o sexo feminino foi prevalente (57,5%). Dos 23 fumantes ativos, 10 consomem também bebidas alcoólicas (43,8%).

Em relação ao tempo de cessação do cigarro dos ex-fumantes e ao tempo de uso do tabaco dos fumantes ativos, os resultados variaram entre 4 meses e 35 anos e entre 2 - 81 anos, respectivamente. Cerca de 33% dos participantes apresentam algum tipo de doença crônica, sendo a hipertensão e diabetes as mais citadas nos questionários, desses, mais de 80% são indivíduos fumantes ativos e ex-fumantes podendo indicar o tabaco como fator de risco evitável para doenças crônicas.

**Tabela 1 - Avaliação das características gerais dos grupos da pesquisa relacionado à idade, sexo e o consumo de bebidas alcoólicas**

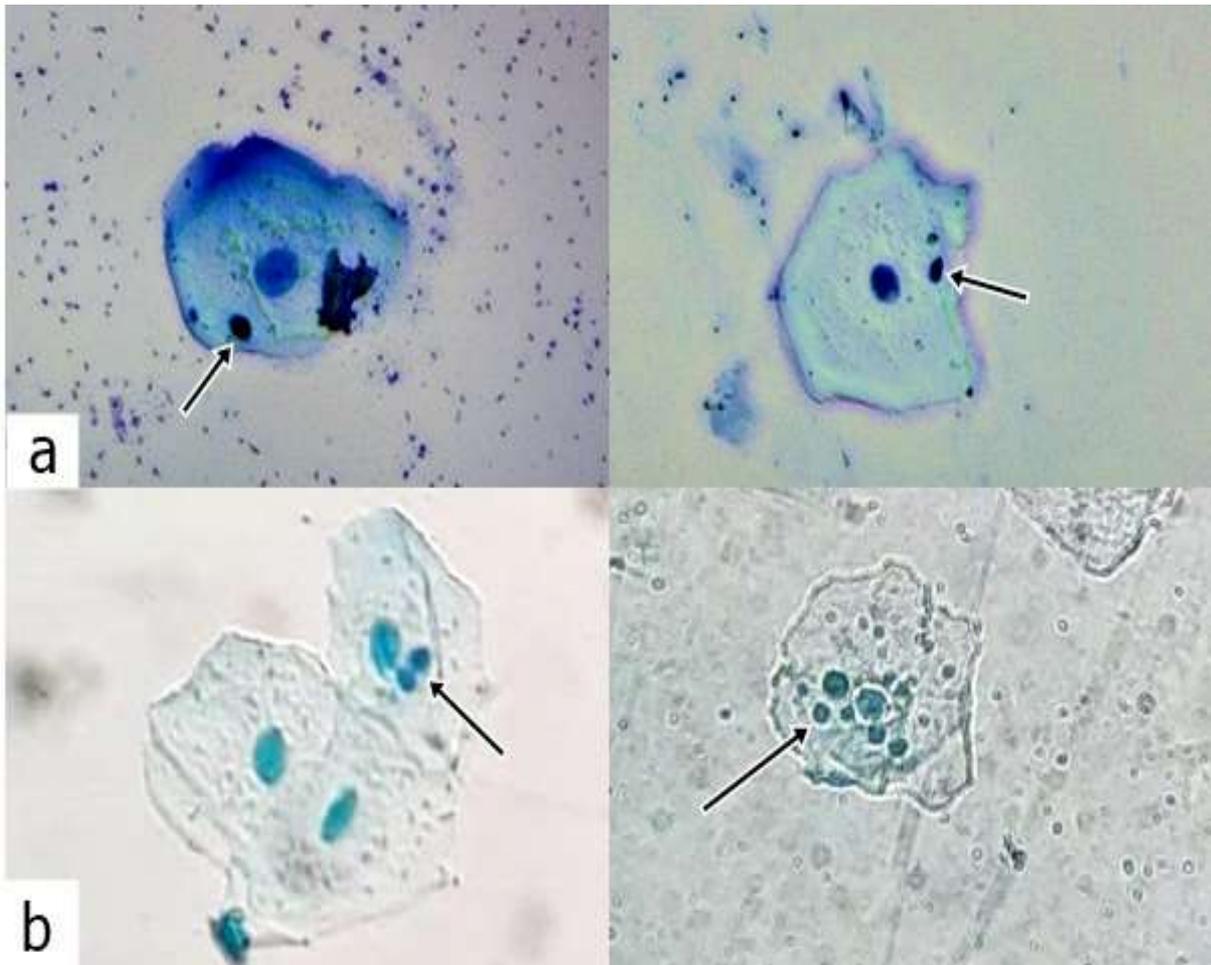
<b>Grupo</b>	<b>Quant.</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo (%)</b>	<b>Bebidas alcoólicas</b>
<b>Fumante ativo</b>	23	20-87anos	52,2% feminino	Sim 43,8%
			47,8% masculino	Não 56,5%
<b>Fumante passivo</b>	13	20-44anos	53,8% feminino	Sim 76,9%
			46,2% masculino	Não 23,1%
<b>Ex-fumante</b>	23	28-90anos	60,9% feminino	Sim 26,1%
			39,1% masculino	Não 73,9%
<b>Controle</b>	21	18-70anos	61,9% feminino	Sim 33,3%
			38,1% masculino	Não 66,7%
<b>Total</b>	80	18-90anos	57,5% feminino	Sim 41,25%
			42,5% masculino	Não 58,75%

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2022

Os MN encontrados nas células epiteliais esfoliadas (figura 2) são alterações cromossômicas ou anormalidades decorrentes do processo de mitose na divisão celular. O aparecimento de MN em pessoas saudáveis acontece devido à exposição a diversos poluentes

presentes no ambiente, a radiações, hábito de vida, alimentação e entre outros fatores que são responsáveis pela quebra cromossômica (JIMÉNEZ, 2019). Normalmente, a média de células com MN é de 0 a 0,9%, a frequência de MN é sugestiva de lesão celular (NEZHAD; NEDERI; SEMYARI, 2020).

**Figura 2 - Células da mucosa bucal com um MN ou mais de um MN**



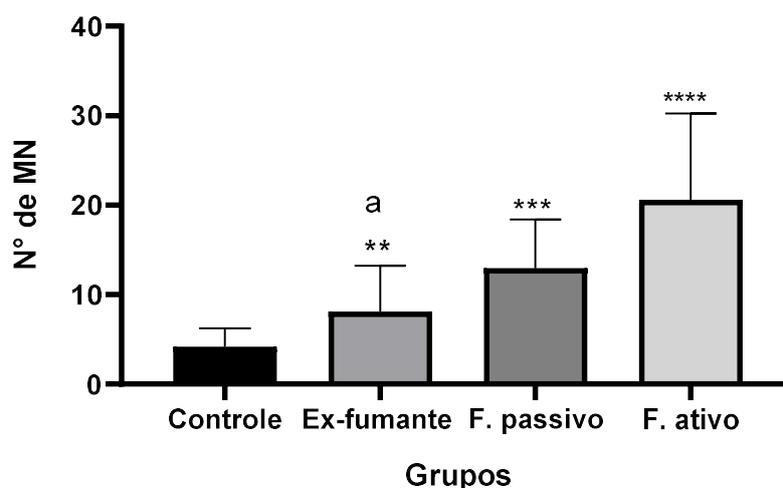
Legenda: imagens de microscopia óptica comum de esfregaço de células esfoliadas da mucosa oral, coradas com azul de metileno, em aumento final de 400x. As setas indicam a presença de micronúcleos. A: células contendo apenas um MN. B: células contendo mais de um MN.

Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

As alterações no DNA foram avaliadas entre os grupos por meio da contagem de MN nas células dos diferentes grupos. Foi observado o aparecimento de MN em todos os grupos da pesquisa, sendo em maior quantidade nos fumantes ativos ( $20,63 \pm 9,63$ ),  $P < 0,0001$ , em seguida dos fumantes passivos ( $12,96 \pm 5,46$ ),  $P < 0,001$ , e ex-fumantes ( $8,11 \pm 5,10$ ),  $P < 0,01$ , respectivamente. Todos os grupos apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) quando comparados ao grupo controle ( $4,17 \pm 2,08$ ) (Figura 3). Esses resultados indicam que a exposição ao cigarro, passivamente ou ativamente, promove um aumento dos danos ao DNA.

Após a cessação tabágica, houve uma redução significativa da presença de micronúcleos ( $p < 0,001$ ) nas células da mucosa bucal quando comparadas aos fumantes ativos (figura 3), sugerindo que isto pode ter ocorrido provavelmente devido a ação das enzimas de reparo e renovação das células epiteliais.

**Figura 3 - Avaliação da presença de micronúcleos entre os voluntários fumantes, não fumantes e ex-fumantes**



Legenda: Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. As pontuações de MN foram obtidas a partir da contagem de 1000 células por lâmina e uma média de duas lâminas por voluntário, em um total de 80 participantes. Valores analisados por ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni.

\*=  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\*=  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*=  $p < 0,0001$ , diferença significativa em relação ao grupo controle.

a =  $p < 0,001$  em relação ao grupo fumante ativo.

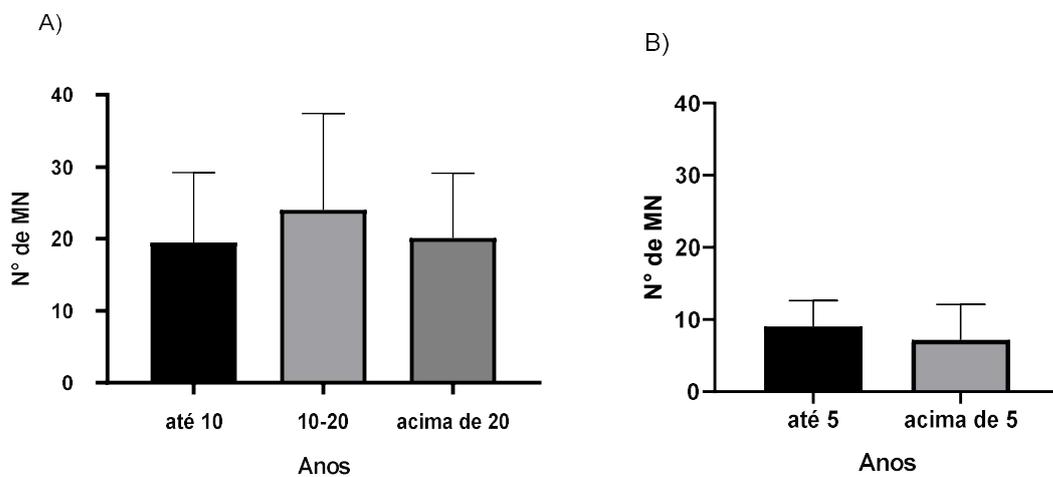
Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Locken-Castilla *et al.*, (2019) concluiu que por meio da cessação tabágica é possível o dano ao DNA ser reversível e reduzir a mortalidade por todas as causas em até 30%. Outros estudos obtiveram resultados semelhantes, cujos números de micronúcleo variaram de acordo com o grupo de exposição ao tabaco, indicando que quanto maior o contato com as substâncias genotóxicas, maior os danos celulares. Fato que indica a confiabilidade do teste de MN para avaliar os danos causados pelo tabagismo na mucosa oral (FARHADI; MOHAMADI; MEDHI, 2017; UPADHYAY *et al.*, 2019).

No grupo constituído por fumantes ativos, após avaliação do tempo de uso do cigarro, não foi identificada diferença estatística no número de micronúcleos, comparados ao tempo de exposição em anos ( $p > 0,05$ ). Com base nesse achado, pode-se afirmar que o dano celular acontece mesmo com pouco tempo de uso do tabaco. Em relação à cessação tabágica, não houve diferença estatisticamente significativa na genotoxicidade de acordo com o tempo

de inibição do uso do cigarro ( $p > 0,05$ ) (figura 4). Em contrapartida, Souza e colaboradores (2014), obtiveram resultados divergentes dos resultados desta pesquisa, apresentaram um aumento na contagem de MN nas células dos fumantes com tempo de uso do cigarro superior a 10 anos, fumantes com tempo de uso inferior a 10 anos não foram significativamente diferentes em relação ao grupo controle, os ex-fumantes foi o grupo que mais apresentou MN em suas células.

**Figura 4 - Gráfico de avaliação da presença de micronúcleos de acordo com o tempo de exposição ao cigarro (A) e o tempo de cessação tabágica (B)**

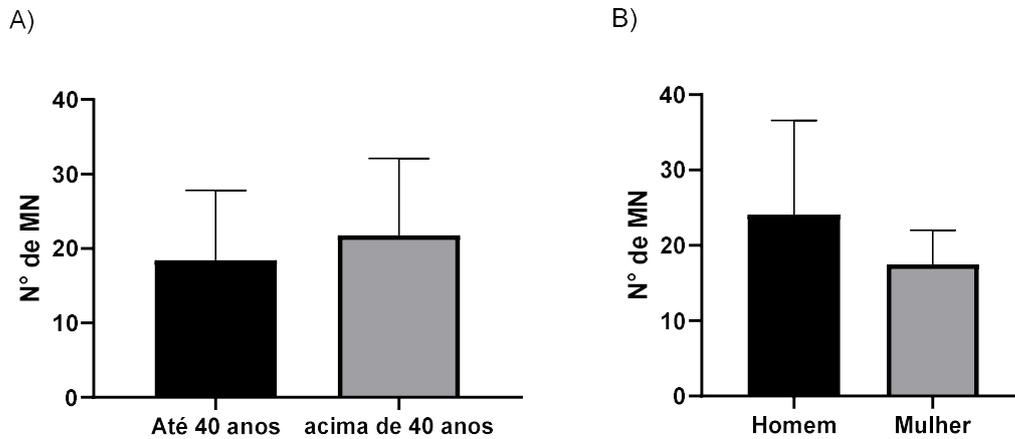


Legenda: Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão da contagem de duas lâminas por voluntário. Os gráficos do tempo de uso do cigarro e o tempo de cessação tabágica foram realizados com a contagem de MN dos fumantes ativos e ex-fumantes respectivamente.

Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Nesse estudo foram avaliados os aspectos intrínsecos como idade e gênero para observar se há um aumento de lesão celular a partir do envelhecimento humano e se o sexo do indivíduo influencia no aparecimento de MN. Os voluntários fumantes com menos de 40 anos quando comparado com os fumantes acima de 40 anos, não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Assim como o gênero também não influenciou na contagem de MN ( $p > 0,05$ ). Outros estudos apresentaram resultados semelhantes em que o gênero e a idade não foram parâmetros significativos (UPADHYAY *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2021).

**Figura 5 - Gráfico de avaliação da influência da idade (A) e gênero (B) na quantidade de micronúcleos em células da mucosa bucal dos voluntários fumantes**

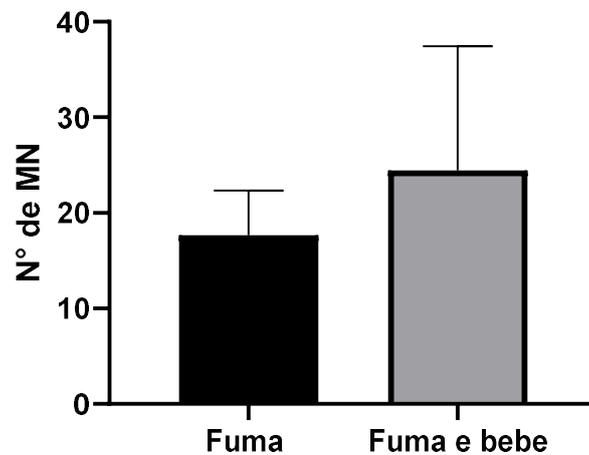


Legenda: Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão da contagem de 1000 células em duas lâminas por voluntário.

Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

O estilo de vida, como fumar e consumir bebidas alcoólicas, estão dentre os principais fatores responsável para desenvolver lesões na cavidade oral por meio de danos no DNA celular, podendo aumentar seu risco quando consumidos ao mesmo tempo (JIMÉNEZ, 2019). Nesse estudo, a associação do álcool e tabaco apresentaram diferença no número de MN em relação aos voluntários que fuma e não bebe (figura 6), porém não foi significativa ( $P > 0,05$ ).

**Figura 6 - Gráfico de avaliação da presença de micronúcleos relacionado ao hábito de fumar ou fumar e fazer uso de bebida alcoólica**



Legenda: Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão da contagem de 1000 células em duas lâminas por voluntário. Os dados foram analisados pelo teste-t de Student.

Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Contudo, Maciel e colaboradores (2019), mostraram que o uso associado das duas substâncias potencializou o aumento de MN. Outro estudo também mostra que os indivíduos que fumam e bebem, consomem mais cigarros diariamente quando comparados com os fumantes que não consomem álcool (SANTOS *et al.*, 2021).

## 6 CONCLUSÃO

A técnica de micronúcleo demonstrou ser um eficiente avaliador de genotoxicidade para células da mucosa bucal. É possível afirmar, de acordo com os resultados obtidos, que a exposição ao cigarro, passivamente ou ativamente, causa lesões no DNA das células, o que pode favorecer o desenvolvimento de doenças crônicas como o câncer.

O uso prolongado do cigarro pode causar danos irreversíveis à saúde do usuário, contudo após a cessação do tabaco houve uma redução significativa dos danos ao DNA. Contudo, não foi identificada relação do aparecimento de MN com a idade e o gênero.

Novos estudos utilizando outras técnicas podem corroborar a presente pesquisa a fim de reafirmar a necessidade da cessação da prática tabágica, para prevenção de doenças neoplásicas relacionadas, levando em consideração que o tabagismo continua sendo uma das principais causas de morte evitáveis no mundo.

## REFERÊNCIAS

- AL-BASHAIREH, A. M.; HADDAD, L. G.; WEAVER, M.; KELLY, D. L.; CHENGGUO, X.; YOON, S. The effect of tobacco smoking on musculoskeletal health: a systematic review. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2018, p. 1-106, 2018.
- BRASIL. Biblioteca virtual em saúde. Ministério da saúde. **Tabagismo passivo: você conhece os riscos?** Brasília, 2020. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/tabagismo-passivo-voce-conhece-os-riscos>. Acesso em: 26 de abr. de 2022
- BRASIL. Ministério da saúde. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. 2 Ed. Rio de Janeiro: Inca, 2012. Disponível em: [abc\\_do\\_cancer\\_2ed.pdf \(saude.gov.br\)](abc_do_cancer_2ed.pdf(saude.gov.br)) Acesso em: 28 de abr. 2022
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria-Executiva. Secretaria de Atenção à Saúde. **No Dia Nacional de Combate ao Fumo, Saúde lança estratégias para reverter queda na procura por tratamento contra o tabagismo**. Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/no-dia-nacional-de-combate-ao-fumo-saude-lanca-estrategias-para-reverter-queda-na-procura-por-tratamento-contra-o-tabagismo> Acesso em: 29 de abr. 2022
- BRASIL. Secretária de atenção primária à saúde (SAPS). Ministério da saúde. **Brasil é o 2º país a alcançar as medidas de combate do tabaco da OMS**. Brasília, 2019. Disponível em: [Portal da Secretaria de Atenção Primária a Saúde \(saude.gov.br\)](Portal da Secretaria de Atenção Primária a Saúde (saude.gov.br)) Acesso em: 29 de abr. 2022.
- DIETZ, J.; DIEHL, A. S.; PROLLA, J. C.; FURTADO, C. D.; FURTADO, A. D. Pesquisa de micronúcleos na mucosa esofágica e sua relação com fatores de risco ao câncer de esôfago. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 207-211, 2000.
- DOMINGUEZ, Y. G. **Intervenção educativa sobre tabagismo em adolescentes de 15 a 19 anos no Bairro Municípios de Caçador, Santa Catarina**. Orientadora: Ana Maria Rodriguez. 2018. 25 f. MONOGRAFIA (Especialização). Especialista na atenção básica, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2018.
- DROPE, J. *et al.* **The Tobacco Atlas**. Atlanta: American Cancer Society and Vital Strategies, 2018. Disponível em: [https://tobaccoatlas.org/wpcontent/uploads/2018/03/TobaccoAtlas\\_6thEdition\\_LoRes\\_Rev0318.pdf](https://tobaccoatlas.org/wpcontent/uploads/2018/03/TobaccoAtlas_6thEdition_LoRes_Rev0318.pdf) Acesso em: 26 de abr. de 2022
- DUARTE, G.R.; OLIVEIRA, J. V. R.; SILVA, U. O. Tabagismo: um desafio a se perfazer. **Revista científica multidisciplinar**. v.2, n.10, 2021.
- FARHADI, S., MOHAMADI, M. , MEDHI, M. Repair Index in Examination of Nuclear Changes in the Buccal Mucosa of Smokers: A Useful Method for Screening of Oral Cancer. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 18, n. 11, p. 3087-3090, 2017.
- FERIGOLO, P. C.; SAGRILLO, M. R. Genotoxicidade relacionado ao consumo de chimarrão. **Disciplinarum Scientia: Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2013.
- HCS. **Te Health Consequences of Smoking-50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General**, 2014. Disponível em: [954\\_SurgeonGeneralReportfactsheet\\_port.pdf \(actbr.org.br\)](954_SurgeonGeneralReportfactsheet_port.pdf(actbr.org.br)) Acesso em: 25 de abr. de 2022
- INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Tabagismo**, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tabagismo> Acesso em: 23 abr. 2022.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Tabagismo passivo**, 2022a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tabagismo/tabagismo-passivo> Acesso em: 26 abr. 2022.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Dados e números do tratamento para cessação do tabagismo no Brasil**, 2022b. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/programa-nacional-de-controle-do-tabagismo/dados-e-numeros> Acesso em: 1 de mai. 2022.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Tabagismo**, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/es/node/1474> Acesso em: 26 abr. 2022.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Doenças relacionadas ao tabagismo**, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/en/node/1413> Acesso em: 25 de abril de 2022.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Detecção precoce do câncer**, 2021a. Disponível em: [Detecção precoce | INCA - Instituto Nacional de Câncer](https://www.inca.gov.br/deteccao-precoce) Acesso em: 30 de abr. 2022.

JIMÉNEZ, H. G. Q. Avaliação subclínica da frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal em pacientes fumantes e não fumantes. 2019, 82 f. Dissertação (pós-graduação em biotecnologia) – Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2019.

KOKILA, S.; PRASAD, H.; RAJMOHAN, M.; SRICHINTHU, K. K.; MAHALAKSHMI, L.; SHANMUGANATHAN, S.; PREMA, P. Evaluation of Micronuclei and Cytomorphometric Changes in Patients with Different Tobacco Related Habits Using Exfoliated Buccal Cells. **Research article. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v.22, n.6, p.1851-1855, 2021.

LOCKEN-CASTILLA, A.; PACHECO-PANTOJA, E. L.; RODRÍGUEZ-BRITO, F.; MAY-KIM, S.; LÓPEZ-RIVAS, V.; CEBALLOS-CRUZ, A. Smoking index, lifestyle factors, and genomic instability assessed by single-cell gel electrophoresis: a cross-sectional study in subjects from Yucatan, Mexico. **Clinical Epigenetics**, v. 11, n. 150, 2019.

MACIEL, L. A. M.; SILVA, D. R.; SILVA, S. V.; CASTRO, T.; DA COSTA, L. S.; TROLLY, T. S.; GOES, I. N. C.; FEITOSA, S. B.; SOUSA, A. L.P. Determinação da frequência de micronúcleos em células esfoliativas da mucosa oral em indivíduos fumantes e etilistas. **Revista pubsaúde**, 2, a006, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude2.a006>

MARTINS, L.; PAZ, A. V.; BRENTANO, D. M. Avaliação da Geração de Micronúcleo em Junvenis de *Centropomus parallelus* (Robalo-Peva) Expostos a Diferentes Concentrações Salinas. **Revista Técnico Científica (Santa Catarina)**, v. 2, n. 1, p. 13-16, 2010.

NEZHAD, M. D.; NEDERI, N. J.; SEMYARI, H. Micronucleus Assay of Buccal Mucosa Cells in Waterpipe (Hookah) Smokers: A Cytologic Study. **Iranian Journal of pathology**, n.15, v.2, p.75-80, 2020.

OLIVEIRA, G. C. **Tabagismo como fator predisponente de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica em fumantes: uma revisão de literatura**. Orientadora: Ana Claudia de Souza. 2018. 20 f. TCC (graduação). Curso de bacharelado em Biomedicina, UniCEUB. Brasília, 2018.

OMS (organização mundial de saúde). **Câncer**, 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer> Acesso em: 25 de abril de 2022

ROSEMBERG, J. **Nicotina: droga universal**. São Paulo: SES/CVE, 2003. Disponível em: [NICOTINA.pmd \(sbpt.org.br\)](https://www.nicotina.pmd(sbpt.org.br)) Acesso em: 30 de abr. 2022.

SALES, M. P. U.; ARAÚJO, A. J.; CHATKIN, J. M.; GODOY, I. PEREIRA, L. F. F.; CASTELLANO, M. V. C. O.; TANNI, S. E.; ALMEIDA, A. A.; CHATKIN, G.; SILVA, L. C. C.; GONÇALVES, C. M. C.; BOTELHO, C.; SANTOS, U. P.; VIEGAS, C. A. A.; SESTELO, M. R.; MEIRELES, R. H. S.; CORREA, P. C. R. P.; OLIVEIRA, M. E. M.; REICHERT, J.; LIMA, M. S.; SILVA, C. A. R. Atualização na abordagem do tabagismo em pacientes com doenças respiratórias. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 45, n. 3, p. e20180314, 2019.

SANTOS, V. P.; NOGUEIRA, N. B.; NETO, J. D. S.; PEREIRA, R. M. Perfil de tabagismo e frequência de micronúcleos em indivíduos de um município do Sul de Minas Gerais. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**. v.13, n. 2, 2021

SÃO LUIZ. Central clinic. Oncologia dor. **Fatores de risco**. 2022. Disponível em: [Fatores de Risco - Central Clinic \(rededorsaoluiz.com.br\)](https://rededorsaoluiz.com.br) Acesso em: 29 de Abr. 2022.

SARMENTO, K. K. F.; DE MEDEIROS, K. M.; DE BRITO, Y. J. V.; DE MEDEIROS, K. M.; DE LIMA, C. A. P. **O consumo de cigarro causando a dependência de nicotina**. I congresso internacional de meio ambiente e sociedade (CONIMAS), 2019. Disponível em: [https://editorarealize.com.br/editora/anais/conimas-e-conidis/2019/TRABALHO\\_EV133\\_MD4\\_SA44\\_ID1288\\_18092019212008.pdf](https://editorarealize.com.br/editora/anais/conimas-e-conidis/2019/TRABALHO_EV133_MD4_SA44_ID1288_18092019212008.pdf) Acesso em: 27 de abr. 2022.

SINGAM, P. K.; MAJUMDAR, S.; UPPALA, D.; KOTINA, S.; NAMANA, M.; AYYAGARI, K. R. Evaluation of genotoxicity by micronucleus assay in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma with deleterious habits. **Original article**, v.23, n.300, 2019.

SOUZA, A. M.; SILVA, A. M.; RAMOS, L. J.; ZAN, R. A.; MENEGUETTI, D. U. O. Análise do efeito mutagênico em células epiteliais esfoliadas da mucosa oral de fumantes, ex-fumantes e não-fumantes. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v.9, n.3, p.43-52, out./dez., 2014.

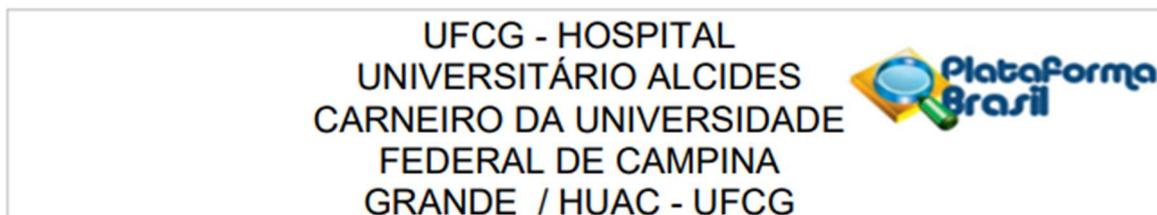
TRAN, C. T.; MEDLIN, F. L.; LAMA, N.; TARANU, B. N. G. W.; HAZIZA, C.; PICAVET, P.; BAKER, G.; LÜDICKE, F. Biological and Functional Changes in Healthy Adult Smokers Who Are Continuously Abstinent From Smoking for One Year: Protocol for a Prospective, Observational, Multicenter Cohort Study. **JMIR Researt Protocols**. n. 8, v. 6, 2019.

UPADHYAY, M.; VERMA, P.; SABHARWAL, R.; SUBUDHI, S. K.; JATOL-TEKADE, S.; NAPHADE, V.; CHOUDHURY, B. K.; SAHOO, P. D. Micronuclei in Exfoliated Cells: A Biomarker of Genotoxicity in Tobacco Users. **Original article**, v.25, p.52-59, 2019.

WHO (World Health Organization). **Tabaco**. 26 de julho de 2021. Disponível em: [Tabaco \(who.int\)](https://www.who.int) acesso em: 23 abr. 2022.

## ANEXOS

### ANEXO A- Parecer do comitê de ética aprovado



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE EM AMOSTRAS DE PESSOAS FUMANTES E NÃO FUMANTES

**Pesquisador:** Glaucia Veríssimo Faheina Martins

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

**Versão:** 3

**CAAE:** 19126319.7.0000.5182

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.854.343