



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS – CSHNB
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - MODALIDADE LICENCIATURA

Aline Lima da Rocha

**AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA RELACIONADA AO USO DE APARELHOS
ORTODÔNTICOS EM CÉLULAS DA MUCOSA ORAL.**

**PICOS, PI
2015**

Aline Lima da Rocha

**AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA RELACIONADA AO USO DE APARELHOS
ORTODÔNTICOS EM CÉLULAS DA MUCOSA ORAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para obtenção do Grau de Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Msc. João Marcelo de Castro e Sousa

**PICOS, PI
Janeiro/2015**

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
FICHA CATALOGRÁFICA
Biblioteca José Albano de Macêdo

FICHA CATALOGRÁFICA

R672a Rocha, Aline Lima da.

Avaliação mutagênica relacionada ao uso de aparelhos ortodônticos em células da mucosa oral / Aline Lima da Rocha. – 2014.

CD-ROM : il; 4 ¾ pol. (29 f.)

Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2014. Orientador(A): Prof. MSC. João Marcelo de Castro e Sousa

1.Íons Metálicos. 2.Danos Celulares. 3. Genotoxicidade. I. Título.

CDD 615.9

Aline Lima da Rocha

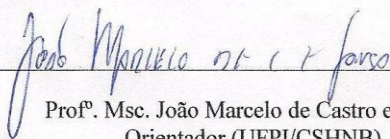
**AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA RELACIONADA AO USO DE APARELHOS
ORTODÔNTICOS EM CÉLULAS DA MUCOSA ORAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para obtenção do Grau de Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas.

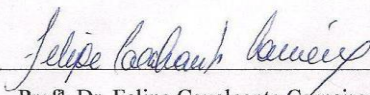
Orientador(a): Msc. João Marcelo de Castro e Sousa

Aprovado em 14 / 01 / 2015

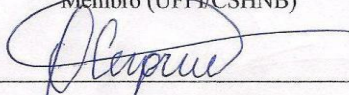
BANCA EXAMINADORA:



Prof.º Msc. João Marcelo de Castro e Sousa.
Orientador (UFPI/CSHNB)



Prof.º Dr. Felipe Cavalcante Carneiro da Silva
Membro (UFPI/CSHNB)



Prof.º Dr. Gilberto Santos Cerqueira
Membro (UFPI/CSHNB)

*Aos meus pais, pelo infinito amor e incansável apoio.
Aos meus irmãos, pelo carinho, amizade e companheirismo. Mãe, sua presença significou segurança e a certeza de que nunca estarei sozinha.*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A caminho desta conquista vivemos experiências singulares, ampliamos nossa visão e nosso conhecimento. Aprendemos a conviver, a não desistir de lutar, a superar e a surpreender. Uma vez conhecido o caminho, só há uma coisa a fazer: seguir em frente. E ao olhar para trás é preciso reconhecer e agradecer aqueles que contribuíram para a realização desse trabalho.

Dessa forma agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, meu guia! Pela força e coragem e por ter iluminado o meu caminho durante toda esta longa caminhada. O que seria de mim sem a fé que eu tenho nele.

Aos meus pais Josimar e Venilda por acreditarem em mim! Pelo apoio, carinho, esforços e dedicação. Mãe, sua confiança e incentivo constantes foi que deram, em muitos momentos, a coragem para chegar até aqui. Aos meus irmãos, Ramon e Amanda pelo companheirismo e carinho dedicados sempre.

A minha tia “Tatá”, pelo apoio, contribuição e principalmente pelo carinho dedicado. Aos meus avós, tios, primos, enfim, todos os familiares pela motivação.

Ao meu orientador Msc. João Marcelo pela sua orientação, disponibilidade e paciência que tornaram possível a conclusão dessa pesquisa.

Ao meu querido amigo Ellifran Dantas pela ajuda durante este trabalho, pelo acolhimento e principalmente pela sua fiel amizade ao longo desses anos. A minha, também, querida amiga Walquiria Moura pelo companheirismo, risos diários e amizade. Por mais que o tempo passe sei que poderei contar com a amizade de vocês sempre.

A todas as amizades construídas durante essa longa jornada: Darciella, minha primeira amizade na UFPI, companheira de lembranças inesquecíveis. Paulinha, Geiz, Ykaro, Paulo Henrique, Denise, Rodrigo, Lucélia, Silvia e todos aqueles que passaram compartilhando momentos felizes e também os tristes. Muitas coisas aprendi com vocês, muitos valores guardei e muitas amizades que levarei comigo sempre, afinal nossa *amizade é tudo!*

As minhas companheiras de laboratório Gleuvânia e Sara, não esquecerei das boas risadas que demos juntas e ao querido Víctor Alves pela disponibilidade em muitos momentos!

Aos professores pelos ensinamentos e todos aqueles que contribuíram direta indiretamente para a consolidação deste trabalho, muito obrigado.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis. ”

(José de Alencar)

SUMÁRIO

1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	08
2 DESENVOLVIMENTO (Anexação do artigo).....	11
2.1 Introdução.....	12
2.2 Material e métodos.....	13
2.2.1 Tipo do estudo e População-Alvo.....	13
2.2.2 Amostra	14
2.2.3 Teste de micronúcleo e análise dos dados.....	14
2.2.4 Análise Estatística.....	15
2. 3 Resultados e discussão.....	15
3 CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS.....	21
ANEXO.....	24

1 REFERENCIAL TEÓRICO

Muitos pacientes de ortodontia, quando sujeitos a necessidade de terapia ortodôntica, indagam sobre sua própria aparência. Por conta disso, a indústria vem inserindo variados acessórios estéticos fabricados por diferentes processos com o intuito de reduzir o impacto do tratamento sobre a aparência do paciente (ABREU-PEREIRA et al., 2010). De acordo com Farronato et al., (2002), em odontologia, a biocompatibilidade dos materiais vem sendo grandemente estudada por conta das propriedades de interação desses materiais com os tecidos e fluidos do corpo humano. A resistência à corrosão das ligas metálicas está relacionada a uma das aplicações da biocompatibilidade na ortodontia.

Estudos atuais comprovam um acréscimo na propensão de indivíduos expressarem reações alérgicas a materiais ortodônticos (FARRONATO et al., 2002). Essas reações são consequências da liberação iônica pelo uso de aparelhos. (MENEZES et al., 2009).

Quando existente na cavidade bucal, o aparelho ortodôntico tem o processo de corrosão estimulado pelos metais que constituem a aparelhagem, pois nesse ambiente existem elementos químicos que são ofensivos ao aço inoxidável. (WESTPHALEN, 2006). Fatores como: quais íons são liberados, quantidades liberadas, duração da exposição desses íons aos tecidos, dentre outros, influenciam na resposta biológica do organismo. Dessa maneira, o potencial de provocar reações alérgicas dos fios ortodônticos e outras ligas metálicas associam-se a maneira e o tipo de liberação dos íons metálicos. (GRIMAUDO, 2001).

As respostas de hipersensibilidade na maior parte dos casos em ortodontia expressa indícios locais, que podem causar alterações sistêmicas ocasionalmente. Por conta disso o objeto de estudo na literatura tem sido a atenção em relação à segurança e saúde do paciente por ser um fato preocupante, visto que a maioria dos aparelhos e dispositivos empregados na especialidade são constituídos por elementos químicos referentes a modificações no sistema imunológico (MENEZES et al., 2009).

A princípio os efeitos agudos determinados pelos íons metálicos geravam grandes preocupações, isso porque esses efeitos são considerados incomuns de acordo com os padrões ambientais e ocupacionais que comandam os regulamentos legais. Assim sendo, o interesse sobre as alterações crônicas ou de longo prazo tem aumentado,

isso porque a relação de causa e efeito não é percebida rapidamente e o usuário pode vir a ter efeitos subclínicos (MENEZES, et al., 2009).

Podem ser citadas como efeitos adversos as reações alérgicas já mencionadas, mas outro ponto de fundamental importância na avaliação do emprego de metais pesados na Ortodontia do qual é foco do presente trabalho, é o potencial genotóxico, citotóxico e carcinogênico desses metais, uma vez que elementos metálicos como o níquel e o cromo apresentam resultados positivos relacionados à toxicidade genética. Estudos in vivo, mostraram que metais como o níquel e o cobalto liberados de aparelhos ortodônticos podem causar quebras no DNA de células da mucosa bucal (FACCIONI et al., 2003).

Níquel (8%) e cromo (18%) são alguns dos constituintes das ligas metálicas ortodônticas e estão frequentemente sujeitos ao procedimento corrosivo quando existente na cavidade oral (MATASA, 1995; GRIMAUDDO, 2001). Esses metais merecem maior atenção, pois foram observados efeitos deletérios ocasionados por eles, o cromo por promover mutações locais no DNA, transformações oxidativas nas proteínas e danos aos cromossomos e o níquel por ser um elemento tóxico (DAYAN; PAINE, 2001; WATAHA, 2000).

Dessa forma, os materiais odontológicos formados por liga metálica provocam modificações na atividade biológica e no DNA dos tecidos envolvidos, então é necessário um aumento de pesquisas na área de toxicologia desses materiais utilizados na odontologia. (WATAHA, 2000).

O teste de frequência de micronúcleos é uma opção de análise das células que é utilizada para verificar os danos ao material genético, pois é considerado um método bastante sensível para este fim. Os micronúcleos são formações extranucleares derivados a partir de cromossomos ou de fragmentos destes, que durante a mitose não foram adicionados ao núcleo da célula principal (FENECH et al., 2000).

Segundo Fenech (2000) lesões oxidativas assim como as pontes de DNA estão diretamente associados a presença de micronúcleos, visto que induz a clastogênese ou aneugênese, que são a quebra e a perda, respectivamente, dos cromossomos.

Os micronúcleos podem surgir de qualquer quebra de DNA, levando em conta os fragmentos do cromossomo sem centrômero (acêntricos) que estão atrasados em

anáfase. A formação de micronúcleos é um biomarcador considerado, pois é um indicativo eficiente de doenças e nos processos associados de danos ao DNA (WESTPHALEN et al.,2008).

Durante a análise do teste de micronúcleos, também devem ser levadas em consideração outras anomalias nucleares encontradas nos esfregaços citopatológicos da mucosa bucal, pois estas também refletem eventos que podem estar ligados à carcinogênese. Dentre as anomalias celulares encontradas destacam-se: cariorrexe, picnose, cariólise, binucleação e “broken egg” (BOHRER, 2003). Ribeiro, em 2003, afirmou que uma vantagem da técnica de micronúcleos é a avaliação da frequência de outras anomalias provenientes de alterações do fuso de células em divisão mitótica, como pontes entre núcleos, núcleos irregularmente divididos.

Assim, conhecendo os possíveis efeitos adversos desses metais que formam os aparelhos ortodônticos, é necessários estudos adicionais para se conhecer melhor a ação citotóxica mutagênica, e genotóxica desses íons metálicos, entendendo a forma de mutação, o tipo de morte celular que causa e quais são os seus efeitos ao longo prazo já que o tratamento com esse tipo de aparelho dura até mais de 02 anos nos pacientes que são submetidos a esse tipo de correção dentária.

2 DESENVOLVIMENTO (Anexação do Artigo)

Avaliação mutagênica relacionada ao uso de aparelhos ortodônticos em células da mucosa oral.

Aline Lima da Rocha¹; Ellifran Bezerra de Siqueira Dantas¹; Lourran Paula Lacerda¹, Gilberto Santos Cerqueira², Ana Paula Peron³, Felipe Cavalcante Carneiro da Silva³, João Marcelo de Castro e Sousa³

1. Graduandos do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, CSHNB. CEP: 64.607.670. Picos-PI, Brasil.
2. Professor do Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Piauí, CSHNB-Picos. CEP: 64.607.670. Picos-PI, Brasil.
3. Professores do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, CSHNB- Picos. CEP: 64.607.670. Picos-PI, Brasil.

Resumo

Atualmente é grande a exposição humana a agentes mutagênicos que são eficazes em causar danos ao material genético. Entre eles estão os aparelhos ortodônticos fixos, que ficam em um ambiente ideal para a liberação de íons, capazes de afetar as células e causar danos a saúde. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar a mutagenicidade em células da mucosa oral de pacientes que usam aparelho ortodôntico fixo e fazer a relação com o tempo de exposição. O estudo foi realizado através do levantamento de dados, aplicação de questionários de saúde e análise citogenética, a toxicidade foi analisada pelo teste de micronúcleos utilizando células da mucosa oral dos pacientes. A população estudada foi composta de um Grupo Teste, constituída por 45 pessoas que faziam uso de aparelho, esses divididos em três subgrupos em relação ao tempo de uso e um Grupo Controle, composto por 15 indivíduos previamente selecionados, após análise dos dados de saúde e estilo de vida. Os resultados deste estudo mostraram que a frequência de danos cromossômicos e celulares dos pacientes que faziam uso de aparelho de liga metálica aumentou significativamente em função do tempo de uso ($p < 0,01$) em relação ao grupo controle. Com a obtenção desses resultados é importante que se tenha conhecimento da capacidade que essas ligas metálicas possuem de liberar íons na medida em que os mesmos permanecem em contato com o meio bucal, pois estes podem provocar danos celulares ao organismo e diante disso adotar materiais que possuam menor poder de corrosão para se oferecer um tratamento mais seguro aos pacientes.

Palavras-chave: Íons metálicos, danos celulares, genotoxicidade

Abstract

Currently, is great the human exposure to mutagenic agents that are effective in causing damage to the genetic material. Among these are the orthodontic appliances fixed, which are in an ideal environment for the release of ions and can affect the cells, causing damage to health. Thus, the aim of this study was to evaluate the mutagenicity in oral mucosa cells of patients that using orthodontic appliances fixed and make the relation with the exposure time. The study was conducted by surveying data, application of health questionnaires and cytogenetic analysis, the toxicity was assessed by micronucleus test using oral mucosa cells of patients. The study population consisted of a test group, composed of 45 people who made device use, these were divided into three subgroups regarding the use of time and a control group consisting of 15 individuals previously selected after analysis of health data and lifestyle. The results of this study showed that the frequency of chromosome damage in cells of patients who used appliances of metallic alloy increased significantly due to the time of use ($p < 0.01$) compared to the control group. Through these results, it is important to have knowledge of the ability of these alloys have to release ions to the extent that they are in contact with the oral environment, as these can cause cellular damage to the body and so adopt materials having lower power corrosion to offer a safer treatment to patients.

Keywords: Metal ions, cell damage, genotoxicity

1 Introdução

A exposição humana, aos agentes mutagênicos, efetivos em causar danos ao material genético, constitui uma das grandes preocupações no mundo atual. Tais agentes estão relacionados ao desenvolvimento de câncer, considerado doença genética, pois resultam de alterações em genes que controlam a proliferação e a diferenciação celular (protooncogenes e genes supressores de tumor) ou de alterações em genes comprometidos com os mecanismos de reparo do DNA (BALMAIN et al., 2003).

Dentre esses agentes prejudiciais, estão os aparelhos ortodônticos que são frequentemente feitos de liga de aço inoxidável que contém metais como cromo, níquel e ferro (WATAHA, 2000). As propriedades da boca oferecem um ambiente ideal para a biodegradação dos aparelhos ortodônticos, conseqüentemente facilita a liberação de íons metálicos que estão relacionados com diversos efeitos adversos à saúde, como a toxicidade celular e genética (DAYAN e PAINE, 2001; VALKO et al., 2005; THOMAS et al., 2007).

Existem inúmeros estudos in vitro que têm demonstrado a liberação de metais a partir de ligas ortodônticas. Entretanto, existem poucas pesquisas in vivo sobre os

efeitos adversos da liberação do metal, sua absorção e toxicidade. Com isso, há a necessidade de se fazer estudos sobre a genotoxicidade desses metais que são utilizados nos aparelhos ortodônticos e que estão, assim, em contato direto com as células bucais do paciente.

Vários testes de curta duração estão disponíveis para a avaliação de perigo genético. Esses modelos são frequentemente categorizados pelos indicadores biológicos que avaliam tais como: mutação gênica, dano cromossômico ou lesão no DNA (CEBULSKA-WASILEWSKA et al., 2007). Dentre os testes utilizados, o ensaio de micronúcleo tem emergido como um método preferencial para medir o dano cromossômico, pois pode detectar tanto perda quanto quebra cromossômica, visto que são biomarcadores que se manifestam em curto prazo após exposição e sua frequência encontra-se elevada em tecidos expostos antes que qualquer sinal clínico seja evidente (TITENKO-HOLLAND et al., 1994).

Agentes químicos (fumo, álcool e hábitos alimentares), físicos (trauma mecânico por prótese, aparelhos ortodônticos, má oclusão e radiação) ou biológicos (biofilme dental), são exemplos de fatores comuns no ambiente bucal, e podem representar um potencial de formação de micronúcleos às células epiteliais (FENECH et al., 2000).

Com o propósito de informar sobre os reais riscos que a liberação de íons metálicos em aparelho ortodônticos contendo aço na sua constituição pode causar no meio bucal, o presente estudo tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos citotóxicos e mutagênicos da exposição contínua em células epiteliais da mucosa bucal de aparelhos ortodônticos formados por liga metálica, investigando a frequência de danos cromossômicos que podem causar instabilidade no material genético, podendo levar ao aparecimento de neoplasias malignas.

2 Material e métodos

2.1 Tipo do estudo e População-Alvo

Tratou-se de um estudo transversal, explicativo e quantitativo realizado por meio do levantamento de dados, aplicação de questionários de saúde e análise mutagênica realizada através do teste de micronúcleo em células esfoliadas da mucosa bucal. Fizeram parte da população estudada alunos da Universidade Federal do Piauí,

Campus Senador Helvidio Nunes de Barros Picos-PI/Brasil, submetidos a tratamento odontológico pelo uso de aparelho ortodôntico constituído por liga metálica de aço.

2.2 Amostra

A amostra foi constituída por 60 indivíduos divididos em dois grupos: **Grupo Teste**, composto por 45 pacientes que estavam em tratamento, utilizando o aparelho ortodôntico composto por liga metálica de aço, esses divididos em três subgrupos em relação ao tempo de uso: **1)** 15 pacientes com uso de 3 a 8 meses de uso; **2)** 15 pacientes com tempo de uso entre 20 e 28 meses e **3)** 15 pacientes com uso acima de 36 meses. O segundo grupo - **Grupo Controle** - constituído por 15 indivíduos previamente selecionados, após análise dos dados de saúde e estilo de vida. A quantidade de indivíduos da amostra seguiu os padrões de controle internacional do uso do teste de micronúcleo como biomarcadores de genotoxicidade (SILVA, 2005; ÜNAL et al., 2005; BAKOPOULOU et al., 2008; LEAL, 2009). Todos os pacientes foram informados sobre os detalhes do estudo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e responderam ao questionário de saúde pessoal, ambos de acordo com modelo recomendado pela International Commission for Protection against Environment Mutagens and Carcinogens (ICPEMC) Mutation Research, 204:379-406. 1998).

No questionário foram solicitados os dados de saúde e estilo de vida, como: idade, etnia, hábito de fumar, consumo de bebidas alcoólicas, uso de enxaguante bucal. A partir desse questionário selecionou-se o grupo teste.

2.3 Teste de micronúcleo e análise dos dados

O teste de micronúcleo é atualmente usado como padrão de teste de mutagenicidade cromossômica e segue a norma OECD – “Guidelines for the Testing of Chemicals/section 4: Health Effects – Mammalian Erythrocytes. Micronúcleos Test: nº - 474 e a recomendação do Gene – Toxprogram, Environmental Protection Agency – EPA/US”. A análise das alterações nucleares pode ser feita através da quantificação de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa bucal. O teste de micronúcleos pode ser usado para evidenciar a ação mutagênica de agentes físicos, tanto em estudos *in vivo* com em estudos *in vitro* (FENECH et al. 2000).

O protocolo foi padronizado segundo Cerqueira *et al.* (2004), com algumas modificações. Realizou-se raspagem na mucosa bucal com espátulas descartáveis. O

material coletado de cada indivíduo foi depositado em 5 ml de solução salina (0,9% NaCl). Após este procedimento, o material foi centrifugado por dez minutos (1500 RPM) e lavado três vezes, com solução salina. Depois da última lavagem colocou-se 50 a 100 μ L da suspensão celular sobre as lâminas (pré-aquecidas à 37 °C) em forma de gotas, secando o material sobre a lâmina por 15 minutos em placa quente. A fixação se deu com metanol: ácido acético (3:1), por 15 minutos e secas em temperatura ambiente. Após esta última etapa, as lâminas foram imersas em água destilada por 1 minuto e coradas com Giemsa a 2% por 15 minutos. Cerca de 3.000 células por indivíduos (1.000 células por lâminas) foram observadas em microscopia óptica, com o aumento de 100 X e as frequências de micronúcleos, células binucleadas, cariólise e cariorrexe analisadas e calculadas.

2.4 Análise Estatística

Os dados foram registrados numa planilha própria para posterior análise estatística. As diferenças entre os dois grupos em estudo foram comparadas por ANOVA unifatorial, seguida da aplicação do Pós-teste de Fisher LSD, adotando um nível de significância de $p < 0,01$. O software utilizado foi o STATISTIC, versão 8.0.

Para as associações dos dados dos questionários de saúde pessoal (consumo de bebidas alcoólicas, uso de medicamentos, hábito de fumar, consumo de refrigerantes, adoçantes e café) com o uso de aparelho ortodôntico de liga metálica foram utilizados o teste do Qui-quadrado no programa estatístico Graphpad Prism 5, adotando um nível de significância de $p < 0,05$.

3 Resultados e discussão

Os dados de saúde e estilo de vida, como: idade, etnia, carga horária de trabalho semanal, hábitos de fumar, consumo de bebidas alcoólicas, alimentos, café e refrigerantes, consumo de medicamentos ou uso de enxaguantes bucais, caracterizaram a população de estudo a partir das informações obtidas pelos pacientes através do questionário de saúde (Tabela 01).

Tabela 01. Características da população de pacientes expostos a liberação de íons pelo uso de aparelho ortodôntico. Fonte: Pesquisa Direta.

Características da população	EXPOSTOS T1 (N=15)	EXPOSTOS T2 (N=15)	EXPOSTOS T3 N=(15)	CONTROLE N=20	P
Idade	23 ± 2,03 (19-26)	21 ± 3,15 (19-24)	25 ± 2,25 (19-30)	24,45 ± 5,82 (19-39)	
Grupo étnico					
Caucasiano	53%	60%	27%	20%	
Negro	20%	7%	27%	25%	
Outro	27%	33%	46%	55%	
Hábito de fumar					
Sim	7%	7%	7%	0%	0,304
Não	93%	93%	93%	100%	
Consumo de cerveja semanal					
Sim	53%	27%	13%	45%	0,296
Não	47%	73%	87%	55%	
Consumo de medicamentos por dia					
Prescritos	20%	33%	27%	15%	0,103
Não prescritos	67%	47%	46%	50%	0,654
não utilizou	13%	20%	27%	35%	
Uso de enxaguante bucal					0,834
Sim	7%	20%	20%	13%	
Não	93%	80%	80%	87%	
Consumo diário de adoçante					0,619
Sim	7%	7%	13%	13%	
Não	93%	93%	87%	87%	
Consumo de refrigerante					0,987
Sim	93%	100%	93%	93%	
Não	7%	0%	7%	7%	
Consumo diário de café					0,884
Sim	67%	80%	73%	47%	
Não	33%	20%	27%	53%	

Nos dados apresentados na tabela 1 verificou-se que a idade dos participantes variou de 19 a 30 anos, onde prevaleceu um maior uso desse tipo de aparelho por pessoas mais jovens. De modo geral nenhum item das características analisadas no questionário de Saúde, mostrou significância associado ao uso de aparelhos, ou seja, nenhum dos itens analisados intensificou ou justificou os danos celulares e cromossômicos observados no presente estudo. Dessa forma não interferiu nos resultados obtidos nesse estudo, onde as pessoas foram criteriosamente selecionadas para este fim.

A frequência de micronúcleos e brotos nucleares (broken egg) nesses estudantes usuários de aparelho ortodôntico apresentou-se aumentada de forma estatisticamente significativa ($p < 0,01$) em relação aos indivíduos que não são expostos a liga metálica (Grupo Controle), correlacionando, desse modo a uma possível mutagenicidade. Foram observados também, com valores estatisticamente significantes, em relação ao grupo controle ($p < 0,01$), indícios de apoptose pelos mecanismos de fragmentação e de dissolução nuclear em todos os indivíduos que possuem suas células esfoliativas bucais expostas a esse tipo de aparelho ortodôntico formado por liga metálica, e muito provavelmente exposto aos íons metálicos liberados por tais aparelhos conforme descrito na Tabela 02.

Tabela 02: Avaliação de mutagenicidade, de anormalidades nucleares indicativas de apoptose e de citotoxicidade em epitélio bucal de indivíduos que utilizam aparelhos ortodônticos constituídos por liga metálica. Grupo 01: entre 03 a 08 meses; Grupo 02: entre 12 a 24 meses; Grupo 03: > 36 meses.

Grupos	Micronúcleo e broto nuclear em 3000 células	Cariorrexe in 3000 células	Cariólise in 3000 células	Células binucleadas em 3000 células	Total de danos celulares
Controle (n= 15)	1,6 ± 2,41	0,07 ± 0,26	9,0 ± 5,08	0,73 ± 2,58	11,40 ± 6,35
G1-Entre 03 a 08 meses (n= 15)	9,33 ± 1,91a	26,8 ± 8,56a	178,8 ± 8,98 ^a	4,53 ± 2,58a	219,86 ± 9,63a
G2-Entre 12 a 24 meses (n= 15)	14,93 ± 4,49ab	33,73 ± 2,67 ^a	209,66 ± 10,68 ^a	4,53 ± 2,66a	262,86 ± 4,18ab
G3- > 36 meses (n= 15)	24,07 ± 4,71ac	38,73 ± 4,95ab	213,26 ± 11,88 ^a	7,07 ± 2,86ac	283,13 ± 1,98ab

a: difere estatisticamente do CN. b: difere estatisticamente do grupo 01; c: difere estatisticamente do grupo 01 e grupo 02. Dados significantes para $p < 0,05$. ANOVA. Pós-teste de Fisher LSD.

O “broken egg” é descrito como uma forma nuclear bastante anômala, da qual não se sabe a origem ou significado. Bohrer (2003) acredita que o “broken egg” represente uma primeira alteração nuclear, provavelmente uma resposta adaptativa à ação do agente clastogênico. Quando essa ação é intensificada, origina-se um micronúcleo.

O teste de micronúcleos em células epiteliais esfoliadas tem sido um biomarcador útil de exposição ocupacional a produtos químicos genotóxicos (CELIK et al., 2003). Como demonstrado neste estudo, outras alterações nucleares, tais como células binucleadas, cariólise e cariorrexe, também são indicadores úteis da exposição a substâncias químicas e resposta tóxica. Uma vez que, a frequência aumentada de

alterações celulares relacionadas à apoptose é indicativa de genotoxicidade. Portanto, uma combinação de micronúcleos e alterações nucleares, pode aumentar a sensibilidade da técnica de micronúcleos na avaliação de genotoxicidade.

Burgaz et al. (2002) realizaram um estudo com técnicos de laboratórios odontológicos a fim de avaliar os danos genéticos nas células bucais esfoliadas e linfócitos desses indivíduos. Para avaliar a genotoxicidade dos elementos metálicos, foi utilizada a técnica de micronúcleos. Os resultados indicaram que a exposição a metais como níquel, cromo e cobalto causaram danos genotóxicos nos dois tipos de células analisadas. No entanto, não foi possível verificar quais dos metais foram responsáveis pelos danos genotóxicos observados.

Provavelmente, a frequência de MN e brotos nucleares (broken egg) estatisticamente significante estejam relacionados a liberação e consequente exposição dos íons metálicos, como ferro, níquel e cobalto nas células bucais dos alunos analisados, principalmente levando em consideração quando se compara o dano genético (MN e Brot nuclear) com o tempo de exposição, onde o grupo 3 (> 36 meses) apresentou-se com valores de danos cromossômicos significativamente maiores quando comparados com os grupos 1 e 2, que apresentam tempo de exposição menor do que o grupo 03.

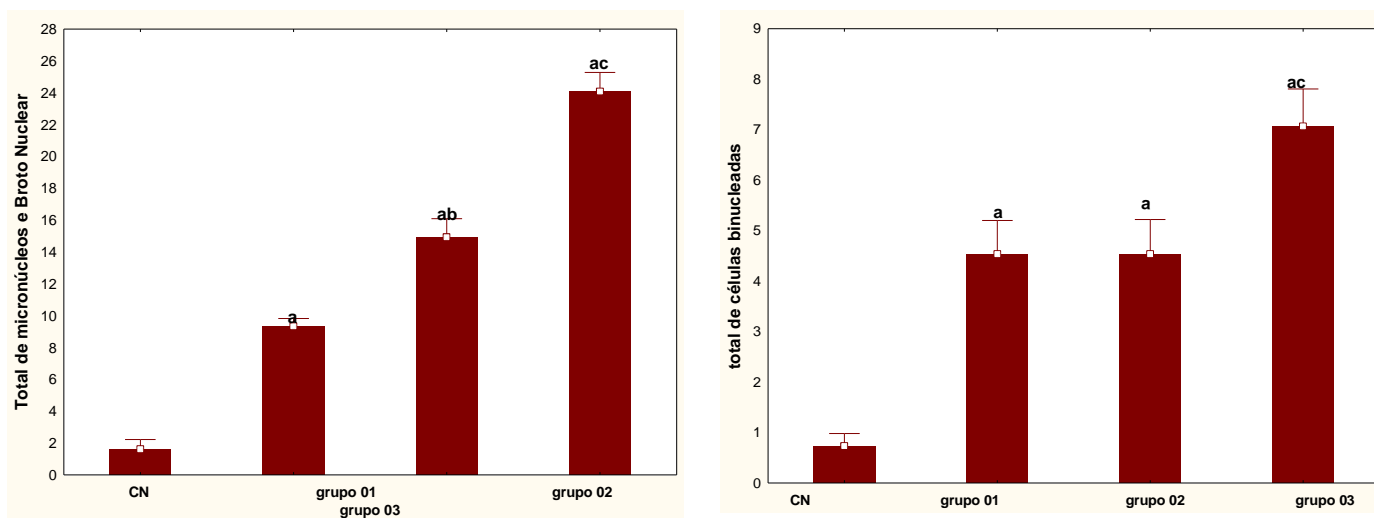
Em 2003, Faccioni et al. investigaram in vivo a biocompatibilidade e possíveis danos no DNA de células da mucosa bucal decorrente do uso de aparelhos ortodônticos fixos. Analisou-se a presença de íons metálicos em células da mucosa bucal, a citotoxicidade e os possíveis efeitos genéticos dos íons metálicos. O conteúdo de níquel e cobalto foi quantificado pelo teste de espectrofotometria. Os resultados mostraram que a concentração de níquel e cobalto foi de 3,4 e 2,8 mais altas, respectivamente, nos indivíduos com aparelhos do que do grupo-controle. Os efeitos biológicos avaliados pelo ensaio cometa alcalino indicaram que ambos os metais induzem danos no DNA. Os autores verificaram que as células da mucosa bucal de pacientes ortodônticos têm concentrações de níquel e cobalto significativamente maiores do que aquelas encontradas em indivíduos sem aparelho. As células com alta concentração de níquel e cobalto tiveram o DNA afetado.

Existem estudos in vitro que têm demonstrado a liberação de íons metálicos a partir de ligas ortodônticas. Porém, existem poucas pesquisas in vivo sobre os efeitos

adversos da liberação do metal, sua absorção e toxicidade, principalmente quando se trata da associação entre o tempo de exposição e os danos celulares observados. No presente estudo essa associação foi realizada.

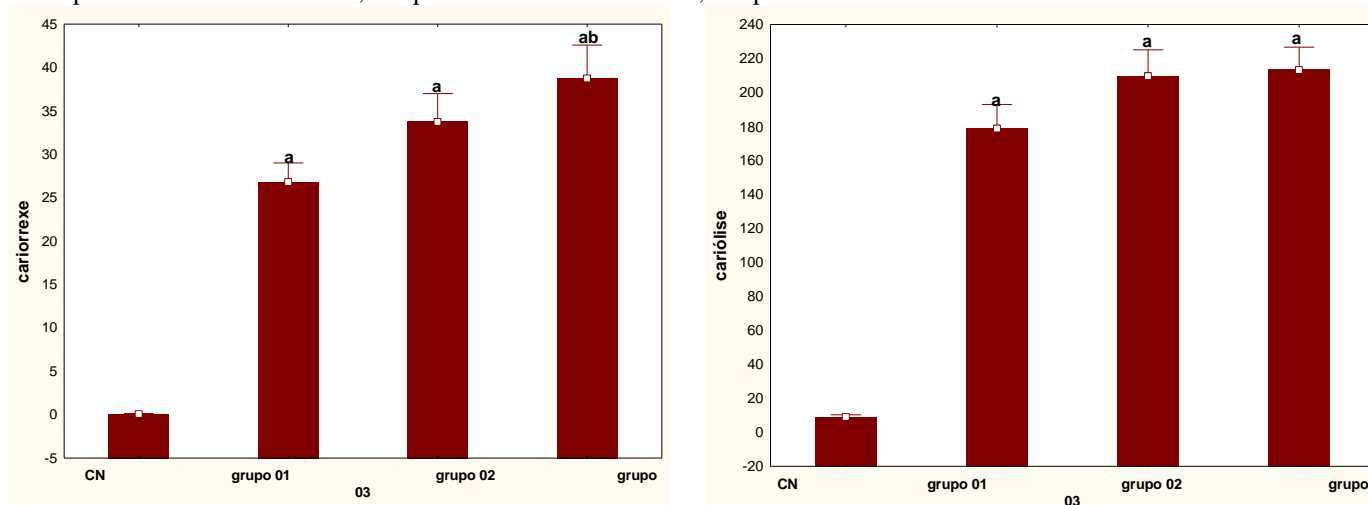
Na avaliação em relação a comparação dos resultados pelo tempo de uso de aparelho ortodôntico, como demonstrado nas figuras 01 e 02, observou-se que a incidência da frequência de micronúcleos e broto nuclear tende a aumentar com o tempo, à medida que fica na cavidade bucal. Através do teste citogenético aplicado neste estudo, verificou-se que nos grupos 1, 2 e 3 mostrou alterações significativas em relação ao grupo controle. Com o teste aplicado, também foram observados, em decorrência pelo tempo de uso do aparelho, aumento do número de células binucleadas (Figura 01), cariorrexe e cariólise (Figura 02), que do mesmo modo são alterações nucleares causadas pela fragmentação ou dissolução do núcleo, indicativas de danos celulares.

Figura 01: Dados significantes para $p < 0,01$ em células do epitélio bucal de indivíduos que utilizam aparelhos ortodônticos constituídos por liga metálica. a) micronúcleo e b) células binucleadas. Grupo 01: entre 03 a 08 meses; Grupo 02: entre 12 a 24 meses; Grupo 03: > 36 meses.



a: difere estatisticamente do CN. b: difere estatisticamente do grupo 01; c: difere estatisticamente do grupo 01 e grupo 02. Dados significantes para $p < 0,05$. ANOVA. Pós-teste de Fisher LSD.

Figura 02: Dados significantes para $p < 0,05$ em células do epitélio bucal de indivíduos que utilizam aparelhos ortodônticos constituídos por liga metálica. a) cariorrexe (fragmentação nuclear) e b) cariólise (dissolução nuclear). Grupo 01: entre 03 a 08 meses; Grupo 02: entre 12 a 24 meses; Grupo 03: > 36 meses.



a: difere estatisticamente do CN. b: difere estatisticamente do grupo 01; c: difere estatisticamente do grupo 01 e grupo 02. Dados significantes para $p < 0,05$. ANOVA. Pós-teste de Fisher LSD.

O resultado da presente pesquisa corrobora também com os resultados obtidos em uma pesquisa *in vitro* por Dolci e colaboradores (2008), onde puderam perceber uma relação positiva entre tempo e liberação iônica, sugerindo que as concentrações de íons ferro, níquel e cromo liberados em solução salina aumentaram significativamente em função do tempo.

A capacidade que os materiais dentários possui de provocar reações no organismo tem sido continuamente estudado (WATAHA, 2000; JOHN, 2007). A literatura científica aponta que o estudo dessas propriedades é fundamental por assegurar mais segurança aos pacientes que irão passar por tratamento (MONTANARO, 2005). Segundo Beyersmann (2008) e Amini, et al., (2008) alguns materiais ortodônticos como fios, suportes, solda e resinas possuem componentes conhecidos pelo seu potencial alérgico, citotóxico, mutagênico e/ou carcinogênicos. Por permanecer dentro da cavidade oral por longos períodos, estes materiais estão sujeitos a corrosão, provocando assim, a liberação de substâncias. (AMINI, et al, 2008; MATOS e MENEZES, 2008). Substâncias essas, que causam o aumento da frequência de micronúcleos associado a outras alterações nucleares como cariólise e cariorrexe como observadas nesse estudo, induzindo assim mutagenicidade, uma vez que o tempo de uso do aparelho pode causar possíveis alterações celulares no organismo.

Assim, os resultados aqui obtidos são de fundamental importância por contribuir com dados de pesquisa científica na área, já que poucos trabalhos in vivo foram realizados no que diz respeito ao uso de aparelho ortodôntico e o tempo de exposição, sendo, portanto, escassas as informações fornecidas na atualidade sobre essa relação.

3 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se com essa pesquisa que houve um aumento significativo da frequência de micronúcleos em função do tempo de uso do aparelho, comparando-os com o grupo controle. Este aumento é causado, muito provavelmente, pela liberação de metais oriundos do aparelho ortodôntico e estes metais possuem alto poder citotóxico e mutagênico para as células.

Dessa forma, é de grande importância que se tenha conhecimento da capacidade que essas ligas metálicas possuem de liberar íons, pois estes podem provocar danos celulares ao organismo, o ideal é que os profissionais optem pelo uso de materiais que tenham menor poder de corrosão, pois estes tendem a ter uma menor liberação de íons metálicos para o meio bucal e assim pode reduzir danos aos pacientes em tratamento ao utilizar materiais biocompatíveis.

REFERÊNCIAS

ABREU PEREIRA F., ALVES, G.G., CASTRO, L.O., LINHARES, A.B.R., MAIA, M.D.C., GRANJEIRO, J.M., CALASANS-MAIA, J.A., Avaliação multiparamétrica da citotoxicidade in vitro de um fio ortodôntico à base de resina polimérica reforçada com fibra de vidro. **Innov Implant J, Biomater Esthet**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 35-40, jan./abr. 2010.

AMINI F, BORZABADI FA, JAFARI A AND RABBANI M., In vivo study of metal content of oral mucosa cells in patients with and without fixed orthodontic appliances. **Orthod Craniofac Res**, 11(1): p. 51-6, 2008.

BALMAIN, A., GRAY, J., AND PONDER, B. The genetics and genomics of cancer. **Nat. Genet.** 33 Suppl: 238–244, 2003.

BAKOPOULOU, A; Mourelatos, D; Tsiftoglou, A. S; Giassin, N. P; Mioglou, E; Garefis, P., Genotoxic and cytotoxic effects of different types of dental cement on normal cultured human lymphocytes. **Mutation Research.** v.672 , p.103–112 , 2008.

BEYERSMANN, D. AND A. HARTWIG, Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. **Arch Toxicol**, 82(8): p.493-512, 2008.

BISHARA, S. E. Oral lesion caused by an orthodontic retainer: a case report. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v. 108, no. 2, p. 115-117, Aug. 1995.

BOHRER, P. L. Avaliação das alterações citopatológicas da mucosa bucal clinicamente normal exposta a carcinógenos. **Dissertação (Mestrado)** -Universidade Federal do Rio

Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

BURGAZ, S.; ÇAKMAK, G. D.; KARAHALIL, B.; KARAKAYA, A. E. Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt, and nickel. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 521, p. 47-56. Aug., 2002.

CEBULSKA-WASILEWSKA, A. CEBULSKA-WASILEWSKA, A.; PAWLYK, I.; PANEK, A.; WIECHEC, C. A., Exposure to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons: Influences on cellular susceptibility to DNA damage (sampling Kosice and Sofia). **Mutation Research**. V. 620. P. 145-154. 2007.

CELIK, A.; CAVAS T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. **Mutagenesis**. 2003.

CERQUEIRA, E., GOMES-FILHO, S., LOPES M., PASSOS, J., MACHADO-SANTELLI. Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to X-rays during panoramic dental radiographies. **Mutation Research**, v. 562, p. 11-117, 2004.

DAYAN AD AND PAINE A.J. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: review of the literature from 1985 to 2000. **Hum. Exp. Toxicol.** 20: 439-451. 2001.

DOLCI, G.S. ; MENEZES L.M.; SOUZA R.M; DEDAVID B.A. Biodegradação de braquetes ortodônticos: avaliação da liberação iônica in vitro. **R Dental Press Ortodontia Ortop Facial** , Maringá, v.13, n.3, p. 77-84, maio/jun. 2008.

FACCIONI, F. et al. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v. 124, no. 6, p. 687-694, Dec. 1994.

FACCIONI, F., FRANCESCHETTI P., CERPELLONI M., FRACASSO M.E. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v. 124, no. 6, p. 687-693, 2003.

FARRONATO, G., TIRAFILI C., ALICINO C., SANTORO F. Titanium appliances for allergic p-patients. **J Clin Orthod.** ,Boulder, v. 36, n. 12, p. 676-679, Dec., 2002.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 455, n.1-2, p. 81-95, Nov., 2000.

GRIMAUDO, N. J. Biocompatibility of nickel and cobalt dental alloys. **Gen Dent.**, Chicago, v. 49, n. 5, p. 498-503, Sep./Oct., 2001.

LEAL, L. S. **Avaliação Da Mutagenicidade Induzida Por Raios X Periapical Em Células De Mucosa Bucal De Pacientes Em Tratamento Odontológico.** Universidade Luterana do Brasil Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada. Canoas, 2009.

MATASA, C. G. Attachment corrosion and is testing. **J Clin Orthod.**, Boulder, v. 29, n. 1, p.16-23. Jan. 1995.

MATOS DE SOUZA, R. AND L. MACEDO DE MENEZES. Nickel, chromium and iron levels in the saliva of patients with simulated fixed orthodontic appliances. **Angle Orthod**, 78(2): p. 345-50, 2008.

MENEZES, L. M.; FREITAS, M. P. M.; GONÇALVES, T. S.. Biocompatibilidade dos materiais em Ortodontia: mito ou realidade? **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, Maringá, v.14, n.2, p. 144-157, mar./abr. 2009.

MONTANARO, L., CERVELLATI M., CAMPOCCIA D., PRATI C., BRESCHI L., ARCIOLA C.R., No genotoxicity of a new nickel-free stainless steel. **Int J Artif Organs**, 28(1): p. 58-65, 2005.

SILVA, E. A. da. **Quantificação de Alterações Nucleares nas Células Epiteliais Esfoliadas da Mucosa da Língua Associadas à Radiografia Panorâmica e Análise do Padrão de Qualidade deste Exame**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

ST JOHN, K.R., Biocompatibility of dental materials. **Dent Clin North Am**.51(3): p. 747-60, v.3,2007.

THOMAS P, HARVEY S, GRUNER T AND FENECH M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. **Mutat. Res**. v. 638: 37-47,2008.

TITENKO-HOLLAND N., MOORE L.E. AND SMITH M.T. Measurement and characterization of micronuclei in exfoliated human cells by fluorescence *in situ* hybridization with a centromeric probe. **Mutat. Res**. v. 312,p. 39-50, 1994.

UNAL, M; CELIK, A; ATES, N. A; MICOZKADIOGLU, D; DERICI, E; PATA, Y. S; AKBAS. Y. Cytogenetic biomonitoring in children with chronic tonsillitis: Micronucleus frequency in exfoliated buccal epithelium cells. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology** . v. 69, p. 1483—1488, 2005.

VALKO M, MORRIS H AND CRONIN MT. Metals, toxicity and oxidative stress. **Curr. Med. Chem**. 12: 1161-1208, 2005.

WATAHA, J.C., LOCKWOOD, P.E. Release of elements from dental casting alloys into cell-culture medium over 10 months. **Dent Mater** 14, 158–163, 1998.

WATAHA, J. C. Biocompatibility of dental casting alloys: A review. **J Prosthet Dent**.,Saint Louis, v. 83, n. 2, p. 223-34. Feb. 2000.

WATAHA, J C.; MESSER, R. L. Casting alloys. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 48, no. 2, 2004.

WESTPHALEN, G. H. Avaliação de hipersensibilidade a metais e toxicidade genética associadas ao uso de aparelhos ortodônticos fixos. 2006. Dissertação (Mestrado)- Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

WESTPHALEN G.H., MENEZES L.M., PRAD, GARCIA G.G., SCHMITT V.M., HENRIQUES J.A., et al., *In vivo* determination of genotoxicity induced by metals from orthodontic appliances using micronucleus and comet assays. **Genetics and Molecular Research** 7 (4): 1259-1266, 2008.

ANEXO

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE PESSOAL

QUESTIONÁRIO DE SAÚDE PESSOAL (De acordo com o modelo recomendado por: International Commission for Protection against Environment Mutagens and Carcinogens (ICPEMC) Mutation Research, 204:379-406, 1998)

Este questionário, assim como o estudo a ele relacionado, deve ser de seu interesse. A participação é espontânea e constará destas informações gerais sobre a sua saúde e dieta, mais uma coleta de material para estudo citogenético. O estudo consiste em uma avaliação de mutações nas células de cada participante. Mutações ocorrem normalmente nas células de todas as pessoas em nível bastante baixo, e são apontadas, entre outros efeitos, nos processos de envelhecimento e do câncer.

Trabalhadores em atividades de risco (por exemplo, radiologia, quimioterapia, uso de óxido de etileno e outras), se não seguirem normas adequadas de segurança, podem aumentar a frequência de mutações cromossômicas em suas células. Este estudo poderá servir como sinal de alerta para prevenir e melhorar as condições de segurança. Caso não se encontre diferenças entre trabalhadores de atividades de risco e outros de atividade diversas, poderemos concluir tomando cuidados com a ida no local de trabalho.

Leia e responda cuidadosamente as seguintes questões. A informação dada por você não será associada com seu nome, sendo conhecida apenas pelos pesquisadores associados a este estudo. As respostas deste questionário poderão ter influência direta na interpretação de nossos resultados. Por isso, contamos com sua cooperação em fornecer informações corretas.

Obrigada pelo seu interesse.

1. Nome:	
2. Para ser preenchido pelo pesquisador: código nº	Data:

Esta folha será destacada das demais do questionário e arquivada. Apenas o número do código será usado como identificação nas próximas páginas. Se espaços adicionais forem necessários para completar a resposta, por favor, escreva atrás da página e identifique o complemento da resposta com o número da questão.

HISTÓRIA PESSOAL

3. Data de hoje:	Qual sua idade(em anos)?
4. Sexo: () Masculino () Feminino	

5. A qual grupo étnico você pertence: () Caucasiano () Negro () Chinês () Japonês () Outro. Qual?
6. Qual o seu estado civil? () Casado () Solteiro () Separado () Divorciado () Viúvo
7. De quantos filhos você é pai natural? (Isto é, não inclua filhos adotados e de criação, e inclua filhos que moram separadamente).
8. Qual é a renda mensal de sua família? salários

HISTORIA OCUPACIONAL

9. Qual o seu local de trabalho?
10. Há quanto tempo você trabalha neste local? Se há menos de dez anos, onde você trabalhou previamente e por quanto tempo?
11. Que tipo de trabalho você faz?
12. Qual é a carga horária semanal?

EXPOSIÇÃO

13. Liste agentes químicos (por exemplo, gases tóxicos, benzeno, chumbo, fármacos, agrotóxicos, etc.) ou físicos (radiação) a que você se expôs nos últimos dez anos em seu trabalho. Nos últimos 10 anos: quantas vezes por mês: Nos últimos 12 meses:
14. Você usa algum tipo de proteção? () Sim () Não
15. Liste os agentes químicos (agrotóxicos e outros que julgar necessário) ou físicos a que você se expôs nos últimos dez anos fora do seu trabalho. Nos últimos 10 anos: Quantas vezes por mês nos últimos 12 meses.

HISTÓRIA DE FUMO

16. Alguma vez você fumou? () Sim () Não Se não, passe para a questão 19, se sim, continue:
a) Quanto tempo você fumou? (em anos)
b) Você fuma atualmente? () Sim () Não Se sim, passe para 18.
c) Você fuma cigarros? () Sim () Não Se sim, quantas cartelas por dia? () Menos de meia cartela () Meia cartela a uma () Mais de uma cartela? Quantas?

Doença: período da doença: tratamento:																									
B) liste os raios-X diagnósticos e terapêuticos, recebidos nos últimos 10 anos. Razão para o raio-X; data(ano). Você fez alguma cirurgia facial ou dentaria durante o ultimo ano? Data: Razão:																									
C) dê as datas de quando você teve febre nos últimos 12 meses. Data(mês): doença associada: medicamento tomado:																									
21. Você come apenas vegetais? () Sim () Não																									
22. Você come carne? () Sim () Não																									
a) Se sim, com que frequência você come o seguinte: Dias por semana <table border="0"> <thead> <tr> <th></th> <th>Todos os dias</th> <th>1 a 2 dias</th> <th>3 a 4 dias</th> <th>5 a 6 dias</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Carne bovina</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> </tr> <tr> <td>Peixe</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> </tr> <tr> <td>Porco</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> </tr> <tr> <td>Outras</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> <td>()</td> </tr> </tbody> </table>		Todos os dias	1 a 2 dias	3 a 4 dias	5 a 6 dias	Carne bovina	()	()	()	()	Peixe	()	()	()	()	Porco	()	()	()	()	Outras	()	()	()	()
	Todos os dias	1 a 2 dias	3 a 4 dias	5 a 6 dias																					
Carne bovina	()	()	()	()																					
Peixe	()	()	()	()																					
Porco	()	()	()	()																					
Outras	()	()	()	()																					
b) Como você prefere sua carne? () mal passada () no ponto () bem passada																									
23. Você usa adoçantes? () Sim () Não; Quantas vezes por dia																									
24. Você bebe refrigerantes? () Sim () Não																									
25. Comente sobre sua dieta, caso ela tenha algo de especial (por exemplo, dieta rica em proteínas e pobre em carboidratos, etc.)																									
26. Você bebe café? () Sim () Não; Quantas xícaras pequenas por dia?																									
27. Você bebe chá? () Sim () Não; Quantas xícaras por dia?																									
28. Você toma chimarrão? () Sim () Não ; Com que frequência?																									
29. Você bebe cerveja? () Sim () Não Se sim, por favor, indique sua média de consumo semanal: () 1 a 6 garrafas por semana () 7 a 12 garrafas por semana () 13 a 24 garrafas por semana () mais de 24 garrafas por semana. Quantas?																									
30. Você bebe vinho? () Sim () Não Se sim, por favor, indique sua média de consumo semanal: () 1 a 4 copos por semana ou menos () 5 a 8 copos por semana () 9 a 16 copos por semana () Mais de 16 copos por semana. Quantos?																									
31. Você bebe outras bebidas alcoólicas? (excluindo cerveja e vinho) () Sim () Não Se sim, qual ou quais?																									

Por favor, indique a média de consumo semanal
 1 a 4 copos por semana 5 a 8 copos por semana
 9 a 16 copos por semana Mais de 16 copos por semana. Quantos?

HISTÓRIA GENÉTICA

Você tem conhecimento de algum defeito de nascimento ou outra desordem genética ou doença hereditária que tenha afetado seus pais, irmãos, irmãs ou seus filhos?

Sim Não Se sim, por favor, especifique:

Se ele usa enxaguante bucal?

Quanto tempo? _____

Tempo de uso do aparelho? _____

Tipo de aparelho ? _____

Nome da clínica que faz tratamento? _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do estudo: AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA RELACIONADA AO USO DE APARELHOS ORTODÔNTICOS EM CÉLULAS DA MUCOSA ORAL.

Pesquisador(es) responsável(is): João Marcelo de Castro e Sousa, Ana Paula Peron, Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima, Aline Lima da Rocha, Ellifran Bezerra Siqueira Dantas, Lourran Paula Lacerda.

Instituição/Departamento: Universidade Federal do Piauí

Telefone para contato: 8681006336

Local da coleta de dados: Universidade Federal do Piauí

Prezado(a) Senhor(a):

Você está sendo convidado(a) a responder às perguntas deste questionário de forma totalmente **voluntária**. Antes de concordar em participar desta pesquisa e responder este questionário, é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento. Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes que você se decida a participar. Você tem o direito de **desistir** de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem perder os benefícios aos quais tenha direito.

Objetivo do estudo: Avaliar os efeitos mutagênicos produzidos pelo uso de aparelhos ortodônticos de liga metálica de aço.

Procedimentos. Sua participação nesta pesquisa consistirá no preenchimento deste questionário, respondendo às perguntas formuladas que abordam informações gerais sobre a sua saúde e dieta. Caso aceite a participar, serão coletadas células da sua mucosa oral para estudos em Laboratório. O estudo consiste em uma avaliação de mutações nas células de cada participante. Mutações ocorrem normalmente nas células de todas as pessoas em nível bastante baixo, e são apontadas, entre outros efeitos, nos

processos de envelhecimento e do câncer.

Benefícios. Esta pesquisa trará maior conhecimento sobre o tema abordado, com benefício direto para você, investigando o grau de mutagenicidade de substâncias com as quais o participante da pesquisa está diretamente em contato. Assim, os resultados mostrarão se está ocorrendo tais mutações e tentará prevenir essas alterações.

Riscos. O preenchimento deste questionário não representará qualquer risco de ordem física ou psicológica para você.

Sigilo. As informações fornecidas por você terão sua privacidade garantida pelos pesquisadores responsáveis. Os sujeitos da pesquisa não serão identificados em nenhum momento, mesmo quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer forma. Ciente e de acordo com o que foi anteriormente exposto, eu _____, estou de acordo em participar desta pesquisa, assinando este consentimento em duas vias, ficando com a posse de uma delas.

Local e data

Assinatura N. identidade

Pesquisador responsável

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato: Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI - Campus Universitário Ministro Petrônio Portella Bairro Ininga. Centro de Convivência L09 e 10 - CEP: 64.049-550 - Teresina – PI tel.: (86) 3215-5737 - email: cep.ufpi@ufpi.br web: www.ufpi.br/cep



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
() Monografia
(X) Artigo

Eu, Aline Lima da Rocha,
autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Avaliação Mutagênica relacionada ao uso de
aparelhos ortodônticos em células da mucosa oral.
de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 28 de Janeiro de 20 14.

Aline Lima da Rocha

Assinatura