



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA
MESTRADO ACADÊMICO

Paulo de Tarso Jambeiro Brandão

ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS NA DOENÇA PERIODONTAL

FEIRA DE SANTANA

2012

PAULO DE TARSO JAMBEIRO BRANDÃO

ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS NA DOENÇA PERIODONTAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito para obtenção do título de mestre em Saúde Coletiva.

Área de concentração: Epidemiologia das Doenças Bucais

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira

Co-Orientador: Prof. Dr. Isaac Suzart Gomes Filho

FEIRA DE SANTANA

2012

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

Brandão, Paulo de Tarso Jambeiro

B819a Alterações citogenéticas na doença periodontal / Paulo de Tarso
Jambeiro Brandão. – Feira de Santana, 2012.

61 f. : il.

Orientadora: Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira.

Co-orientador: Isaac Suzart Gomes Filho

Paulo de Tarso Jambeiro Brandão

ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS NA DOENÇA PERIODONTAL

Data de defesa: 28 de março de 2012.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira (UEFS)

Profa. Dra. Simone Seixas da Cruz. (UFRB)

Profa. Dra. Susie Vieira de Oliveira (UEFS)

Dedico este trabalho a todos de minha família, entusiastas desse sonho. Especialmente aos pequenos Jorge Gabriel e Maria Luiza que, apenas com o brilho dos olhos, me fizeram seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Deus, por ser em minha vida. Durante todo esse período eu pude notar incríveis milagres diários e incontestáveis provas de seu amor.

Minha família, por ter acreditado e me apoiado. O amor e a presença de cada um de vocês foram essenciais não só nessa conquista mas em toda a minha vida.

Meus primeiros orientadores, meus pais, me ensinaram o valor do estudo, a importância do caráter, a validade da determinação e o conforto do amor.

Meus primeiros colegas, meus irmãos, sempre me mostraram o quão importante é o companheirismo, a amizade e o apoio que somente o amor fraternal conhece.

Minha querida Lulu, onde encontro o mais desprendido e irrestrito senso de carinho, e Jorginho, que nos últimos momentos dessa jornada me abrilhantou sendo essa pequenina promessa de um grande futuro, me deram o frescor da jovialidade e foram refúgios seguros de meus pensamentos.

Minha orientadora, Eneida, uma das mais determinadas e fortes mulheres que já conheci. Muito obrigado pela disponibilidade, pelo carinho, pelas lições de genética e de vida, pelas agradáveis horas e pelos sorrisos.

Meu co-orientador, Isaac, em quem já reconheço um amigo. Sou muito grato pela orientação, pela atenção, por me incentivado a fazer esse curso de mestrado, por ter tido o carinho de fazer esse sonho se tornar realidade.

Minha querida Professora Simone. Presente em minha formação desde os primórdios da graduação, sempre foi o mais seguro ombro nas lágrimas, a mais cara orientação, e a mais terna companhia nos momentos em que pensei fracamente.

Meus grandes companheiros diários do NUFAPOM (Núcleo Familiar Pós-moderno), Danilo, Eli, Simone, Ana, Ricardo, Leila, Aline (Dinha), Márlon e Luise. Foram dois anos de conquistas, reconstruções, conhecimentos, aproximações, ressignificações, dores, risos, piadas, brincadeiras, brigas, viagens, pizzas (e comidas em geral), regimes... enfim, amores novos e antigos que se mostram cada vez mais especiais e indispensáveis. Aturar minhas variações de humor, sempre reafirmando o seu amor por mim, é uma coisa que vou levar

sempre comigo dentro do peito. Te quero, os quero, cada vez mais perto de mim, afinal o amor tem dessas coisas!!!!

Todos do NUPPIIM, notadamente Johelle, pela ajuda inestimável, Joyce pela colaboração, Dona Conceição pelo carinho e a Sarah e Jonleno que, dia a dia, foram meus companheiros e pude ver o quão valorosos colegas terei na minha classe, exemplos de verdadeiros dentistas!

Todos do LABGENOTOX, Leonardo, Rodrigo e José Roberto foram pessoas fundamentais nesse projeto, muito obrigado pela colaboração.

Meus amigos Si, Dinha, Seu Pedro, Madson, Silvio, Tia Zó e Evair. Minha luta diária foi um trabalho prazeroso pelas suas companhias.

Os colegas, professores e funcionários do mestrado. Todos, de certa forma, me ensinaram algo e ajudaram a me formar mestre

Os participantes da minha pesquisa. O título de mestre vem em complemento à confiança e bom humor me foi dado pelos meus pacientes.

“De ferramentas tecnológicas, qualquer um pode dispor, mas a cereja do bolo chama-se conteúdo. É o que todos buscam freneticamente: vossa majestade, o conteúdo. Mas onde ele se esconde? Dentro das pessoas.”

Martha Medeiros

APRESENTAÇÃO

A interação da doença periodontal com outras enfermidades ou agravos à saúde e a sua interação com os mais variados órgãos e sistemas, vem sendo alvo de estudos nos últimos anos, e tem despertado o interesse da comunidade científica pelo tema. Na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), investigações nessa linha de pesquisa têm sido desenvolvidas, principalmente, pelo Laboratório de Genética Toxicológica – LABGENOTOX e pelo Núcleo de Pesquisa, Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar – NUPPIIM.

Mais especificamente, os achados que versam sobre a relação entre as periodontopatias e as alterações citogenéticas ainda se mostram iniciais, sinalizando para um aperfeiçoamento do método de pesquisa que, aos poucos, se mostra crescente em complexibilidade e em eficiência. A presente dissertação intitulada “ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS NA DOENÇA PERIODONTAL”, de autoria do mestrando Paulo de Tarso Jambeiro Brandão, é o produto inicial de um projeto de pesquisa clínica quase experimental, desenvolvido em parceria entre o LABGENOTOX e o NUPPIIM, que em sua totalidade procura avaliar, epidemiologicamente, através de um estudo de intervenção, as frequências de alterações citológicas, indicativas de danos cromossômicos e apoptose, em indivíduos com e sem doença periodontal e o efeito da terapia periodontal não cirúrgica nestes *endpoints*.

O formato de apresentação deste exemplar de dissertação contempla um artigo científico, sob o título: AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE DANOS CROMOSSÔMICOS E APOPTOSE NA DOENÇA PERIODONTAL, apresentado no capítulo de Resultados, de acordo com os critérios do periódico *Journal of Clinical Periodontology*, segundo a classificação de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior – CAPES, como periódico *Qualis A2* em Saúde Coletiva.

RESUMO

As doenças periodontais, importantes problemas de saúde pública, têm origem na colonização bacteriana no epitélio gengival que induz resposta tecidual ao processo inflamatório, o qual se faz acompanhar por aumento na atividade mitótica, propiciando oportunidade para a ocorrência de danos ao material genético que, somados a outros danos futuros, podem favorecer o processo neoplásico. **Objetivo:** Neste contexto, objetivou-se com o desenvolvimento do presente estudo, avaliar a ocorrência de danos citogenéticos e apoptose em indivíduos com e sem doença periodontal usando para tal o Teste de Micronúcleo em células esfoliadas da mucosa ceratinizada. **Método:** Foram selecionados 72 indivíduos, que compuseram três grupos: **Grupo I**, constituído por 21 indivíduos com gengivite; **Grupo II**, formado por 24 indivíduos com periodontite; **Grupo Controle** composto por 27 indivíduos sem doença periodontal. Exame clínico completo foi realizado para definir a condição periodontal, bem como coleta de células esfoliadas da mucosa ceratinizada para realização do Teste de micronúcleo. **Resultados:** Um total de 123.301 células foram analisadas. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na ocorrência de micronúcleo ($p > 0,1$) entre os grupos gengivite, periodontite e controle. Já a ocorrência de apoptose foi significativamente maior entre os indivíduos com periodontite quando comparados aos indivíduos com gengivite ($p < 0,05$) e controles ($p < 0,025$). **Conclusões:** Os achados demonstraram que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à ocorrência de apoptose, apontando para efeitos genotóxicos induzidos pela inflamação periodontal.

Palavras-chave: Periodontite crônica, gengivite, micronúcleo, apoptose.

ABSTRACT

Periodontal diseases, an important public health problem, have their origin in the bacterial colonization in the gingival epithelium induces tissue response to inflammation, which is accompanied by increased mitotic activity, providing an opportunity for the occurrence of damage to genetic material that it added to further damage, it may promote future neoplastic process. **Objective:** In this context, this study was carried out to evaluate the occurrence of cytogenetic damage and apoptosis in patients with and without periodontal disease using the micronucleus test in exfoliated cells of keratinized mucosa. **Method:** A sample with 72 individuals, who comprised three groups: Group I, consisting of 21 individuals with gingivitis, Group II, consisting of 24 subjects with periodontitis; control group composed of 27 individuals without periodontal disease. Full mouth clinical examination was performed to define the periodontal status, as well as collecting exfoliated cells from keratinized mucosa to test frequency of micronuclei. **Results:** A total of 123.301 cells were analyzed. There was no statistically significant difference in the occurrence of micronucleus ($p > 0.1$) between groups: gingivitis, periodontitis and control. The occurrence of apoptosis was significantly higher among subjects with periodontitis compared to subjects with gingivitis ($p < 0.05$) and controls ($p < 0.025$). **Conclusions:** The findings demonstrated that there was a statistically significant difference between groups regarding the occurrence of apoptosis, indicative of genotoxic effects induced by periodontal inflammation.

Keywords: Chronic periodontitis, gingivitis, micronuclei, apoptosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
3 OBJETIVO	20
4 METODOLOGIA	21
4.1 Etapa Preparatória	21
4.2 Área do Estudo e Seleção da Amostra	21
4.3 Caracterização da amostra	21
4.4 Diagnóstico da condição periodontal	22
4.4.1 Métodos de diagnóstico	22
4.4.2 Classificação da condição periodontal	22
4.5 Avaliação dos Danos Citogenéticos	23
4.5.1 Obtenção do material para estudo Citogenético	23
4.5.2 Preparação para o estudo de Micronúcleo	23
4.5.3 Análise de Micronúcleo	23
4.5.4 Elaboração do banco de dados	24
4.6 Análise estatística	24
4.7 Aspectos éticos	24
5 RESULTADOS	26
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	50
APÊNDICE I	55
APÊNDICE II	69
APÊNDICE III	60

1 INTRODUÇÃO

As doenças periodontais e a cárie dentária se constituem em importante problema de saúde pública, a despeito de serem passíveis de prevenção. A incidência dessas doenças está associada às condições sociais, econômicas, políticas e educacionais e não exclusivamente a um modelo unicausal envolvendo a associação do biofilme bacteriano e o seu desenvolvimento (MANUEL *et al.*, 2000; PETERSEN; OGAWA, 2005).

As doenças periodontais são altamente prevalentes e cosmopolitas. Petersen e Ogawa (2005), em estudo que objetivou fornecer uma visão geral da doença periodontal em adultos com base no último levantamento realizado pela ONU, afirmam que a presença de sangramento gengival é altamente prevalente em todas as regiões do mundo e que a doença periodontal avançada afeta entre 10% a 15% da população adulta mundial. Quanto à gengivite, isoladamente, Albandar e Rams (2002) afirmam que esta enfermidade tem uma medida de prevalência da ordem de 50% a 90% na população adulta.

Este problema se torna particularmente alarmante quando analisado à luz do contexto sócio-econômico. Segundo Petersen (2009) as doenças periodontais são mais prevalentes em populações de países em desenvolvimento, o que aponta para a associação da doença com condições sociais menos favorecidas.

No Brasil, país considerado em desenvolvimento, dados do Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2010) relacionados às condições de saúde bucal dos brasileiros obtidos no levantamento SB Brasil 2010 revelaram que a doença periodontal estava presente em proporções que variaram de 32% a 98,2% na dependência da faixa etária dos indivíduos afetados e que as formas mais graves de doença periodontal aparecem mais significativamente entre adultos de 35 a 44 anos, com uma prevalência observada de 19%.

Em estudo realizado por Santos e outros (2007), na cidade de Feira de Santana, incluindo 971 estudantes, com idade de doze anos, de escolas públicas e privadas no ano de 2002, foi mostrado que as doenças periodontais incidiam em maior proporção entre aqueles matriculados em escolas públicas, sugerindo possível associação destas doenças com o nível sócio econômico.

A periodontite é uma doença inflamatória que afeta tanto o periodonto de proteção, tecidos gengivais, como o periodonto de sustentação, ligamento periodontal, cemento, osso alveolar, vasos e tecido nervoso. Tem como fatores de riscos relacionados ao seu desenvolvimento o hábito de fumar, níveis de hormônios estrogênicos, doenças metabólicas como a diabetes e a osteoporose, idade avançada, e fatores genéticos (BERGSTRÖM;

PREBER, 1994; YALDA; OFFENBACHER; COLLINS, 1994; GOMES-FILHO *et al.*, 2007; LIVINGSTON; PARSELL; POLLACK, 2009).

Hart (1996) destaca que polimorfismos de genes relacionados ao surgimento da inflamação periodontal e da forma mais grave da periodontite, atuam apenas na propensão ao desenvolvimento da doença. Estudos realizados por Kinane e Hart (2003) corroboram esses dados apontando para a predisposição hereditária da periodontite e sua associação com polimorfismos genéticos. Além disso, maior susceptibilidade para desenvolvimento de periodontite em indivíduos com síndromes de origem genética foi observada por Hodge e Michalowicl (2001).

A resposta inflamatória a danos teciduais induzidos por bactérias estimula a morte celular por apoptose, como um mecanismo de proteção ao material genético. No periodonto, todavia, tais danos podem não ser suficientes para desencadear a resposta apoptótica e estes virem a se somar a danos genéticos futuros transformando células normais em neoplásicas (MUKHERJEE *et al.*, 2012, SLOAND *et al.*, 2010; SANCAR *et al.* 2004 JARNBRING *et al.*, 2002)

Estudo desenvolvido por Michaud e outros (2008), que incluiu 48.375 homens, 5.720 dos quais apresentando algum tipo de câncer, sugere associação entre as doenças periodontais e câncer de pulmão. Tal associação foi descrita também por Hujoel e outros (2003) que relataram ainda que a periodontite também aumenta o risco de desenvolvimento de câncer nos brônquios. Tezal e outros (2007) em estudo semelhante sugerem associação entre periodontite crônica e câncer de língua.

O câncer é uma doença genética que tem origem em alterações (mutações gênicas e/ou aberrações cromossômicas) afetando genes que estão: 1) relacionados com o controle da proliferação celular (proto-oncogenes e supressores de tumor); 2) comprometidos com o reparo a danos no DNA (mutadores) e; 3) envolvidos com a resposta apoptótica

As alterações nos protooncogenes *hras* e *myc* e no supressor de tumor que informa a proteína p53 são, segundo Nogueira e outros (2004) e Souza (2006) as mais frequentemente observadas em associação com o câncer bucal.

Considerando a elevada ocorrência da doença periodontal e das lesões no material genético induzidas pela resposta inflamatória que, uma vez não eliminadas por apoptose, podem contribuir para o desenvolvimento do câncer, o presente estudo se propôs a avaliar a ocorrência de danos cromossômicos (traduzidos como micronúcleos) e apoptose (inferida pela ocorrência de cariorréxis, cromatina condensada e picnose) em indivíduos com e sem doença periodontal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A gengivite e a periodontite são processos inflamatórios que afetam, respectivamente, o periodonto de proteção e o periodonto de sustentação, conseqüentes à colonização desses tecidos por agentes bacterianos que induzem a formação do biofilme dental (PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHSON, 2005).

Classicamente, a microbiota associada à patogênese da doença periodontal progride de uma população Gram-positiva para uma predominantemente Gram-negativa. Dentre estas, incluem-se as bactérias dos gêneros *Porphyromonas*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Wolinella*, *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, e *Eikenella*. O surgimento e o desaparecimento dos tipos bacterianos, bem como a progressão da doença periodontal, podem, segundo Holt e Bramanti (1991) depender da interação física dos colonizadores da bolsa periodontal.

O evoluir da doença periodontal, tem início na inflamação gengival e culmina na perda dentária, conseqüente ao comprometimento do periodonto de sustentação, particularmente da reabsorção do tecido ósseo alveolar. No decorrer desse processo ocorre destruição das fibras colágenas gengivais que evolui para a destruição do osso alveolar e das fibras colágenas do ligamento periodontal (PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHSON, 2005)

Cortelli e outros (2002) classificam a periodontite em duas formas: 1) a crônica, caracterizada por inflamação lenta e progressiva, que se traduz clinicamente por inflamação gengival, diminuição da resistência dos tecidos periodontais, durante a qual há formação de bolsas periodontais, perda de inserção gengival e do osso alveolar e, 2) a agressiva, que progride rapidamente provocando severa perda óssea alveolar e conseqüente perda dos dentes.

O desenvolvimento da doença periodontal, gengivite e periodontite, está intimamente associado a hábitos de higiene oral, de modo que a prevenção dessas doenças tem como primeiro passo a adoção de práticas eficazes de higiene oral. Tal associação se deve ao fato de que a má higiene oral propicia o desenvolvimento da placa bacteriana, condição que antecede o desenvolvimento das doenças periodontais (PAGE, 1986; SHEIHAM, 1988; TAKEUCHI, 2003; ANAND; NANDAKUMAR; SHENOY, 2006; NOIRI, 2001; TATAKIS; KUMAR, 2005; OFFENBACHER *et al.*, 2007; REZENDE *et al.*, 2008).

Dentre outros fatores que têm sido associados à doença periodontal, destacam-se o consumo de tabaco (FISCHER; TAYLOR; TILASHALSKI, 2005; CURRY-CHIU, 2010), diabetes mellitus (MEALEY; OATES; AAP, 2006) e idade avançada (SCHÄTZLE *et al.*, 2009).

Tem sido mostrado, também, que a baixa renda e o baixo nível de escolaridade são fatores que indiretamente contribuem para o desenvolvimento da doença periodontal. Estas condições, além de reduzirem o acesso a informações relacionadas à prevenção da doença, reduzem o acesso a serviços de saúde e favorecem a adoção de maus hábitos de estilo de vida, a exemplo do consumo de tabaco, e limitam a adoção de hábitos saudáveis de higiene (NORDERYD; HUGSON; GRUSOVING, 1999; GESSER; PERES; MARCENES, 2001; MOREIRA; VIANNA; CANGUSSU, 2007).

Permeando esse processo, inclui-se ainda a resposta imune do hospedeiro, que se relaciona a fatores sócio-econômicos, vez que depende do *background* nutricional do indivíduo, e é influenciada também pelo estresse e condições psicológicas (ALPAGOT *et al.*, 1996; NUNN, 2003; DYKE; DAVE, 2005).

Nas últimas décadas tem sido dada especial atenção para a associação da doença periodontal com algumas doenças sistêmicas, sendo alvo importante de questionamento a relação causa efeito entre elas. Associação entre doença periodontal e diabetes mellitus; doenças cardiovasculares; artrite reumatóide e infecções respiratórias foi descrita em vários estudos: Yalda, Offenbacher e Collins (1994); Scannapieco (2003); Gomes-Filho e outros (2007).

Tem sido sugerido também que fatores genéticos são importantes no desenvolvimento da infecção bacteriana (HODGE; MICHALOWICZ, 2001; BAKER; ROOPENIAN, 2002; MENG *et al.*, 2007) e que alguns polimorfismos genéticos envolvidos com a resposta imune podem estar associados à susceptibilidade à periodontite agressiva (SHIRODARIA *et al.*, 2000).

O processo inflamatório no periodonto, a exemplo do que ocorre em outros tecidos, dispara uma resposta proliferativa que, por sua vez, propicia a ocorrência de danos genéticos pelo aumento da probabilidade de erros na duplicação do DNA (MULTHAUPT *et al.*, 1993).

É neste contexto que a possibilidade de associação entre doença periodontal e desenvolvimento de câncer tem sua plausibilidade biológica, uma vez que o câncer resulta de alterações (mutações gênicas e aberrações cromossômicas) em genes que estão comprometidos com o controle da proliferação e diferenciação celular e/ou em genes associados ao reparo do DNA e à resposta apoptótica. A relação entre a perda da capacidade celular em evoluir para a morte por apoptose e o desenvolvimento do processo de transformação maligna se deve à sobrevivência de células geneticamente modificadas que apresentam vantagem adaptativa em relação às suas contrapartes normais (WEINBERG, 2000).

Apreende-se, portanto, que, a exemplo de outras doenças analisadas à luz do contexto multicausal, veementemente defendido pela epidemiologia moderna, a doença periodontal também decorre de interações hospedeiro/ambiente. Caracterizada por processo inflamatório bacteriano cujo desenvolver está na dependência de variantes genéticas e da resposta imunológica do indivíduo, a doença periodontal se mostra extremamente associada à condição social que, por sua vez, está ligada a outros fatores de risco, nos níveis social, individual e biológico como os hábitos de higiene oral e de estilo de vida (Figura 1).

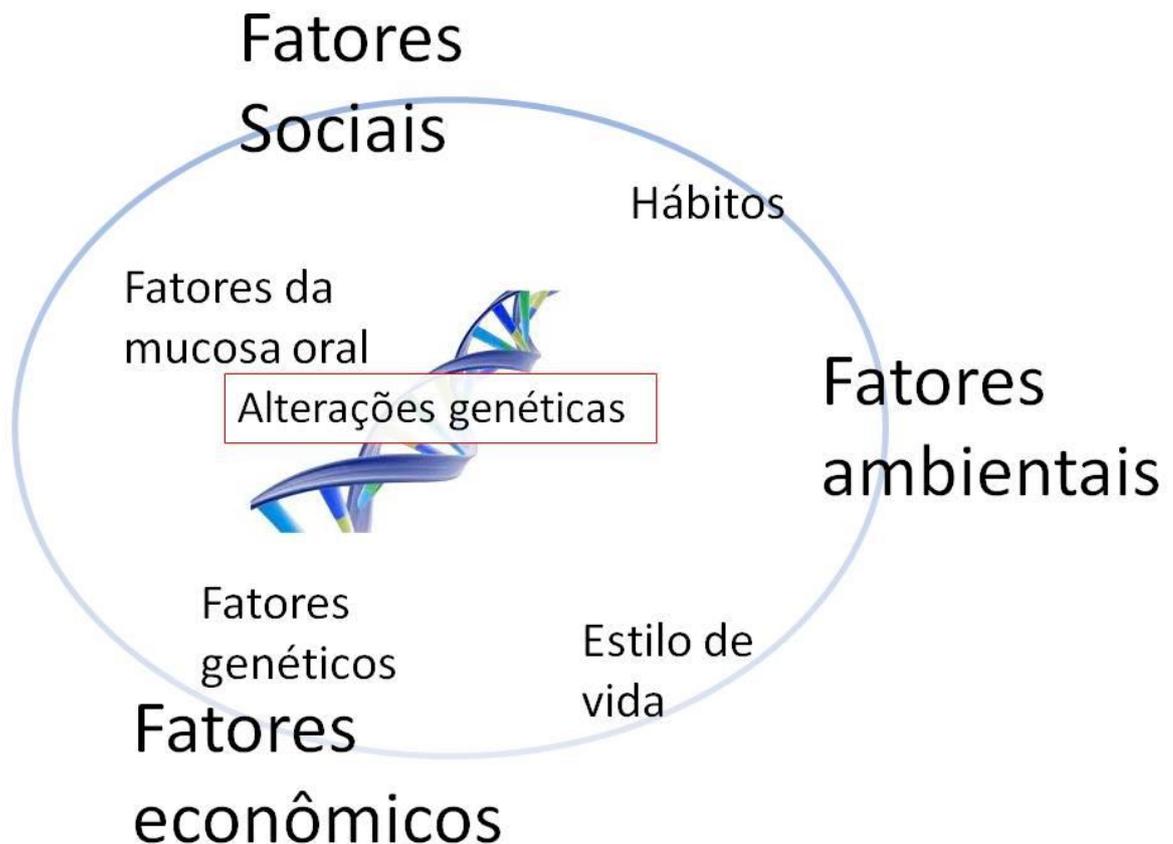


FIGURA 1: Modelo teórico que trata da influência da doença periodontal no aumento das frequências das degenerações celulares.

O câncer oral se inclui entre os dez tipos mais frequentes em todo o mundo e é particularmente incidente nos países em desenvolvimento (MARCHIONE, 2007; WARNAKULASURIYA, 2009). No Brasil, o INCA apresentou uma previsão de 14.120 casos de câncer oral para o ano de 2010 (BRASIL, 2009).

Esses dados ressaltam a importância da adoção de medidas de prevenção dessa doença, que tem sérias implicações pessoais e econômicas. Dentre essas medidas, a identificação de alterações genéticas vem sendo considerada importante estratégia, permitindo inferir risco aumentado de desenvolvimento antes que ocorram sintomas clínicos.

Dentre as ferramentas genéticas utilizadas para a identificação de danos cromossômicos, o compute de micronúcleos em células epiteliais esfoliadas é uma metodologia reconhecidamente eficaz (HOLLAND *et al.*, 2008) e que tem sido amplamente utilizada (FREITA *et al.*, 2005; HEEPCHANTREE; PARATASILPIN; KANGWANPONG, 2005; SAILAJA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2008; BLOCHING *et al.*, 2008).

Micronúcleos são estruturas que resultam de quebras cromossômicas ou de cromossomos inteiros que, durante a divisão celular falham em sua ligação ao fuso mitótico e, assim, não são incluídos no núcleo das células filhas, permanecendo no citoplasma das células interfásicas onde são observados como estruturas distintas, medindo de 1/3 a 1/5 do tamanho do núcleo e apresentando estrutura e distribuição cromatínica similar a este (HOLLAND, 2008).

A eficácia do Teste de Micronúcleo em células esfoliadas é incrementada quando empregado segundo protocolo sugerido por Tolbert, Shy e Allen (1991) e Tomas et al. (2009). o qual inclui, além de micronúcleos, o compute de alterações indicativas de apoptose (cariorréxis, cromatina condensada e picnose), aumentando, assim, a sensibilidade do teste.

O Teste de Micronúcleo em células epiteliais esfoliadas apresenta vantagens em relação a outras metodologias de avaliação da ocorrência de danos genéticos porque:

1. A técnica de obtenção do material a ser utilizado é muito simples. No caso do epitélio oral, a obtenção de células é indolor e não provoca risco ao indivíduo, já que o material utilizado é estéril e descartável;
2. O processamento do material para análise dispensa procedimentos de cultura, uma vez que a análise é feita em células interfásicas, o que torna a metodologia de baixo custo passível, portanto, de ser utilizada em nível populacional;
3. A análise do material é simples. Os micronúcleos são vistos em preparações citológicas realizadas rotineiramente e são nestas, facilmente observados, o que diminui o risco de erros de interpretação;
3. Em células esfoliadas os micronúcleos e alterações indicativas de apoptose evidenciam a ocorrência de danos genotóxicos diretamente no local em que ocorrem, informando onde um tumor poderá se desenvolver.

Bloching e outros (2008) fizeram uso desta metodologia objetivando identificar associação entre frequência de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa oral e higiene bucal e fatores dentais. Os autores não registraram diferença estatística entre a ocorrência destes marcadores e a qualidade da higiene oral ($p \geq 0,417$). Maior frequência de micronúcleos, entretanto, foi observada em indivíduos com periodontite grave ($2,16\% \pm 0,85$) quando

comparados os indivíduos com periodontite moderada ($1,91\% \pm 1,04$) e com aqueles apresentando discretas alterações do periodonto ($1,50\% \pm 1,06$).

Em estudo similar, D'Agostini e outros (2012), avaliando 43 probandos, não observaram frequências aumentadas de micronúcleos em indivíduos com gengivite e indivíduos com periodontite em graus variados de severidade.

Avaliando a ocorrência danos cromossômicos e alterações nucleares degenerativas indicadoras de necrose e apoptose, em células esfoliadas da mucosa oral de indivíduos portadores de periodontite crônica, Silva (2010) descreveu frequências significativamente aumentadas de todos os *endpoints* avaliados (micronúcleo, cariólise, cariorréxis, cromatina condensada e picnose) nos portadores da doença quando comparados a um grupo controle.

Além desses estudos, não há outros registros na literatura abordando a ocorrência de micronúcleos associados às doenças periodontais.

3 OBJETIVO

Avaliar, através do Teste de Micronúcleo em células esfoliadas da mucosa ceratinizada, a ocorrência de alterações citológicas, indicativas de danos cromossômicos e apoptose em indivíduos com doença periodontal.

4 METODOLOGIA

4.1 Etapa Preparatória

Foram inicialmente identificados os ambulatórios de odontologia da UEFS que prestam assistência à comunidade. Posteriormente, foi realizada a divulgação dos objetivos da pesquisa para que as equipes de saúde bucal dos responsáveis pelos ambulatórios pudessem contribuir com a investigação. A coleta foi feita por um único examinador previamente treinado.

4.2 Área do Estudo e Seleção da Amostra

A população do estudo foi constituída por indivíduos adultos, de ambos os sexos, atendidos nos ambulatórios de odontologia da Universidade Estadual de Feira de Santana onde são prestados serviços odontológicos a indivíduos de baixo nível sócio-econômico. Os indivíduos foram informados sobre os objetivos da pesquisa e foram convidados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Após exame clínico periodontal os indivíduos foram distribuídos em três grupos, sendo, no mínimo, vinte indivíduos em cada uma vez que, segundo Au e outros (1998), este é o número mínimo de indivíduos em estudos em que alterações cromossômicas são utilizadas como biomarcas a serem analisadas:

Grupo I: 20 indivíduos com gengivite;

Grupo II: 20 indivíduos com periodontite;

Grupo Controle: 20 indivíduos sem doença periodontal.

4.3 Caracterização da Amostra

Após obtenção do consentimento informado, cada participante do estudo foi convidado a responder, mediante entrevista em horário agendado, um questionário com as seguintes seções: identificação, dados sócio-demográficos, história médica, hábitos de vida, aspectos relacionados com a saúde bucal e história de exposição a agentes genotóxicos (Apêndice I). Não foram incluídos no estudo os indivíduos que referiram história de exposição recente a agentes comprovadamente genotóxicos como radiação ionizante e consumo atual de tabaco.

4.4 Diagnóstico da condição periodontal

4.4.1 Métodos de diagnóstico

Todos os participantes foram submetidos a exame clínico periodontal realizado por um cirurgião-dentista treinado para tal.

A avaliação da reprodutibilidade das medidas clínicas foi feita através de medidas periodontais replicadas usando um periodontista experiente como referência, em cerca de 10% da amostra. O índice Kappa interexaminador (± 1 mm) para as medidas de profundidade de sondagem e recessão foram, respectivamente, 0,80 e 0,89. Na concordância intraexaminador, o índice Kappa (± 1 mm) foi de 0,81 e 0,88 para estas medidas, respectivamente.

No exame periodontal, foram medidos: o índice de sangramento à sondagem, profundidade de sondagem de sulco/bolsa e a recessão gengival e obtidos os valores de perda de inserção para toda cavidade bucal. Tais observações foram procedidas em seis diferentes locais para cada unidade dentária (disto-vestibular, médio-vestibular, mesio-vestibular, disto-lingual, médio-lingual, mesio-lingual), exceto para o índice de placa visível, e registradas por um anotador em ficha adequada (Apêndice III). Todas as medidas foram realizadas com o auxílio de uma sonda milimetrada do tipo Williams.

4.4.2 Classificação da condição periodontal

Os descritores clínicos obtidos possibilitaram a classificação da doença periodontal em periodontite e gengivite (GOMES-FILHO *et al.*, 2005).

Foram considerados com **periodontite** os indivíduos que apresentaram quatro ou mais dentes com um ou mais sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm, com perda de inserção clínica maior ou igual a 3mm, no mesmo sítio, e presença de sangramento ao estímulo.

De acordo com a presença de **gengivite**, os participantes foram identificados quando apresentaram pelo menos 25% dos sítios sangrantes após sondagem periodontal sem, contudo, apresentarem os critérios acima descritos para periodontite .

A condição periodontal foi considerada de normalidade quando após o exame periodontal não foi detectado sangramento em pelo menos 25% dos sítios sondados ou não foi detectado um ou mais dentes com um ou mais sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 4 mm, com perda de inserção clínica maior ou igual a 3 mm, no mesmo sítio, e presença de sangramento ao estímulo

4.5 Avaliação dos Danos Citogenéticos:

4.5.1 Obtenção do Material para Estudo Citogenético

Para todos os participantes, as células destinadas à análise citogenética foram coletadas por raspagem gentil da mucosa ceratinizada, utilizando escova do tipo *cytobrush*. Nos indivíduos dos Grupos I e II, foram coletadas células das áreas com lesão (gingivite e periodontite), com o rigor de selecionar o sítio na pior condição periodontal, porém com o cuidado de observar que esta área estivesse afastada de restos radiculares e/ou próteses dentárias removíveis. Para os indivíduos do grupo controle, a coleta de células foi feita nos sítios de menor profundidade de sondagem seguindo os mesmos cuidados referidos anteriormente.

4.5.2. Preparações para o Estudo do Micronúcleo

O material coletado foi transferido, por esfregaço, para lâmina de microscopia estéril contendo duas gotas de soro fisiológico (NaCl 0,9%). Após secagem à temperatura ambiente as preparações foram submersas em solução de metanol/ácido acético (3:1) para fixação. Vinte e quatro horas depois o material foi corado com o reativo de *Shift* e contra-coradas com *fast Green* (1% em etanol).

4.5.3 Análise de Micronúcleo

Toda análise foi realizada em teste cego em relação aos dados do questionário e ao diagnóstico, por um único examinador experiente. Um mínimo de 2.000 células por indivíduo foi analisado. Os critérios de identificação de micronúcleo adotados foram os descritos por Sarto e outros (1987) e Tolbert, Shy e Allen (1992): foram considerados micronúcleos,

estruturas com distribuição cromatínica e coloração igual (ou mais clara) que a do núcleo, visualizadas no mesmo plano deste, com limites definidos e semelhantes aos nucleares, medindo de 1/5 a 1/3 do tamanho do núcleo. Somente células com citoplasma íntegro foram computadas. Células apresentando fenômenos nucleares degenerativos como cariólise, cariorréxis, picnose e cromatina condensada também foram incluídas no computo, assim como aquelas que apresentaram *broken-eggs*.

4.5.4 Elaboração de Banco de Dados

Os dados obtidos com a aplicação dos questionários e análise citogenética foram utilizados para criação de um banco de dados em Excel e em SPSS versão 10.01.1

4.6 Análise Estatística

Inicialmente foi procedida, a análise de distribuição percentual de todas as co-variáveis de interesse no estudo. Foram aplicados, com nível de significância de 5%, os testes estatísticos Qui-quadrado, para avaliação de diferenças estatísticas entre as frequências das co-variáveis supracitadas para os Grupos I e II em referência ao controle.

A análise relativa à ocorrência de micronúcleos e de alterações indicativas de apoptose entre os grupos foi realizada com o uso do teste condicional para comparação de proporções em situações de eventos raros (BRAGANÇA-PEREIRA, 1991) que é um teste de significância alternativo ao de Qui-quadrado (χ^2), adequado à avaliação de eventos citogenéticos quando uma grande amostra de células é necessária para detecção da ocorrência de uma determinada aberração cromossômica.

Foi testada a hipótese de trabalho em que o número de micronúcleos, aumentado nos Grupos I e II, é maior que aquele observado no grupo controle.

4.7 Aspectos Éticos

Os indivíduos convidados a participarem do estudo foram selecionados entre aqueles que espontaneamente procurarem serviço especializado nas Clínicas Odontológicas da UEFS. Todos os indivíduos da amostra foram esclarecidos a respeito da pesquisa e tiveram total liberdade para não participar ou desistir no momento que lhes for conveniente. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(Apêndice II).

A metodologia para obtenção das células da mucosa oral não é invasiva (raspagem superficial da mucosa) e foi realizada com material (escova endocervical) descartável que não oferece risco de lesão ou contaminação dos indivíduos da amostra. A identificação das pessoas foi mantida em sigilo e constará em um banco de dados acessível apenas ao pesquisador principal.

A pesquisa já foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UEFS (Protocolo 121/2009)

5 RESULTADOS

Apresentados sob a forma de artigo científico redigido nas normas do *Journal of Clinical Periodontology*.

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE DANOS CROMOSSÔMICOS E APOPTOSE
NA DOENÇA PERIODONTAL**

Paulo de Tarso Jambeiro Brandão¹, Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira** Isaac Suzart
Gomes-Filho²

Autor para Correspondência: Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira – Avenida Getúlio Vargas, 379, Centro. Feira de Santana, Bahia, Brasil. CEP: 44.025-010. Telefone/fax: 55 75 3623-0661; e-mail:

eneida.cerqueira@gmail.com

Autor alternativo para Correspondência: Paulo de Tarso Jambeiro Brandão – Avenida Getúlio Vargas, 379, Centro. Feira de Santana, Bahia, Brasil. CEP: 44.025-010. Telefone/fax: 55 75 3623-0661, e-mail: paulojambeiro@gmail.com

Fonte de recursos: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Cabeçalho: **Relação entre doença periodontal e alterações citológicas.**

¹ Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil;

** Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil;

² Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana Bahia, Brasil.

RESUMO

Introdução: O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de alterações cromossômicas, traduzidas por micronúcleos, e de apoptose, inferida pelo somatório de cariorréxis, picnose e cromatina condensada, em indivíduos com periodontite crônica, gengivite e sem doença periodontal.

Método: O estudo, de corte transversal, incluiu uma amostra de 72 indivíduos de ambos os sexos, aparentemente saudáveis, distribuídos em três grupos: Gengivite (n= 21), Periodontite (n= 24), e Controle (sem doença periodontal, n= 27). Informações sobre características sócio demográficas, saúde e estilo de vida foram obtidas através de um questionário. Exame clínico odontológico foi realizado para definir a condição periodontal. Células esfoliadas da mucosa ceratinizada foram coletadas para computo de micronúcleos e das alterações nucleares indicativas de apoptose. Procedimentos de análise descritiva foram usados para comparar os grupos. As diferenças na ocorrência dos *endpoints* analisados (micronúcleo, cariorréxis, picnose e cromatina condensada) foram avaliadas com o uso do teste condicional para comparação de proporções em situação de eventos raros.

Resultados: Um total de 123.301 células foram analisadas. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na ocorrência de micronúcleo ($p>0,1$) entre os grupos gengivite, periodontite e controle. A ocorrência de apoptose foi significativamente maior entre os indivíduos com periodontite quando comparados aos indivíduos com gengivite ($p<0,05$) e controles ($p<0,025$).

Conclusões: Os resultados mostram que o processo inflamatório gerado pela gengivite e periodontite não está relacionado a uma maior ocorrência de danos cromossômicos. A maior ocorrência de apoptose nos indivíduos com periodontite aponta, no entanto, para efeitos genotóxicos induzidos pela infecção periodontal.

Palavras-chave: Periodontite crônica, gengivite, micronúcleo, apoptose.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to evaluate the occurrence of chromosomal abnormalities, through micronuclei, and apoptosis, demonstrated by the sum of karyorrhexis, pyknosis and chromatin condensation in individuals with chronic periodontitis, gingivitis and no periodontal disease.

Method: The cross-sectional study included a sample of 72 individuals of both sexes, apparently healthy, divided into three groups: Gingivitis (n = 21), periodontitis (n = 24) and control (without periodontal disease, n = 27). Information on sociodemographic characteristics, health and lifestyle was obtained through a questionnaire. Full mouth clinical examination was performed to define the periodontal condition. Keratinized mucosa exfoliated cells were collected for computation of micronuclei and nuclear changes indicative of apoptosis. Descriptive analysis procedures were used to compare the groups. The differences in the occurrence of endpoints analyzed (micronucleus, kariorréxis, pyknosis and condensed chromatin) were evaluated using the conditional test to compare proportions in a rare events situation.

Results: A total of 123.301 cells were analyzed. There was no statistically significant difference in the occurrence of micronucleus ($p > 0.1$) between groups gingivitis, periodontitis and control. The occurrence of apoptosis was significantly higher among subjects with periodontitis compared to subjects with gingivitis ($p < 0.05$) and controls ($p < 0.025$).

Conclusions: The results showed that the inflammatory process generated by gingivitis and periodontitis is not related to a higher incidence of chromosomal damage. The higher incidence of apoptosis in individuals with periodontitis points, however, to genotoxic effects induced by periodontal infection.

Keywords: Chronic periodontitis, gingivitis, micronuclei, apoptosis.

INTRODUÇÃO

A gengivite e a periodontite se constituem em importante problema de saúde pública, a despeito de serem passíveis de prevenção. Tais doenças são altamente prevalentes, cosmopolitas (Petersen & Ogawa 2005, Albandar & Rams 2002) e vem, nos últimos anos, sendo associadas a várias condições sistêmicas como diabetes mellitus; doenças cardiovasculares; artrite reumatóide e infecções respiratórias (Yalda 1994, Scannapieco 2003, Gomes-Filho et al. 2007).

As doenças periodontais têm caráter inflamatório induzido por bactérias e afetam tecidos da gengiva, dos ligamentos periodontais, do cemento, osso alveolar, vasos e tecido nervoso.

Processos inflamatórios estão associados a repetidas divisões celulares, propiciando assim a ocorrência de erros no processo de mitose e consequentes alterações cromossômicas que, por sua vez, estimulam a apoptose (Mukherjee et al. 2012, Sloand et al. 2010, Sancar et al. 2004).

Por eliminar células apresentando alterações em genes comprometidos com o reparo do DNA e/ou com o controle da proliferação e diferenciação celular (proto-oncogenes e supressores de tumor), a apoptose se constitui em um mecanismo de proteção contra o câncer, doença que resulta de mutações gênicas e/ou cromossômicas envolvendo os referidos genes. Nos tecidos em constante renovação, a apoptose garante a homeostase tecidual, sua ocorrência em frequências aumentadas, contudo, é indicativa de efeitos genotóxicos que estão relacionados à iniciação do processo de transformação maligna (Matsumoto et al. 2010, Martins et al. 2009, Tolbert et al. 1991, 1992).

Considerando a elevada ocorrência da doença periodontal e das lesões no material genético induzidas pela resposta inflamatória que, uma vez não eliminadas por apoptose, podem contribuir para o desenvolvimento do câncer, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência de danos cromossômicos (traduzidos como micronúcleos) e apoptose (inferida pela ocorrência de cariorréxis, cromatina condensada e picnose) em indivíduos com e sem doença periodontal.

MÉTODO

Protocolo de seleção da amostra

Os participantes desse estudo transversal foram selecionados em Feira de Santana,

Bahia, Brasil, entre março e dezembro de 2011. Após o exame clínico periodontal completo, os indivíduos foram divididos em três grupos, sendo, no mínimo, vinte indivíduos em cada uma vez que, segundo Au e outros (1998), este é o número mínimo de indivíduos em estudos em que alterações cromossômicas são utilizadas como biomarcas a serem analisadas: O **grupo I** foi composto por indivíduos com **gingivite**. O **grupo II** foi formado por indivíduos com **periodontite**. E o terceiro, **grupo controle** foi composto por indivíduos **sem doença periodontal**.

Os critérios de exclusão consistiram: de indivíduos que referiram exposição recente a fatores comprovadamente genotóxicos, como consumo atual de tabaco e história de exposição recente radiação X.

O projeto dessa pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Feira de Santana (No. 121/2009), e todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Entrevista e exame clínico periodontal

Cada participante do estudo foi convidado a responder, mediante entrevista, um questionário com as seguintes seções: identificação, dados sócio-demográficos, história médica, hábitos de vida, aspectos relacionados com a saúde bucal e história de exposição a agentes genotóxicos.

Todos os participantes foram submetidos a exame clínico periodontal completo realizado por um cirurgião-dentista devidamente treinado.

Neste exame, foram medidos: o índice de sangramento à sondagem, profundidade de sondagem de sulco/bolsa e a recessão gengival. Além disso, foram obtidos os valores de perda de inserção clínica para todas as unidades dentárias. Tais observações foram procedidas em seis diferentes locais para cada unidade dentária (disto-vestibular, médio-vestibular, mesio-vestibular, disto-lingual, médio-lingual, mesio-lingual), exceto para o índice de placa visível. Todas as medidas foram realizadas com o auxílio de uma sonda milimetrada do tipo Williams.

A avaliação da reprodutibilidade das medidas clínicas foi feita através de medidas periodontais replicadas por periodontista experiente como referência, em cerca de 10% da amostra. O índice Kappa interexaminador (± 1 mm) para as medidas de profundidade de sondagem e recessão foram, respectivamente, 0,80 e 0,89. Na concordância intraexaminador, o índice Kappa (± 1 mm) foi de 0,81 e 0,88 para estas medidas, respectivamente.

Os descritores clínicos obtidos possibilitaram a classificação da doença periodontal em periodontite e gengivite (Gomes-Filho et al. 2005).

Foram considerados com **periodontite** os indivíduos que apresentaram quatro ou mais dentes com um ou mais sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 4 mm, com perda de inserção clínica maior ou igual a 3mm, no mesmo sítio, e presença de sangramento ao estímulo.

No que diz respeito à presença de **gengivite**, os participantes foram diagnosticados quando apresentaram pelo menos 25% dos sítios sangrantes após sondagem periodontal sem, contudo, apresentarem os critérios acima descritos para periodontite.

A condição periodontal foi considerada dentro da normalidade quando após o exame periodontal o indivíduo não se enquadrava em nenhum dos critérios acima descritos.

Avaliação das alterações citológicas

Obtenção do Material

Para todos os participantes, as células destinadas à análise citológica foram coletadas por raspagem gentil da mucosa ceratinizada, utilizando escova do tipo *cytobrush*. Nos indivíduos dos Grupos I e II, foram coletadas células das áreas com lesão (gengivite e periodontite), nos sítios que apresentavam a pior condição periodontal, mas distantes de restos radiculares e/ou próteses dentárias removíveis. Para os indivíduos do grupo controle, a coleta de células foi feita nos sítios de menor profundidade de sondagem seguindo os mesmos cuidados referidos anteriormente.

Preparo e Coloração

O material coletado foi transferido, por esfregação, para lâmina de microscopia estéril contendo duas gotas de soro fisiológico (NaCl 0,9%). Após secagem à temperatura ambiente as preparações foram submersas em solução de metanol/ácido acético (3:1) para fixação. Vinte e quatro horas depois o material foi corado com o reativo de *Shift* e contra-corado com *fast Green* (1% em etanol).

Análise Citológica

Toda análise foi realizada em teste cego em relação aos dados do questionário e ao diagnóstico, por um único examinador experiente. Para cada indivíduo, um mínimo de 2.000 células apresentando citoplasma íntegro foi analisado. Os critérios adotados para identificação

de micronúcleos e de alterações nucleares degenerativas indicadoras de apoptose (Σ de cariorréxis, cromatina condensada e picnose) foram os descritos por Sarto et al. (1987) e Thomas et al. (2009): foram considerados micronúcleos, estruturas com distribuição cromatínica e coloração igual (ou mais clara) que a do núcleo, visualizadas no mesmo plano deste, com limites definidos e semelhantes aos nucleares, medindo de 1/5 a 1/3 do tamanho do núcleo (Figura 1a). Cariorréxis, cromatina condensada e picnose, tal como consideradas são apresentadas, respectivamente, na Figura 1b, c e d.

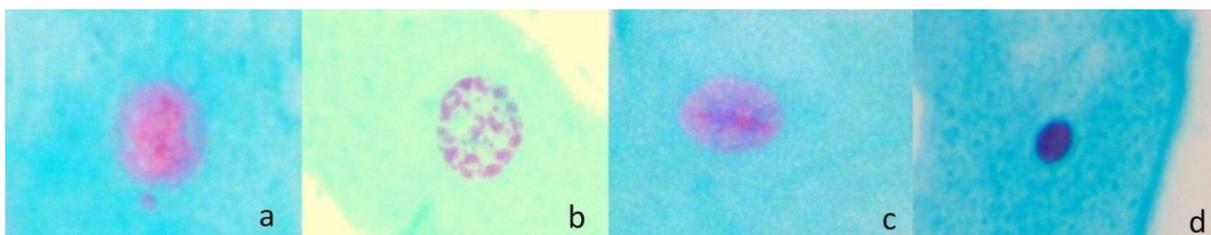


Figura 1: Micronúcleo (a), Cariorréxis (b), Cromatina condensada (c), picnose (d)

Análise estatística

Os dados obtidos com a aplicação dos questionários e análise citológica foram utilizados para criação de um banco de dados em Excel e em SPSS versão 10.01.1. Inicialmente, foi procedida a análise de distribuição percentual de todas as co-variáveis de interesse ao estudo. As seguintes co-variáveis foram consideradas nas análises: idade (≤ 41 anos ou > 41 anos), sexo (masculino ou feminino), situação conjugal (casado/união estável ou solteiro/divorciado/viúvo), nível de escolaridade (≤ 8 anos ou > 8 anos), renda familiar em salário mínimo (≤ 1 salário mínimo ou > 1 salário mínimo), densidade domiciliar (≤ 4 pessoas ou > 4 pessoas), fumante passivo (sim ou não), consumo de álcool (sim ou não), uso de medicamentos (sim ou não), história de câncer na família (sim ou não), classe social (A, B, C, D ou E), hipertensão arterial (sim ou não), diabetes (sim ou não), alergia (sim ou não), doença renal (sim ou não), doenças ósseas (sim ou não), e prática de atividade física (sim ou não). Foram aplicados, com nível de significância de 5%, os testes estatísticos Qui-quadrado para avaliação de diferenças estatísticas entre as frequências das co-variáveis categóricas e teste T-Student para co-variáveis contínuas supracitadas, para os Grupos I e II em referência ao controle. A categorização das co-variáveis contínuas, quando requerida, foi feita com base na distribuição ou conforme pontos de corte identificados na literatura.

A análise relativa à ocorrência de micronúcleos e de alterações indicativas de apoptose

entre os grupos foi realizada com o uso do teste condicional para comparação de proporções em situações de eventos raros (Bragança-Pereira 1991) que é um teste de significância alternativo ao de Qui-quadrado (χ^2), adequado à avaliação de eventos citogenéticos quando uma grande amostra de células é necessária para detecção da ocorrência de uma determinada aberração cromossômica.

RESULTADOS

Foram analisadas 123.301 células, na amostra formada por 72 indivíduos (19 homens e 53 mulheres), com média de idade \pm erro padrão de $41 \pm 8,48$. De acordo com o critério de diagnóstico periodontal empregado, 24 indivíduos foram classificados com apresentando **periodontite**, 21 foram identificados como tendo **gingivite**, e 27 não apresentaram alterações no periodonto.

Na Tabela 1 são apresentadas as características gerais dos indivíduos de acordo com o diagnóstico da condição periodontal: grupos periodontite, gingivite e controle. A comparação realizada entre os grupos controle e gingivite, e os grupos controle e periodontite demonstrou que estes são homogêneos para a grande maioria das características, exceto para renda familiar ($p = 0,02$) e densidade familiar ($p = 0,02$).

Os participantes do grupo controle apresentaram maior frequência de renda familiar menor ou igual a um salário mínimo (55,56% x 23,81%) do que aqueles do grupo gingivite. Por outro lado, quanto a densidade domiciliar, os participantes do grupo gingivite apresentaram maior frequência de mais de quatro pessoas por domicílio do que aqueles do grupo controle (38,10% x 11,11%).

Quanto às características comportamentais relacionadas à saúde bucal (Tabela 2), os grupos controle, gingivite e periodontite foram homogêneos para a maioria dos aspectos analisados, exceto para uso de fio dental ($p = 0,03$). A frequência de não uso de fio dental nos participantes dos grupos gingivite (47,62%) e periodontite (45,83%) foi mais que o dobro daquela observada no grupo controle (18,52%).

Em relação aos parâmetros clínicos periodontais, apenas o número de dentes presentes não diferiu estatisticamente entre os grupos (Tabela 3).

Por apresentarem as preparações citológicas número insuficiente de células, foram excluídos da análise citológica treze indivíduos: três do Grupo controle, três do Grupo I e sete do Grupo II. A análise citológica incluiu, portanto, vinte e um indivíduos do Grupo controle; dezoito indivíduos com gingivite e dezessete com periodontite.

A Tabela 4 apresenta a distribuição da ocorrência de micronúcleos entre os grupos

controle, gengivite e periodontite. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,10$).

A avaliação estatística da ocorrência de apoptose (Tabela 5), inferida pelo somatório de cariórrexix, cromatina condensada e picnose, revelou diferença significativa entre os grupos: $\chi^2 = 6,48$; G.L.=2; $p < 0,05$. As partições de Qui-quadrado mostram que sua ocorrência é significativamente maior entre os indivíduos com periodontite quando comparados tanto aos indivíduos controle quanto aos indivíduos apresentando gengivite (Grupo D): $\chi^2 = 5,94$; $p < 0,025$ e $\chi^2 = 4,36$; $p < 0,05$, respectivamente, (G.L.= 1). Diferença estatisticamente significativa, contudo, não foi detectada quando comparados indivíduos controle e indivíduos com gengivite: $\chi^2 = 0,04$; G.L.= 1; $p > 0,9$.

DISCUSSÃO

Características da amostra e aspectos metodológicos relevantes

Foram adotadas medidas objetivando diminuir o máximo possível as diferenças entre os grupos de comparação. Desde o processo de seleção da amostra à análise dos três diferentes grupos, se buscou minimizar possíveis distorções. A comparabilidade intergrupos pode ser observada na análise das características gerais da amostra, na qual os grupos se mostraram bastante homogêneos.

Os participantes foram indivíduos que procuraram tratamento nas clínicas de uma universidade, nas quais predomina o atendimento de pessoas de baixa renda. Sabe-se que este perfil tem influência no adoecer da população, por diversos aspectos já debatidos (Norderyd et al. 1999, Nunn 2003, Dyke & Dave 2005). Dentre os critérios de exclusão, indivíduos que informaram hábito de fumar foram excluídos da pesquisa, dado o reconhecido efeito mutagênico deste fator (Haveric et al. 2010, Gabriel et al. 2006).

Quando a avaliação foi realizada em relação aos aspectos periodontais, para se ter a certeza de que a distribuição dos participantes do estudo estava de acordo com o diagnóstico da condição periodontal, se pode observar claramente a diferença intergrupos. Os indivíduos do grupo controle tiveram a melhor condição clínica, ao passo que aqueles dos grupos periodontite e gengivite apresentaram sempre os piores valores dos descritores periodontais, com significância estatística. O único parâmetro clínico no qual os três grupos se mostraram semelhantes foi quanto ao número de dentes presentes. Este critério foi mais um adotado, no sentido de garantir a condição periodontal, independentemente da maior ou menor quantidade de unidades dentárias presentes.

Embora todo esse cuidado tenha sido levado em consideração, é sabido da dificuldade

em se estabelecer um critério claro de definição de gengivite e periodontite. Aquele empregado nesse estudo já foi usado em outras investigações que relacionam a periodontite e outros agravos à saúde (Cruz et al. 2010, Passos et al. 2010, Gomes-Filho et al. 2010). A literatura tem debatido muito sobre este tema, mas ainda não existe um consenso.

Outro limite do presente estudo, diz respeito ao tamanho da amostra. Embora o cálculo amostral tenha sido previamente realizado, seguindo os critérios de Au et al. (1998), ao final do processamento das lâminas, algumas preparações citológicas apresentaram número insuficiente de células e foram excluídas da análise. Desse modo, a avaliação final contou com um número menor do que aquele planejado e os achados finais podem ter sido influenciados.

Por outro lado, a análise citológica feita em teste cego, garantiu maior confiabilidade aos resultados apresentados.

Quanto à análise estatística dos dados, o teste empregado para avaliação das diferenças entre os grupos dos *endpoints* analisados é o mais apropriado em situações de eventos raros (Bragança-Pereira 1991). Para evitar maior complexidade nos testes, bem como a necessidade de ajustes na análise estatística por co-variáveis confundidoras, a seleção da amostra foi feita de modo a evitar a inclusão de indivíduos cujas características pudessem mascarar os dados obtidos.

Ocorrência de danos cromossômicos (micronúcleos) e apoptose (Σ cariorréxis, cromatina condensada e apoptose)

O processo inflamatório no periodonto, a exemplo do que ocorre em outros tecidos, dispara uma resposta proliferativa que, por sua vez, propicia a ocorrência de danos genéticos pelo aumento da probabilidade de erros na duplicação do DNA (Sloand et al. 2010, Mukherjee et al. 2012, Sancar et al. 2004, Mulhaupt et al. 1993). A relação entre a perda da capacidade celular em evoluir para a morte por apoptose e o desenvolvimento do processo de transformação neoplásica se deve à sobrevivência de células geneticamente modificadas que apresentam vantagem adaptativa em relação às suas contrapartes normais (Weinberg 2000).

É escasso o registro na literatura de estudos em que a ocorrência de danos genéticos associados à doença periodontal foi avaliada. A frequência de trocas entre cromátides irmãs em indivíduos com diferentes formas de doença periodontal foi analisada por Emingil et al. (2002). Os autores não detectaram diferenças significantes na frequência destas trocas entre indivíduos com periodontite agressiva quando comparado àqueles com periodontite crônica e sem doença periodontal.

Efeitos genotóxicos do processo inflamatório associado à doença periodontal foram avaliados neste estudo com o uso do Teste de Micronúcleo empregado seguindo protocolo diferenciado sugerido por Tolbert et al. (1991, 1992) e Tomas et al. (2009). Com esta metodologia, além do computo de micronúcleos, estruturas que revelam danos cromossômicos aneugênicos e clastogênicos, é realizado também o computo de fenômenos nucleares degenerativos indicadores da ocorrência de apoptose (cromatina condensada, cariorréxis e picnose), aumentando assim a sensibilidade do teste.

Os resultados obtidos neste estudo não apontam para uma maior ocorrência de danos cromossômicos, avaliados pela ocorrência de micronúcleos, consequentes ao processo inflamatório associado à doença periodontal. Em estudo similar, D'Agostini et al. (2012) também não observaram frequências aumentadas de micronúcleos em indivíduos com gengivite e indivíduos com periodontite em graus variados de severidade. Bloching et al. (2008), no entanto, descreveram maior ocorrência destas estruturas em indivíduos com periodontite severa ($2,16 \pm 0,85$) quando comparados os indivíduos com periodontite moderada ($1,91 \pm 1,04$) e sem doença periodontal ($1,50 \pm 1,06$).

No presente estudo, a maior ocorrência de apoptose nos indivíduos com periodontite aponta para efeitos genotóxicos associados ao processo inflamatório e permite sugerir que este processo possa ter mascarado a ocorrência de danos cromossômicos por eliminação das células geneticamente alteradas.

Por fim, vale salientar que embora os achados mostrem os efeitos genotóxicos da periodontite, o presente estudo sinaliza para uma linha de investigação importante na área de saúde por avaliar, concomitantemente, danos cromossômicos e apoptose, e aponta para a necessidade de estudos adicionais sobre o tema. E, ainda, sugere que estudos de intervenção sejam conduzidos para testar o efeito do tratamento periodontal sobre a ocorrência de alterações nucleares degenerativas indicadoras de apoptose.

CONCLUSÃO

De acordo com o método empregado e diante das limitações do estudo, os achados obtidos sinalizam que o processo inflamatório gerado pela gengivite e periodontite não está relacionado a uma maior ocorrência de danos cromossômicos, no entanto nos indivíduos com periodontite, a maior ocorrência de apoptose é indicativa dos efeitos genotóxicos da infecção periodontal.

REFERÊNCIAS

Alabndar, J. M. & Rams, T. E. (2002) Global epidemiology of periodontal diseases. *Periodontology 2000* **29**, 7-10.

Au, W. W., Cajas-Salazr, N. & Salama, S. (1998) Factors Contributing to Discrepancies in Population Monitoring Studies. *Mutation research* **400**, 467-78.

Blocing, M., Reichb, M., Schubertb J., Grummtc T. & Sandnerd, A. (2008) Micronucleus rate of buccal mucosal epithelial cells in relation to oral hygiene and dental factors. *Oral Oncology* **44**, 220-226.

Bragança-Pereira, C. A. Teste estatístico para comparar proporções em problemas de citogenética. In: Rabello-Gay, M. N., Rodrigues M. A., La, R. & Monteleone Neto, R. (1991) Mutagênese, carcinogênese e teratogênese : Métodos e critérios de avaliação. Sociedade Brasileira de Genética Revista brasileira de Genética, 113-121.

Cruz, S. S., Costa, M. C. N., Gomes-Filho, I. S., Barreto, M. L., Martins, A. G., Passos, J. S., Freitas, C. T., Sampaio, F. P. & Cerqueira, E. M. M. (2010) Periodontal therapy for pregnant women and cases of low birthweight: An intervention study. *Pediatrics International* **52**, 57-64.

D'Agostini, F., Calcagno, E., Micale, R. T., La Maestra, S., Flora, S. & Cingano, L. (2012) Cytogenetic analysis of gingival epithelial cells, as related to smoking habits and occurrence of periodontal disease. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* [WWW document]. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438463912000181> [accessed on 20 February 2012].

Dyke, T. E. V. & Dave, S. (2005) Risk Factors for Periodontitis. *Journal of the International Academy of Periodontology* **7**, 3-7.

Emingil, G., Sapmaz, G., Biçakçi, N. & Ozkinay, F. (2002) Sister chromatid exchange (SCE) analysis in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. **29**, 811-815.

Gabriel, H. E., Crott, J. W., Ghandour, H., Dallal, G. E., Choi, S. W., Keyes, M. K., Jang, H., Liu, Z., Nadeau, M., Johnston, A., Mager, D. & Mason, J. B. (2006) Chronic cigarette smoking is associated with diminished folate status, altered folate form distribution, and increased genetic damage in the buccal mucosa of healthy adults. *American Journal of Clinical Nutrition* **83**, 835-841.

Gomes-Filho, I. S., Sarmiento, V. A., Rosing, C. K., Vianna, M. I. P., Trindade, S. C., Freitas, C. O. T., Passos, J. S., Coelho, J. M. F., Cruz, S. S. & Macedo, T. C. N. (2005) Periodontal disease clinical diagnosis criteria (in Portuguese). *Jornal Brasileiro de Clínica Odontológica Integrada* **9**, 88-89.

Gomes-Filho, I. S., Passos, J. S., Cruz, S. S., Vianna, M. I. P., Cerqueira, E. M. M., Oliveira, D. C., Santos, C. A. S. T., Coelho, J. M. F., Sampaio, F. P., Freitas, C. O. T., & OLIVEIRA, N. F. (2007) Association between postmenopausal osteoporosis and periodontal disease. *Journal of Periodontology* **78**, 1731-1740.

Gomes-Filho, I. S., Cruz, S. S., Costa, M. C. N., P, J. S., Cerqueira, E. M.M., Sampaio, F. P., Pereira, E. C. & Miranda, L. F. (2010) Periodontal Therapy and Low Birth Weight: Preliminary Results From an Alternative Methodologic Strategy. *Journal of Periodontology* **81**, 1725-1733.

Haveric, A., Haveric, S. & Ibrulj, S. (2010) Micronuclei frequencies in peripheral blood and buccal exfoliated cells of young smokers and non-smokers. *Toxicol Mech Methods* **20**, 260-266.

Martins, R. A., Silva Gomes, G. A., Aguiar Jr, O. & Ribeiro, D. A. (2009) Biomonitoring of oral epithelial cells in petrol station attendants: Comparison between buccal mucosa and lateral border of the tongue. *Environment International* **7**, 1062-1065.

Matsumoto, M. A., Castanho, J., Kawakami, R. Y. & Ribeiro, D. A. (2010) Cytogenetical damage in exfoliated oral mucosa cells in elderly people suffering denture stomatitis. *Gerontology* **27**, 183-188.

Mukherjee, D., Coates, P. J., Lorimore, S. A. & Wright, E. G. (2012) The in vivo expression of radiation-induced chromosomal instability has an inflammatory mechanism. *Radiation Research* **177**, 18-24.

Multaup, H., Bruder, E., Elit, L., Rothblat, I. & Warhol, M. (1993) Combined analysis of cervical smears. Cytopathology, image cytometry and *in situ* hybridization. *Acta Cytology* **37**, 373-378.

Norderyd, O., Hugson, A. & Grusoving, G. (1999) Risk of severe periodontal disease in a Swedish adult population. A longitudinal study. *Journal of Clinical Periodontology* **26**, 608-615.

Nunn, M.E. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. *Periodontology 2000* **32**, 11-23.

Passos, J. S., Gomes-Filho, I. S., Vianna, M. I. P., Cruz, S. S., Barreto, M. L., Oliveira, T. J. S. & Borges, L. D. (2010) *Journal of Periodontology* **81**, 1773-1780.

Petersen, P. E. & Ogawa, H. (2005) Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach. *Journal of Periodontology* **76**, 2187-2193.

Sancar, A., Lindsey-Boltz, L. A., Unsal-Kaçmaz, K. & Linn, S. (2004) Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annual Review of Biochemistry* **73**, 39-85.

Sarto, F., Finotto, S., Giacomelli, L., Mazzotti, D., Tomanin R. & Levis, A. G. (1987) The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis* **2**, 11-17.

Scannapieco, F. A. (2003) Associations Between Periodontal Disease and Risk for Nosocomial Bacterial Pneumonia and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Journal Periodontology* **8**, 54-69.

Sloand, E. M., Pfannes, L., Ling, C., Feng, X., Jasek, M., Calado, R., Tucker, Z. C. G., Hematti, P. Maciejewski, J., Dunbar, C., Barrett, J. & Young N. (2010) Graft-versus-Host Disease: Role of Inflammation in the Development of Chromosomal Abnormalities of Keratinocytes. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* **12**, 1665-1673.

Tolbert, P. E., Shy, C. M. & Allen, J. W. (1991) Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *American Journal of Epidemiology* **134**, 840-850

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

Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S. & Fenech, M. (2009) Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols* **4** 825-837

Weinberg, R. A. (2002) *Uma célula renegada, como o câncer começa*. 1th edition, p. 155, Rio de Janeiro. Rocco.

Yalda, B., Offenbacher, S. & Collins, J. G. (1994) Diabetes as a modifier of periodontal disease expression. *Periodontology 2000* **6**, 37-49.

Tabela 1 – Características gerais dos grupos controle, gengivite e periodontite (n=72).

Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Características	Controle (27) n(%)	Gengivite (21) n(%)	P*	Periodontite (24) n(%)	P*
<i>Idade (anos)</i>					
≤ 41 Anos	12(44,44)	12(57,14)	0.38	13(54,17)	0.48
> 41 Anos	15(55,56)	9(42,86)		11(45,83)	
Média±EP	40,59±5,20	39,14±4,58		43,08±4,90	
Mediana	43	40		40,5	
Mínima-máxima	20-61	17-60		23-77	
<i>Sexo</i>					
Feminino	22(81,48)	15(71,43)	0.41	16(66,67)	0.23
Masculino	5(18,52)	6(28,57)		8(33,33)	
<i>Situação conjugal**</i>					
Casado/união estável	10(38,46)	12(60,00)	0.15	8(34,78)	0.79
Solteiro/divorciado/viúvo	16(61,54)	8(40,00)		15(65,22)	
<i>Nível de escolaridade (em anos de estudo)***</i>					
≤ 8 Anos	8(30,77)	10(47,62)	0.23	11(47,83)	0.22
> 8 Anos	18(69,23)	11(52,38)		12(52,17)	
<i>Renda familiar (em salário mínimo)****</i>					
≤ 1 Salário mínimo	15(55,56)	5(23,81)	0,02	9(37,50)	0,19
> 1 Salário mínimo	12(44,44)	16(76,19)		15(62,50)	
<i>Densidade domiciliar</i>					
≤ 4 Pessoas	24(88,89)	13(61,90)	0.02	17(70,83)	0.10
> 4 Pessoas	3(11,11)	8(38,10)		7(29,17)	

Ex-fumante

Não	19(70,37)	16(76,19)	0.65	16(66,67)	0.77
Sim	8(29,63)	5(23,81)		8(33,33)	

Fumante Passivo

Não	21(77,78)	14(66,67)	0.39	23(95,83)	0.06
Sim	6(22,22)	7(33,33)		1(4,17)	

Consumo de álcool

Não	15(55,16)	14(66,67)	0.43	14(58,33)	0.84
Sim	12(44,44)	7(33,33)		10(41,67)	

Usuário de medicamentos

Sim	16(59,26)	14(66,67)	0.60	13(54,17)	0.71
Não	11(40,74)	7(33,33)		11(45,83)	

História de câncer na família

Não	14(51,85)	13(61,90)	0.48	18(75,00)	0.08
Sim	13(48,15)	8(38,10)		6(24,00)	

Classe social

A	0(0,00)	0(0,00)	0.61	0(0,00)	0,78
B	1(3,70)	0(0,00)		2(8,33)	
C	19(70,37)	17(80,95)		15(62,50)	
D	6(22,22)	4(19,05)		5(20,83)	
E	1(3,7)	0(0)		2(8,3)	

Hipertensão arterial

Não	22(81,48)	17(80,95)	0.96	20(83,33)	0.86
Sim	5(18,52)	4(19,05)		4(16,67)	

<i>Diabetes</i>					
Não	26(96,30)	20(95,24)	0.85	22(87,50)	0.24
Sim	1(3,70)	1(4,76)		3(12,50)	
<i>Alergia</i>					
Não	19(70,37)	14(66,67)	0.78	21(87,50)	0.13
Sim	8(29,63)	7(33,33)		3(12,50)	
<i>Doenças renais</i>					
Não	26(96,30)	20(95,24)	0.85	23(95,83)	0.93
Sim	1(3,70)	1(4,76)		1(4,17)	
<i>Doenças ósseas</i>					
Não	23(85,19)	20(95,24)	0.25	22(91,67)	0.47
Sim	4(14,81)	1(4,76)		2(8,,33)	
<i>Prática de atividade física</i>					
Não	19(70,37)	12(57,14)	0.45	17(70,83)	0.97
Sim	8(29,63)	9(42,86)		7(29,17)	

* P = valor de p. Significância estatística: $p \leq 0.05$;

** Uma informação perdida para os grupos controle, gengivite e periodontite;

*** Uma informação perdida para os grupos controle e periodontite;

**** Salário mínimo da época de coleta de dados: R\$545,00 (equivalente a US\$302,78)

Tabela 2. Características comportamentais relacionadas à saúde bucal dos grupos controle, gengivite e periodontite (n=72). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Características	Controle (27) n(%)	Gengivite (21) n(%)	P*	Periodontite (24) n(%)	P*
Frequência de escovação dental ao dia					
≤ Uma vez	0 (0,00%)	1 (4,76%)		1 (4,17%)	
Duas ou mais	27 (100,00%)	20 (95,24%)	0.25	23 (95,83%)	0.28
Uso de fio dental					
Não	5 (18,52%)	10 (47,62%)		11 (45,83%)	
Sim	22 (81,48%)	11 (52,38%)	0.03	13 (54,17%)	0.03
Frequência do uso de fio dental (n=46)					
Eventualmente	8(36,36%)	4(36,36%)		5 (38,46%)	
Diariamente	14(63,64%)	7(63,64%)	1,00	8(61,54%)	0.90
Faz uso de enxaguatório bucal					
Não	21 (77,78%)	15 (71,43%)		20 (83,33%)	
Sim	6 (22,22%)	6 (28,57%)	0.61	4 (16,67%)	0.61
Visita periódica ao dentista					
Não	18 (66,67%)	13 (61,90%)		13 (54,17%)	
Sim	9 (33,33%)	8 (38,10%)	0.73	11 (45,83%)	0.36

* P = valor de p. Significância estatística: $p \leq 0,05$;

Tabela 3. Distribuição das variáveis relacionadas à condição periodontal dos grupos controle, gengivite e periodontite (n=72). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Parâmetros clínicos	Controle	Gengivite	P*	Periodontite	P*
	n (%)	n (%)		n (%)	
Sangramento à sondagem (%)					
Média ±EP	7,71±1,44	50,36±2,76	0,00	47,93±5,06	0,00
Mediana	5,7	50		52,9	
Variação	0-22,2	25,00-75,00		7,5-100	
Índice de Placa visível (%)					
Média ± EP	10,98±2,69	58,14±5,53	0,00	68,76±6,77	0,00
Mediana	5,68	63,00		80,7	
Variação	0-59,37	10,18-100		3,84-100	
Profundidade de sondagem (mm)					
Média ± EP	1,83±0,05	2,21±0,06	0,00	3,00±0,18	0,00
Mediana	1,84	2,26		2,86	
Variação	1,27-2,77	1,53-2,79		1,87-5,48	
Perda de inserção clínica (mm)					
Media ± EP	2,01±0,09	2,52±0,18	0,01	3,52±0,31	0,00
Mediana	1,92	2,41		2,95	
Variação	1.39-2.69	1.56-5,69		1,83-7,51	
Número de dentes presentes (n)					
Média ± EP	19,33±1,32	18,76±1,56	0,78	20,20±1,16	0,62
Mediana	22	19		20,5	
Variação	6.00-28.00	6-28		6-27	

Número de sítios com perda de inserção clínica 1-2 mm (n)					
Média ± EP	9,25±1,38	3,23±0,83	0,00	2,08±0,65	0,00
Mediana	8	2		0	
Variação	0-35	0-14		0-12	

Número de sítios com perda de inserção clínica 3-4 mm (n)					
Média ± EP	9,33±1,05	13,42±1,44	0,02	9,45±1,27	0,93
Mediana	8	14		11	
Variação	1-20	0-25		0-19	

Número de sítios com perda de inserção clínica ≥5mm (n)					
Média ± EP	1,11±0,25	2,09±0,44	0,04	8,7±1,31	0,00
Mediana	1	2		6,5	
Variação	0-4	0-6		1-21	

Número de sítios com profundidade de sondagem igual ou superior a 4mm (n)					
Média ± EP	0,88±0,21	1,57±0,24	0,04	12,5±1,39	0,00
Mediana	0	1		9,00	
Variação	0-3	0-4		4-25	

*P = p valor. Significância estatística: ≤ 0,05.

Tabela 4. Dados referentes à ocorrência de micronúcleos (MN) entre os Controles, Grupo I (gingivite) e Grupo II (periodontite) (n=59). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Grupo	MN Observados	MN Esperados	# Células	χ^2
Controle (n=24) *	10	11,41	50112	
Grupo I (n=18) *	14	10,06	37600	2,43 G.L.=2
Grupo II (n=17) **	9	9,52	35589	P<0,10 ***

* Três informações perdidas;

** Sete informações perdidas;

***P = valor de p. Significância estatística: $\leq 0,05$.

Tabela 5. Dados referentes à apoptose (AP) entre os Controles Grupo III), Grupo I (gingivite) e Grupo II (periodontite) (n=59).

Grupo	AP	# Cél	χ^2	Partições do χ^2; p; G.L.=1
Controle (n=24)	1798	50112		Grupo I x Controle = 0,04; p>0,9
Grupo I (n=18)	1359	37600	6,84 G.L.=2	Grupo I x Grupo II = 4,36; p<0,05
Grupo II (n=17)	1393	35589	p<0,05	Grupo II x Controle=5,94;p<0,025

AP= Apoptose

Cél= Total de Células

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ocorrência de efeitos genotóxicos associados à doença periodontal é um tema bastante incipiente e, por extensão, ainda controverso. Foram encontrados apenas os estudos desenvolvidos por D'Agostini e outros (2012), Silva (2010) e Bloching e outros (2008) os quais mostram resultados ainda exploratórios e sugerem a produção de novos trabalhos sobre a temática.

Nesse sentido, a tentativa de desenvolver uma pesquisa de intervenção com seres humanos foi idealizada e encontra-se em desenvolvimento em uma parceria do NUPPIIM com o LABGENOTOX. Nesta investigação, procura-se não somente avaliar a distribuição de biomarcadores indicativos de danos cromossômicos e apoptose entre os grupos populacionais que tem gengivite, periodontite e periodonto saudável, mas também avaliar os efeitos da terapia periodontal não cirúrgica sobre os *endpoints* analisados.

Todavia, um estudo dessa magnitude esbarra em diversos e intrigantes problemas metodológicos. Inicialmente, a todos aos participantes foi assegurado, além do tratamento periodontal não cirúrgico, o tratamento odontológico indicado à queixa principal que os levou a procurar o serviço; para tal foi necessário uma grande mobilização de recursos financeiros e humanos no sentido de sanar as mais diversas queixas odontológicas que incluíam, dentre outras, halitose, odontalgias, gengivite, presença de cárie e necessidade de exodontias.

Soma-se a este fato a dificuldade de tratar uma população caracterizada com baixo nível escolar e sócio-econômico. Dentre estes gargalos, pode ser citado mais claramente, a dificuldade de adesão às práticas de auto-cuidado, a dificuldade de locomoção até o ambulatório em que o tratamento era realizado, o não entendimento da importância do tratamento odontológico, a indisponibilidade de horário para comparecer ao ambulatório e outros que se somam corroborando à não adesão ao tratamento clínico e às prescrições domésticas.

Além disso, o curto espaço de tempo e a emergência da necessidade da produção dessa dissertação precipitaram a análise de um número ainda pequeno de indivíduos. Mesmo assim, por se tratar de um estudo que procura avaliar eventos celulares raros, os achados, de forma preliminar, do presente trabalho transversal, mostraram que a ocorrência de apoptose gerada pelo processo inflamatório nos indivíduos com periodontite foi maior do que nos indivíduos com gengivite e sem doença periodontal, traduzindo efeitos genotóxicos. Além disso, não foi observada maior frequência de danos cromossômicos, traduzido por micronúcleos, naqueles indivíduos com gengivite e periodontite.

É no sentido de somar à literatura científica, que a continuidade da pesquisa clínica quase experimental, em andamento, encontra seu valor maior. Concernente aos avanços da epidemiologia genética, que avalia os efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos nas populações, a pesquisa de intervenção com seres humanos, que procura avaliar os efeitos da terapia periodontal nas alterações celulares degenerativas mostrar-se-á como uma importante referência no campo, alicerçada nos achados preliminares do presente estudo.

REFERÊNCIAS

ALBANDAR, J.M.; RAMS, T.E. Global epidemiology of periodontal diseases. **Periodontology** **2000**, v. 29, p 7-10, 2002

ALBANDAR, J.M.; TINOCO, E.M.B. Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. **Periodontology**, v. 29, p. 153-176, 2002.

ALPAGOT, T. *et al.* Risk indicators for periodontal disease in a racially diverse urban population. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 23, p 982-988, Nov 1996

ANAND, A.S.; NANDAKUMAR, K.; SHENOY, K.T. Are Dental Plaque, Poor Oral Hygiene, and Periodontal Disease Associated With Helicobacter pylori Infection?. **Journal of Periodontology**. v. 77, p 692-698. April, 2006.

AU, W.W.; CAJAS-SALAZR, N.; SALAMA, S. Factors Contributing to Discrepancies in Population Monitoring Studies. **Mutat research**. V. 400(1-2), p. 467-78, May, 1998

BAKER, P.J.; ROOPENIAN, D.C. Genetic susceptibility to chronic periodontal disease. **Microbes and Infection.**, v. 4, p. 1157-1167, 2002.

BERGSTÖN, J.; PREBER, H. Tobacco use as a risk factor. **J Periodontol**, v. 65, p. 545-550, 1994.

BLOCHING, M. *et al.* Micronucleus rate of buccal mucosal epithelial cells in relation to oral hygiene and dental factors. **Oral Oncology**, v. 44, p. 220-226, 2008.

BRAGANÇA-PEREIRA, C.A. Teste estatístico para comparar proporções em problemas de citogenética. *In*: RABELLO-GAY, M.N, RODRIGUES, M.A.; LA, R.; MONTELEONE NETO, R. Mutagênese, carcinogênese e teratogênese : Métodos e critérios de avaliação. **Sociedade Brasileira de Genética**, p.113-21, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Pesquisa nacional de Saúde Bucal – 2010. Nota para a Imprensa. Brasília, 2010

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2009.

CORTELLI JR. *et al.* Prevalence of aggressive periodontitis in adolescents and young adults from Vale do Paraíba. **Pesqui Odontol Bras. Res.**, v.16, p.163-168, 2002.

CURRY-CHIU, M. Tobacco Use and Periodontal Diseases: Background Information and Tools for Dental Hygiene Student. **JCCC Honors Journal**, v. 1, 2010

D'AGOSTINI, F., CALCAGNO, E., MICALÉ, R. T., LA MAESTRA, S., FLORA, S. & CINGANO, L. Cytogenetic analysis of gingival epithelial cells, as related to smoking habits and occurrence of periodontal disease. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438463912000181>>. Acessado em 20 de fevereiro de 2012.

DUESBERG, P. Caos Cromossômico e Câncer. **Scientific American Brasil**, v. 61, p. 61-67, 2007.

DYKE, T.E.V.; DAVE, S. Risk Factors for Periodontitis. **J Int Acad Periodontol.**, v. 7, p. 3-7, 2005.

FISCHER, M.A.; TAYLOR, G.W.; TILASHALSKI KR. Smokeless Tobacco and Severe Active Periodontal Disease, NHANES III. **Journal of dental research**. V. 84, p 705-710. 2005

FREITA, V.S. *et al.* Efeitos genotóxicos de fatores considerados de risco para o câncer bucal. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.29, p.189-199, 2005.

GESSER HC.; PERES MA.; MARCENES, W. Condições gengivais e periodontais associadas a fatores socioeconômicos. **Saúde Pública**.; v. 35, p. 289-93, 2001.

GOMES-FILHO, I.S. *et al.* Periodontal disease clinical diagnosis criteria (in Portuguese). **J Bras Clin Odonto Int**, v. 9, p.88-89, 2005.

GOMES-FILHO, I.S. *et al.* The association between postmenopausal osteoporosis and periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v. 78, p. 1731-1740. 2007

HART, T.C. Genetic risk factors for early onset periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 67, p. 355-366, 1996.

HEEPCHANTREE, W.; PARATASILPIN, T.; KANGWANPONG, D. A Comparative biomonitoring study of populations residing in regions with low and high risk of lung cancer using the chromosome aberration and the micronucleus tests. **Mutation Res.**, v. 587, p. 134-139, 2005.

HODGE P.; MICHALOWICZ, B. Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults. **Periodontology**, v. 26, p. 113–134, 2001.

HOLLAND, N. *et al.* The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN Project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutation Res.**, v. 659, p. 93-108, 2008.

HOLT, S.C., BRAMANTI, T.E. Factors in Virulence Expression and Their Role in Periodontal Disease Pathogenesis. **Critical Reviews in Oral Biology e Medicine**, v. 2, p. 177 – 281, 1991

HUJOEL, P.P. *et al.* An Exploration of the Periodontitis–Cancer Association. **EAP.**, v. 13, p. 312-316, 2003.

JARNBRING, F. *et al.* Quantitative assessment of apoptotic and proliferative gingival keratinocytes in oral and sulcular epithelium in patients with gingivitis and periodontitis. **J Clin Periodontol.**, v. 29, p. 1065-1071, 2002.

- KINANE, D.F.; HART, T.C. Genes and Gene Polymorphisms Associated With Periodontal Disease. **Oral Biol Med.**, v.14, p. 430-449, 2003.
- LIVINGSTON, M.; PARSELL, D.; POLLACK. Periodontal Disease: Systemic Risk Factors. **S.J Correct Health Care Res.**, v. 9, p. 247-255, 2009.
- MANUEL, D. M. *et al.* Prevalence and determinants of periodontal disease in Portuguese adults: results from a multifactorial approach. **Acta Odontológica Scandinavica**, vol. 58, p. 201-206, 2000
- MARCHIONI, D.M.I. *et al.* Fatores dietéticos e câncer oral: estudo caso-controle na Região Metropolitana de São Paulo, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 23, p. 553-564, 2007.
- MEALEY, B.L.; OATES, T.W. American Academy of Periodontology. Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. **Journal of Periodontology**, v. 77, p 1289-1303, 2006
- MENG, H. *et al.* Determinants of host susceptibility in aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 43, p. 133-159, 2007.
- MICHAUD, D.S. *et al.* Periodontal disease, tooth loss, and cancer risk in male health professionals: a prospective cohort study. **Lancet Oncol Rev.**, v. 9, p. 550-558, 2008.
- MOREIRA, A.L.; VIANNA, M.I.; CANGUSSU, M.C.T. Condições periodontais associadas aos fatores socioeconômicos na população adulta em Salvador (BA), 2005. **R. Ci. Méd. Biol.**, v. 6, p. 39-46, 2007.
- MUKHERJEE D, COATES P.J., LORIMORE S.A., WRIGHT E.G. The in vivo expression of radiation-induced chromosomal instability has an inflammatory mechanism. **Radiat Res** v.177, p. 18-24, 2012
- MULTHAUPT, H.; BRUDER, E.; ELIT, L.; ROTHBLAT, I.; WARHOL, M. Combined analysis of cervical smears. Cytopathology, image cytometry and *in situ* hybridization. **Acta Cytol.**, v37, p. 373-378, 1993
- NOGUEIRA, R.L.M. Detecção da p53 em lesões benignas e malignas da mucosa bucal: correlação com o hábito de fumar. **Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac.**, v. 4, p. 53-62, 2004.
- NOIRI, Y.; LI, L.; EBISU, S. The Localization of Periodontal-disease-associated Bacteria in Human Periodontal Pockets. **Journal of Dental Research**, v. 80, p. 1930-1934. 2001.
- NORDERYD, O.; HUGSON, A.; GRUSOVING, G. Risk of severe periodontal disease in a Swedish adult population. A longitudinal study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 26, p 608-615, 1999.
- NUNN, M.E. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. **Periodontol.**, v.32, p.11-23, 2003.
- OFFENBACHER S. *et al.* Periodontal Disease at the Biofilm–Gingival Interface. **Journal of Periodontology**, v. 78, p. 1911-1925, 2007

PAGE, R.C. Current understanding of the aetiology and progression of periodontal disease. **Int. Dental. J.**, v. 36, p. 153- 161, 1986.

PEREIRA, A.D. *et al.* First *in vivo* evaluation of the mutagenic effect of Brazilian Green propolis by comet assay and micronucleus test. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p. 2580-2584, 2008.

PETERSEN, P.E.; OGAWA, H. Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach. **Journal of Periodontology**, v. 76, p 2187-2193, 2005.

PETERSEN, P.E. Global policy for improvement of oral health in the 21st century – implications to oral health research of World Health Assembly 2007, World Health Organization. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 37, p. 1–8 , 2009

PIHLSTROM, B. L.; MICHALOWICZ, B. S.; JOHSON, N. W. Periodontal disease. **Lancet**, v. 366, p. 1809-1820, 2005.

REZENDE, C.P. *et al.* Oral Health Changes in Patients with Oral and Oropharyngeal Cancer. **Bras. Otorrinolaringol.**, v. 74, p. 596-600, 2008.

SAILAJA, N. *et al.* Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. **Mutation Res.**, v. 609, p. 74-80, 2006.

SANCAR A. *et al.* Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. **Annu Rev Biochem.**, v. 73, p. 39-85, 2004

SANTOS, N.C.N. *et al.* A saúde bucal de adolescentes: aspectos de higiene, de cárie dentária e doença periodontal nas cidades de Recife, Pernambuco e Feira de Santana, Bahia. **Ciênc. saúde coletiva** v.12, n.5, 2007

SARTO, F. *et al.* The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. **Mutagenesis**, v. 2, p. 11-17, 1987.

SCANNAPIECO, F.A. Associations Between Periodontal Disease and Risk for Nosocomial Bacterial Pneumonia and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Journal Periodontology**, v. 8, p 54-69, 2003

SCHÄTZLE, *et al.* 2009. The clinical course of chronic periodontitis: V. Predictive factors in periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 36, p. 365-371, 2009

SHEIHAM, A. The epidemiology, etiology, and public health aspects of periodontal disease. In: Grant, D. A., Stern, I. B.; Listgarten. M. A. Periodontics in the tradition of Gottlieb and Orban, **C.V.Mosby**. p. 216-51, 1988.

SHIRODARIA, S. *et al.* Polymorphisms in the IL-1A Gene are Correlated with Levels of Interleukin-1 α Protein in Gingival Crevicular Fluid of Teeth with Severe Periodontal Disease. **Journal of Dental Research**, v. 70, p 1864-1969, 2000

SILVA, R.C. **Biomonitoramento citogenético de lesões periodontais crônicas**. 2010. Monografia. (Especialização em Biologia Celular) – Universidade Estadual de Feira de Santana, 2010.

- SLOAND, E.M. *et al.* Graft-versus-Host Disease: Role of Inflammation in the Development of Chromosomal Abnormalities of Keratinocytes. **Biol Blood Marrow Transplant.** v. 12, p. 1665-1673, 2010
- SOUZA, JR. Etiopatogenia do Câncer Bucal no Brasil: Fatores de Risco e de Proteção. **Rev. Saúde e Biol.** v. 1, p. 48-58, 2006.
- TAKEUCHI, B.P.C. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. **Oral diseases,** v. 9, p. 23-29, 2003.
- TATAKIS, D.N.; KUMAR, P.S. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. **Dental Clinics of North America.** v. 43, p 491-516, 2005.
- TEZAL, M. *et al.* Chronic periodontitis and the risk of tongue cancer. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.,** v. 133, p. 450-454, 2007.
- TOLBERT, P.E.; SHY, C.M.; ALLEN, J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. **Mutat. Res.,** v. 271, p. 69-77, 1992.
- TOLBERT, P.E.; SHY, C.M.; ALLEN, J.W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. **Am. J. Epidemiol.,** v.134, p. 840-850, 1991.
- THOMAS, P., HOLLAND, N., BOLOGNESI, C., KIRSCH-VOLDERS, M., BONASSI, S., ZEIGER, E., KNASMUELLER, S. & FENECH, M. Buccal micronucleus cytome assay. **Nature Protocols,** v. 4, p. 825-837, 2009.
- UNFER, B. Avaliação do conhecimento popular e práticas cotidianas em saúde bucal. **Saúde Pública,** v.34, p. 190-195, 2000.
- WARNAKULASURIYA, S: Global epidemiology of oral and orofaryngeal cancer. **Oral Oncol,** v. 45, p. 309-316, 2009
- WEINBERG RA, R.A. **Uma célula renegada, como o câncer começa.** Ciência Atual. Rocco. Rio de Janeiro. 2000.
- YALDA, B.; OFFENBACHER, S.; COLLINS, J. G. Diabetes as a modifier of periodontal disease expression. **Periodontology 2000.** V. 6, n. 1, p 37-49, October, 1994

APÊNDICE I



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Departamento de Ciências Biológicas

Laboratório de Genética Toxicológica

QUESTIONÁRIO DE ENTREVISTA

Data: / /

Identificação:

01. Número		02. RG:	
03. Nome		04. Data de Nascimento: / /	
05. Idade:	06. Sexo:	07. Estado Civil:	
08. Grau de Instrução: () Analfabeto () 1º grau () 2º grau () 3º grau			
09. Grau de escolaridade em anos de estudo			
10. Endereço (Rua, Av.):		11. N°	12. Apt°:
13. Bairro:	14. Cidade:	15. Estado:	16. CEP.:
17. Telefone:		18. Zona:	
19. Cor da pele (auto referida) () Preta () parda () Branca () Amarela () Indígena		20. Renda familiar (em salários mínimos)	
21. Número de pessoas que residem no domicílio		22. Peso: _____	24. IMC: _____
		23. Altura: _____	
25. Ocupação Atual:		26. Tempo de atividade:	
27. Ocupação Anterior:		28. Tempo de atividade:	

Hábitos de Fumar:

01. Hábitos Tabagistas: () Sim () Não		02. Tipo de Cigarro: () Cigarro de Palha () Cigarro Industrial () Cachimbo () Charuto () Outros _____ () Não se aplica	
03. Quantidade de cigarro/dia: () 01 a 05 () 06 a 10 () 11 a 15 () 16 a 20 () 21 a 30 () mais de 30 () Não de aplica		04. Traga o Cigarro: () Sim () Não	
05. Há quanto tempo fuma? _____	06. Já fumou: () Não () Sim	07. Há quanto tempo deixou de fumar:	
08. Quantos cigarros fumava: () 01 a 05 () 06 a 10 () 11 a 15 () 16 a 20 () 21 a 30 () mais de 30 () Não de aplica		09. Por quanto tempo fumou: () menos de 6 meses () 06 meses a 1 ano () 01 a 05 anos () 05 a 10 anos () Não se aplica	
10. Convive com pessoa que fuma? () Sim () Não		11. Em que local convive com fumante? () Residência () Trabalho () Outro local _____ () Não se aplica	

Hábitos de Ingerir bebidas alcoólicas

01. Uso de bebida alcoólica: () Sim () Não	02. Frequência: () diariamente () 2 a 3 vezes/semana () 1 vez/semana () 1 vez/mês () ocasionalmente () raramente () Não se aplica
03. Tipo de bebida: () cachaça () cerveja () vinho () conhaque () whisky () outras _____ () não se aplica	04. Há quanto tempo bebe: () menos de 6 meses () 6 meses a 1 ano () 01 a 05 anos () 05 a 10 anos () não sabe () não de aplica
05. Quanto bebe: _____ copos	

Uso de medicamentos

01. Uso freqüente de algum medicamento: () Sim () Não	
02. Frequência do uso de medicamento: () diariamente () 2 a 3 vezes/semana () 1 vez/semana () 1 vez/mês () ocasionalmente () raramente () não se aplica	03. Tempo de uso: () menos de 6 meses () 6 meses a 1 ano () 01 a 05 anos () 05 a 10 anos () não de aplica
04. Quais: () antibiótico () analgésico () antiinflamatório () antihistamínico () vitamina () antimicótico () anticonvulcionante () imunodepressores () antidepressivos () outros	

Exposição à radiação

01. Exposição freqüente à radiação: () Sim () Não	02. Tipo de radiação: () Ionizante () Não se aplica
03. Frequência de exposição à radiação:	04. Tempo de exposição:

Exposição à produtos genotóxicos

01. Exposição à produtos tóxicos (exceto agrotóxicos): () Sim () Não	02. Quais:
---	------------

Antecedentes familiares

01. Câncer na família: () Sim () Não	02. Localização topográfica: () boca () colo de útero () mama () próstata () pele () outros
---	--

Quanto itens abaixo a família possui?	Quantidade de itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	1	2	3	4
Automóvel	0	1	2	3	4
Emprego da mensalista	0	1	2	3	4
Máquina de lavar	0	1	2	3	4
Videocassete e/ou DVD	0	1	2	3	4
Geladeira	0	1	2	3	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	1	2	3	4
Grau de Instrução da pessoa com maior renda					
Analfabeto / Primário incompleto Analfabeto / Até 3ª Série Fundamental					0
Primário completo / Ginásial incompleto até 4ª Série Fundamental					1
Ginásial completo / Colegial incompleto / Fundamental completo					2
Colegial completo / Superior incompleto / Médio completo					3
Superior completo					4

Total de pontos para posse de itens: _____ () classe A () classe B () classe C () classe D () classe E

Variáveis Biológicas

Doenças sistêmicas diagnosticadas			
Hipertensão	1 () sim	2 () Não	
Diabetes	1 () sim	2 () Não	
Alergia	1 () sim	2 () Não	Qual?
Fibrose cística	1 () sim	2 () Não	
Sífilis	1 () sim	2 () Não	
Asma	1 () sim	2 () Não	
Cardiopatia	1 () sim	2 () Não	Qual?
Doenças renais	1 () sim	2 () Não	Qual?
Doenças hepáticas	1 () sim	2 () Não	Qual?
Doenças ósseas	1 () sim	2 () Não	Qual?
Doenças metabólicas	1 () sim	2 () Não	Qual?
Discrasias sanguíneas	1 () sim	2 () Não	Qual?
Neoplasia	1 () sim	2 () Não	Qual?
Outras	1 () sim	2 () Não	Qual?

Variáveis comportamentais e de estilo de vida

Faz alguma atividade física?		
1 () sim	2 () Não	Qual?
Qual a frequência?		
1 () Uma vez por semana	2 () 2 a 3 vezes por semana	3 () Mais de 3x por semana
Quantas vezes escova os dentes por dia?		
1 () Nenhuma	1 () 1 vez	2 () mais de duas vezes
Usa Fio dental?		
1 () Sim	2 () Não	
Com que frequência usa o fio dental?		
1 () Eventualmente	2 () Diariamente	3 () Não se aplica
Faz uso de algum enxaguatório bucal?		
1 () Sim	2 () Não	Qual?
Consulta periodicamente o dentista?		
1 () Sim	2 () Não	
Se sim, com que frequência vai ao dentista?		
1 () de 6 em 6 meses	2 () Uma vez por ano	3 () Dias ou mais vezes por ano

Variáveis ambientais

Mora em ambiente () urbano () rural

No ambiente em que vive ou trabalha ,você está exposto ao uso de alguma pesticida/praguicida (doméstico ou agrícola)? () Sim () Não Qual?_____

Seu trabalho envolve contato direto ou indireto com:

Metais: ()sim ()não,

Fibras: ()sim ()não

Solventes ()sim ()não

Você mora próximo a indústrias, plantações, áreas ou rios poluídos? ()Sim ()Não Qual?_____

Qual a fonte de água ? () encanada () poço ()outra _____

Existem medidas de saneamento e recolhimento de lixo onde você mora/trabalha? () Sim () Não

Qual o tipo de combustível utilizado para cozinhar e para o aquecimento geral da casa e da água? () gás, () querosene, () madeira, () carvão?

Quais os tipos de produtos de limpeza e aromatizantes de ambiente utilizados onde você mora?

APÊNDICE II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira, médica, professora aposentada da Universidade Estadual de Feira de Santana estou fazendo juntamente com o Dr. Isaac Suzart Gomes Filho professor da Universidade Estadual de Feira de Santana, um estudo para investigar possíveis alterações que podem ocorrer no DNA (material genético) em consequência da inflamação da gengiva (gengivite e periodontite). Neste estudo procuramos identificar também se o tratamento que vai ser oferecido às pessoas com inflamação gengival é eficaz, não apenas na cura desta inflamação, mas também na redução das alterações do DNA, algumas delas relacionadas com o desenvolvimento do câncer. É importante que você compreenda que a presença dessas alterações não significa que a pessoa terá câncer, mas é importante sua identificação porque pode reforçar a necessidade do tratamento da gengiva inflamada e estimular sua prevenção através da boa higiene oral e do abandono do hábito de fumar. O exame que vai ser realizado é muito simples e não causa dor. O material utilizado é descartável e você apenas poderá sentir um desconforto em ficar aproximadamente 5 minutos com a boca aberta. O exame e o tratamento que o dentista indicar é o mesmo que você receberia independentemente de participar, ou não deste estudo.

Se você concorda em participar da pesquisa deverá responder às perguntas feitas em entrevista, que será agendada de acordo com sua conveniência e realizada em local reservado, e permitir que se passe em sua bochecha com uma escovinha descartável e usada somente em você. Você tem total liberdade de recusar a participação na pesquisa ou mesmo de desistir de continuar participando em qualquer tempo, sem que isto interfira de qualquer maneira no tratamento que lhe for indicado. Todos os resultados ficarão comigo e eu me comprometo a manter sigilo dos mesmos. Esclareço que estarei sempre à sua disposição, pessoalmente, na UEFS (Laboratório de Genética Toxicológica) ou nesta clínica em que você está tendo atendimento, pelos telefones (32210213, 32218285) para responder qualquer pergunta ou esclarecer dúvidas em relação à pesquisa. Estando de acordo peço que você assine o presente documento, em duas vias, que também será assinado por mim.

_____, ____ de _____ de _____.

Participante

Eneida de Moraes Marcílio Cerqueira

Endereço para contato:

Universidade do Estadual de Feira de Santana – Laboratório de Genética Toxicológica Módulo I, MT,
Sala 15

APÊNDICE III

FICHA DE COLETA DE DADOS

Nome: Diagnóstico da doença:

Data de nascimento: Idade: A M Idade aprox em anos:

DENTE	IR-H						Profundidade de Sondagem						Índice de Sangramento						NIC					
	disto-v	médio-v	mésio-v	disto-l	médio-l	mésio-l	disto-v	médio-v	mésio-v	disto-l	médio-l	mésio-l	disto-v	disto-v	médio-v	mésio-v	disto-l	médio-l	mésio-l	dv	mv	msv	dl	ml
17																								
16																								
15																								
14																								
13																								
12																								
11																								
21																								
22																								
23																								
24																								
25																								
26																								
27																								
37																								
36																								
35																								
34																								
33																								
32																								
31																								
41																								
42																								
43																								
44																								
45																								
46																								
47																								

Nomenclatura dentária segundo o sistema FDI

Nota: A aproximação da idade segue o seguinte critério: até 6 meses aproxima para a idade anterior; acima de 6 meses aproxima para a idade seguinte.

IM: índice de mobilidade: 1=grau 1; 2=grau 2; 3=grau 3

IR-H: índice de recessão ou hiperplasia (mm)

Profundidade de sondagem nas faces vestibular e lingual (mm)

Índice de sangramento nas faces vestibular e lingual: 0=ausente; 1=presente

NIC: nível de inserção clínica nas faces vestibular e lingual (mm)

QMC: quantidade de mucosa ceratinizada nas faces vestibular e lingual (mm)

IP: índice de placa nas faces vestibular, lingual, mesial e distal: 0=ausente; 1=presente