



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE REALEZA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA

ALINE MOLOSSI

**FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM FUMANTES, NÃO FUMANTES E EX-
FUMANTES**

REALEZA

2017

ALINE MOLOSSI

FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM FUMANTES, NÃO FUMANTES E EX-FUMANTES

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul *Campus* Realeza. Orientadora: Professora Doutora Dalila Moter Benvegnú.

REALEZA

2017

Molossi, Aline
Frequência de Micronúcleos em Fumantes, Não Fumantes e Ex-fumantes/
Aline Molossi. -- 2017.
19 f.

Orientadora: Dalila Moter Benvegnú.
Trabalho de conclusão de curso (graduação)
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas , Realeza, PR, 2017.

1. Tabaco. 2. Micronúcleo. 3. Hábito de Fumar . 4.
Mucosa Bucal . I. Benvegnú, Dalila Moter, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

ALINE MOLOSSI

FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM FUMANTES, NÃO FUMANTES E EX-FUMANTES

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul Campus Realeza.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dalila Moter Benvegnú

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Vanessa Silva Retuci – UFFS

Prof.^a Me. Luciana Borowski Pietricoski- UFFS

FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM FUMANTES, NÃO FUMANTES E EX-FUMANTES

Aline Molossi*

Luciana Borowski Pietricoski**

Dalila Moter Benvegnú***

Resumo

Introdução: o cigarro é um agente genotóxico que causa danos no DNA, como as alterações nucleares, sendo uma destas alterações a micronucleação. Micronúcleos são partículas de cromatina perdidas durante a divisão celular após a exposição aos agentes genotóxicos, estas não se ligam às fibras do fuso não sendo incluídas no núcleo das células filhas, formando um pequeno núcleo próximo ao núcleo da célula. Considerando o número de indivíduos que fazem o uso do cigarro, este estudo tem como objetivo avaliar se há e com que frequência os micronúcleos estão presentes em células da mucosa bucal de indivíduos fumantes, não fumantes e ex-fumantes. Metodologia: o estudo foi realizado com 32 discentes do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul - Realeza/PR, os quais foram divididos em três grupos: controle - não fumantes (20), fumantes (7) e ex-fumantes (5). Resultados e discussão: Em relação à caracterização da amostra 22% dos indivíduos foram homens e 78% mulheres e a idade variou de 19 a 48 anos. Os indivíduos foram avaliados conforme frequência de micronúcleo por grupo, percentual em homens e mulheres e percentual nos vários níveis de etilismo. Como conclusão, não existe influência do cigarro na frequência de micronúcleos e esta não é maior em indivíduos fumantes.

Palavras-chave: Tabaco. Micronúcleo. Hábito de fumar. Mucosa bucal.

FREQUENCY OF SMOKING, NON-SMOKING AND EX-SMOKING MICRONUCLEUS

Abstract

Introduction: Cigarette smoking is a genotoxic agent that causes DNA damage, such as nuclear alterations, one of which is micronucleation. Micronucleus are chromatin particles lost during cell division after exposure to genotoxic agents, they do not bind to spindle fibers not being included in the nucleus of daughter cells, forming a small nucleus near the nucleus of the cell. Considering the number of individuals that use the cigarette, this study aims to evaluate if and how often the micronucleus are present in cells of the oral mucosa of smokers, nonsmokers and former smokers.

Methods: The study was carried out with 32 students of the Licentiate in Biological Sciences course of the Federal University of Southern Frontier (PR) / PR, who were divided into three groups: control - nonsmokers (20), smokers (7) smokers (5). Results and discussion: Regarding the characterization of the sample, 22% of the individuals were men and 78% women and the age ranged from 19 to 48 years. The individuals were evaluated according to frequency of micronucleus per group, percentage in men and women and percentage in the various levels of alcoholism. In conclusion, there is no influence of the cigarette on the frequency of micronuclei and this is not higher in individuals smokers.

Keywords: Tobacco. Micronucleus. Smoking habit. Buccal cells.

INTRODUÇÃO

O uso do tabaco causa uma série direta ou indireta de problemas relacionados ao bem-estar e a saúde humana. O tabagismo foi denominado como doença e inserido no Código Internacional de Doenças (CID10), sendo classificado como o ato de consumir cigarros ou outros produtos que contenham tabaco¹.

Na pesquisa realizada em 2015 pelo programa VIGITEL (sistema de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico) em um conjunto de 27 cidades de todas as regiões brasileiras, a frequência de adultos fumantes foi de 10,2%, sendo maior no gênero masculino (12,8%) do que no feminino (8,3%). Nos dois gêneros, a frequência de fumantes foi menor abaixo dos 25 anos de idade e acima dos 65 anos, e maior entre os adultos de 45 a 64 anos. Nesta pesquisa o hábito de fumar diminuiu de acordo com o aumento da escolaridade, mas permaneceu elevado entre homens e mulheres com até oito anos de escolaridade (17,5% e 11,5%), excedendo em cerca de duas vezes a frequência observada entre indivíduos com 12 ou mais anos de estudo². Em 2016 na mesma pesquisa a frequência de adultos fumantes foi de 10,4%, ou seja manteve-se similar ao do ano anterior³.

Referente à toxicidade do cigarro, destacam-se três substâncias: nicotina, alcatrão e monóxido de carbono. A nicotina é considerada uma droga psicoativa que causa dependência, pois age no sistema nervoso central, chegando ao cérebro em torno de 7 a 19 segundos, onde eleva a liberação de catecolaminas causando vasoconstrição e aumento da frequência cardíaca, gerando consequentemente hipertensão arterial e adesividade plaquetária. O alcatrão é composto por substâncias legitimadas cancerígenas e provenientes da combustão dos derivados do tabaco (arsênio, níquel, benzopireno, cádmio, resíduos de agrotóxicos, substâncias radioativas), dentre elas substâncias usadas como raticidas. Assim, tanto a fumaça quanto o alcatrão dos cigarros causam irritação do revestimento mucoso das vias aéreas. O monóxido de carbono é um gás tóxico que

possui compatibilidade com a hemoglobina presente nas hemácias, que tem como função transportar oxigênio para os órgãos do corpo, esta compatibilidade resulta em um composto denominado carboxihemoglobina, dificultador da oxigenação do sangue, impossibilitando o transporte de oxigênio para os órgãos, reduzindo a síntese de ATP e consequentemente causando doenças em virtude da falta de energia^{1,4}.

Através da combustão a fumaça percorre os diversos órgãos, iniciando pela boca e terminando nos alvéolos pulmonares. Ao saírem dos alvéolos, as substâncias presentes no cigarro são dissolvidas na corrente sanguínea e passam por todos os órgãos do corpo, sendo capazes de induzir a uma série de mutações nas células⁵.

O cigarro é um agente genotóxico que causa danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) de indivíduos geneticamente sensíveis havendo como consequência alterações nucleares, dentre estas a micronucleação. Os micronúcleos são partículas de cromatina perdidas durante a divisão celular, dias ou semanas após a exposição aos agentes genotóxicos, as quais não se ligam às fibras do fuso durante a divisão celular, não sendo incluídas no núcleo das células filhas, formando um pequeno núcleo próximo ao núcleo da célula. A frequência de micronúcleos informa que há alterações genéticas acontecendo no organismo, uma vez que está diretamente ligada a exposição contínua a agentes genotóxicos, podendo desaparecer quando tal agente deixa de ser utilizado⁶.

O teste de micronúcleo possui vantagem por não ser invasivo, rápido na detecção dos efeitos de exposição a agentes genotóxicos inalados ou ingeridos e fácil armazenamento de amostras, antes e depois do processamento⁷.

Assim, tendo em vista a elevada prevalência de indivíduos que fazem uso de cigarro, o presente estudo tem como objetivo avaliar e comparar a frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal de indivíduos fumantes, não fumantes e ex-fumantes.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado com estudantes, entre 19 e 48 anos pertencentes ao gênero masculino e feminino, do curso noturno de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* de Realeza/PR, aprovado mediante certificado de apresentação para apreciação ética (CAAE) pelo Comitê de Ética em Pesquisa número 62702016.5.0000.5564. e logo em seguida iniciada a apuração dos participantes, mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Para isso, realizou-se um convite nas salas de aula do curso e posteriormente, para identificar os discentes, foi realizado um questionário com perguntas relacionadas à vida e hábitos pessoais, envolvendo uso de bebidas alcoólicas e tabaco. A bebida alcoólica também é considerado um agente genotóxico, portanto para que seu uso elevado não interfira nos resultados foi avaliado o consumo e feita uma relação com os grupos estudados.

Foram coletados dados e células de 32 estudantes, divididos em três grupos: um grupo controle, composto por indivíduos não fumantes (20), um grupo de fumantes (7) e outro grupo com ex-fumantes (5), os quais deixaram de fumar, em média há aproximadamente dois meses para que não haja ainda o risco de interferência do uso do cigarro. Foram considerados como fumantes todos aqueles participantes que declararam estar fumando atualmente no questionário. A coleta foi realizada nas salas de aula e a execução de todo o processamento das técnicas citogenéticas foi realizada no Laboratório de Microscopia e Bioquímica da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus de Realeza/PR*.

Para cada indivíduo foi coletado material esfoliativo da mucosa bucal utilizando a técnica do esfregaço com palito abaixador de língua. Para a realização da técnica, utilizou-se o mesmo lado do palito para fazer movimentos circulares nos dois lados da bochecha, logo em seguida depositar o material na lâmina de microscopia fazendo movimentos circulares leves⁸.

Após a coleta do material, as lâminas foram congeladas em torno de 24 horas, e quando retiradas do congelador mantidas à temperatura ambiente por 10 minutos. Depois submersas em fixador 3:1 (metanol: ácido acético) durante 1 minuto, coradas com Giemsa 50% por 5 minutos, lavadas com água destilada e mantidas a temperatura ambiente até a secagem completa⁶. Na técnica utilizada como base, a concentração de corante Giemsa foi de 5% ficando com uma coloração de difícil visualização, portanto esta foi aumentada para 50%.

A determinação da frequência de micronúcleos deu-se pela contagem e análise de células em microscópio óptico, aumento de 400 vezes, sendo contabilizadas 2.000 células por lâmina de cada indivíduo em duplicata. Para determinação dos micronúcleos seguiu-se os critérios sugeridos pelos autores Martins e Boschini Filho⁹: tamanho menor que $\frac{1}{3}$ do núcleo principal, mesmo plano de foco do núcleo principal, coloração idêntica ao núcleo principal e nenhuma ligação com o núcleo principal.

Para análise estatística dos dados utilizou-se o programa Statistic, versão 8.0. Mediante dados paramétricos, uma vez que o teste de Levene apresentou resultado não significativo, foi aplicada a análise de variância de uma via (ANOVA). Um valor de $p < 0.05$ foi adotado para considerar diferenças significativas.

RESULTADOS

No ano de 2015, o programa VIGITEL realizou um estudo em todas as regiões brasileiras, e constatou que a frequência de adultos fumantes foi de 10,2%, dos quais 12,8% para homens e 8,3% para mulheres. Quanto a idade, os registros indicaram frequência menor para indivíduos abaixo de 25 e acima dos 65 anos, e maior para adultos de 45 a 64 anos.

Em relação à caracterização da amostra 22% dos indivíduos pertenciam ao gênero masculino e 78% ao gênero feminino. Inicialmente os indivíduos foram comparados conforme a frequência de micronúcleo por lâmina analisada, sendo que foram analisadas duas lâminas a fim de obtenção da média do número de micronúcleos encontrados (figura 1 e 2).



Figura 1. Micronúcleo em célula da Mucosa Bucal do grupo fumante.



Figura 2. Micronúcleo em célula da Mucosa Bucal do grupo não fumante.

Além da caracterização dos participantes por gênero, foram utilizados outros fatores, como: idade, exposição a agentes genotóxicos (cigarro, medicamentos, agrotóxicos e radiação), como representado no quadro 1. Foi considerado sim (S) e não (N) para o indivíduo exposto e não exposto a outros agentes genotóxicos, além do cigarro.

Quadro 1: característica de cada participante (gênero, idade), exposição (fármaco, radiação, agrotóxico), grupo (fumante, não fumante e ex-fumante) e média de micronúcleos. Estes dados foram respondidos conforme julgamento dos participantes, e em caso de dúvidas estas eram esclarecidas na hora.

Indivíduo	Gênero	Idade	Medicamento	Agrotóxico	Radiação	Grupo	MN*
1	F	22	S	S	N	EF	2.5
2	F	22	N	N	S	NF	2.5
3	M	21	N	N	S	NF	1.5
4	M	48	S	S	S	NF	1
5	F	22	S	S	S	NF	4.5
6	F	25	S	S	S	NF	3.5

7	M	26	N	S	N	NF	5
8	F	21	S	S	S	NF	2
9	F	23	S	S	S	NF	4
10	F	25	N	N	S	NF	
111	F	27	S	S	S	NF	1
12	F	33	N	N	N	NF	1
13	F	23	S	S	S	NF	1
14	F	22	S	S	N	NF	8
15	F	24	S	N	N	F	1.5
16	F	29	S	N	S	EF	1.5
17	M	23	N	S	N	EF	2.5
18	F	22	S	S	S	NF	10
19	F	21	S	S	S	NF	11.5
20	F	22	N	N	S	NF	7.5
21	F	29	S	S	N	NF	21
22	M	20	S	S	S	NF	20
23	F	20	N	N	S	NF	10.5
24	F	26	S	N	S	NF	4
25	M	19	-	-	-	EF	8
26	F	25	-	-	-	NF	3.5
27	F	28	-	-	-	F	11.5
28	F	20	-	N	N	EF	5

29	F	20	-	-	-	F	4.5
30	M	22	S	S	S	F	3
31	M	23	N	N	S	F	5.5
32	F	21	N	N	N	EF	2.5

F: feminino; M: masculino; S: sim; N: não; NF: não fumante; EF: ex-fumante; F: fumante; MN: micronúcleo e média dos números obtidos nas avaliações das lâminas.

O resultado obtido quanto a análise estatística de comparação da frequência do número de micronúcleos entre o grupo fumante e o grupo não fumante e ex-fumante está representado no quadro 2.

Quadro 2: comparação de valores das médias obtidas para a frequência de micronúcleos nos grupos estudados

Grupo	Média ± DP*
F (n=7)	6,00±6,56
NF (n=20)	5,20±5,04
EF (n=5)	5,20±3,83
Total (n=32)	5,37±5,09

*DP= Desvio padrão; F: fumante; NF: não fumante; EF: ex-fumante.

A relação da frequência de micronúcleos em homens e mulheres pode ser observada no quadro 3.

Quadro 3: frequência de micronúcleos em homens e mulheres.

Gênero	Média ± DP*
Homem (n=7)	5,50±6,61
Mulher (n=25)	5,34±4,74

*DP: desvio padrão

A quantidade de bebida alcoólica ingerida pelos participantes foi dividida em três grupos: pouco, médio e alto, para análise de micronúcleos nos vários níveis de etilismo, como expresso no quadro 4. Foi considerado como consumo excessivo (alto), conforme a Organização Mundial da Saúde – OMS, exceder certo volume diário (exemplo 3 doses por dia) ou determinadas quantidades por vez (exemplo 5 doses por ocasião, pelo menos uma vez por semana)¹⁰.

Quadro 4: frequência de micronúcleos de acordo com o consumo de bebida alcoólica.

Grupo	Média ± DP
P (n=13)	6,88±6,78
M (n=16)	3,97±3,07
A (n=3)	8,00±3,50
Total (n=32)	5,53±5,07

*DP: desvio padrão; P: pouco; M: médio; A: alto

DISCUSSÃO

O micronúcleo é uma das alterações nucleares mais estudadas nas avaliações de instabilidade genômica de células aos agentes genotóxicos, sua presença atua como medidor do grau de exposição⁹.

Bonassi et al.¹¹ mediante teste de micronúcleos em fumantes e não fumantes observaram que fumantes não mostram um aumento geral na frequência de micronúcleos quando comparado aos não fumantes.

Barbon et al.⁶ observaram que o álcool e o cigarro podem apresentar condições suficientes para o desenvolvimento de micronúcleos porém não apresentam as condições necessárias, pois os participantes que declararam não utilizar estas substâncias também apresentaram micronúcleos.

Corrêa et al.¹² na análise de micronúcleos em trabalhadores de sapataria, avaliando a influência do cigarro e álcool em grupos expostos aos produtos do trabalho e grupo controle, evidenciaram que ambos não causaram aumento de células com micronúcleos, nem entre os expostos e nem entre o controle.

Batista e Campos Júnior¹³, concluíram em sua pesquisa avaliativa de micronúcleos em fumantes e não fumantes que o grupo exposto, não apresentou uma correlação dose dependente em relação ao tabaco, notado que as anormalidades celulares variam em cada indivíduo, de acordo com fatores de sensibilidade.

Na pesquisa de Fernandes¹⁴, que analisou a frequência de micronúcleos em fumantes e não fumantes que utilizam colutório bucal constatou-se um ligeiro aumento do número de micronúcleos, comparando o grupo de fumantes com o grupo não fumante, porém esta diferença foi considerada estatisticamente não significativa.

Através da análise da frequência de micronúcleos em indivíduos fumantes, não fumantes e ex-fumantes, percebeu-se que o cigarro apresenta relação com a frequência de micronúcleos, mas os indivíduos que declararam não utilizar cigarro também apresentaram tal indicador, pelo fato de estarem expostos a outros agentes genotóxicos, corroborando com o resultado da pesquisa de Barbon et al.⁶ e Bonassi et al.¹¹, como pode ser observado no quadro 1. O percentual de micronúcleos encontrados no grupo fumantes foi de 0,30%, e de 0,26% tanto para o grupo fumantes quanto ex-fumantes. Além disso, não houve correlação nas análises feitas entre o número de cigarros e o tempo de exposição do fumante e a quantidade de micronúcleos, desta forma, tais dados não foram mostrados.

Os polimorfismos em genes de reparação de DNA integram uma série de fatores à susceptibilidade genética que influem no nível de alterações cromossômicas, por afetarem a reparação de várias lesões de DNA induzidas por agentes genotóxicos. Uma possível explicação é que a exposição à tais substâncias pode ter estimulado a expressão do DNA no intuito de reparar genes ou mecanismos de desintoxicação que também são importantes na atenuação dos efeitos de produtos químicos na fumaça do cigarro. Além disso, a presença de uma confusão residual devido a diferenças no efeito genotóxico de várias exposições podem ter sido responsável por esse resultado^{11,15}.

O percentual de micronúcleos em homens foi de 0,28% e em mulheres foi de 0,27%, não havendo diferença significativa na frequência. Na pesquisa de Ferraz¹⁶ também não foram observadas diferenças significativas na frequência de micronúcleos em homens e mulheres que se enquadravam na faixa etária utilizada no estudo.

Nota-se também que não houve diferença significativa entre a quantidade de bebida alcoólica consumida com a presença de micronúcleos, não interferindo assim na relação de micronúcleos com o uso cigarro. Apenas três indivíduos da pesquisa foram enquadrados dentro do grupo de consumo alto de bebidas alcoólicas. O percentual de micronúcleos por nível de bebida alcoólica foi de 0,3% para o nível pouco, 0,2% para o nível médio e 0,4% para o nível alto. Na pesquisa realizada por Bohrer et al.¹⁷ que analisaram células esfoliadas de três áreas da boca, apesar da presença de micronúcleos ter sido maior em indivíduos que faziam uso de bebidas alcoólicas a frequência destes não foi significativa.

CONCLUSÃO

Mediante realização deste estudo concluímos que não há correlação para a frequência de micronúcleos e a utilização do tabaco. A alteração nuclear está presente em todos os grupos analisados e, estatisticamente, a frequência não difere entre eles. Portanto, não há influência do cigarro na frequência de micronúcleos e essa não é maior em indivíduos fumantes.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar da Silva - INCA. **Programa nacional de controle do tabagismo**. 2013. Disponível em:

<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/nobrasil/programa-nacional-controle-tabagismo/tabagismo-passivo> Acesso em: 20 de setembro 2017.

2. Vigitel Brasil 2015: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2015. / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2016. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/publicacoes-svs> Acesso em: 25 de setembro 2017.

3. Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2016 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2017. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/publicacoes-svs> Acesso em: 25 de setembro 2017.

4. Costa Júnior, C. E. O. **CHUMBO-210 E FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS EM CÉLULAS ESFOLIATIVAS DA URINA DE FUMANTES E NÃO FUMANTES**. 2015. 139 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pósgraduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

5. Olivetti, R. F. **O TABAGISMO E SUAS CONSEQUÊNCIAS: UMA**

ABORDAGEM SOBRE A IMPORTÂNCIA DA ADOÇÃO DE HÁBITOS SAUDÁVEIS.

2012. 40 páginas. Monografia. Especialização em Ensino de Ciências -

Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2012.

6.Barbon, F. J. et al. Micronúcleos em Fumantes e Etilistas. **Journal Oral Investigations**, Passo Fundo/RS, v. 03, n. 01, p. 42-45, 2014.

7.Bonassi, S. et al., The Human Micronucleus project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol, **Journal Mutation Research**, 2011

8.Lucena, E. E. S. et al. Método de Coleta e a Qualidade do Esfregaço de Muco Oral. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial**, Camaragibe, v. 11, n. 2, p.55-62, 2012.

9.Martins, K. F.; Boschini Filho, J. Determinação da frequência de micronúcleos e outras alterações nucleares em células da mucosa bucal de indivíduos não-fumantes e fumantes. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, São Paulo, v. 05, n. 01, p.43-56, 2003.

10.Centro de Informação Sobre Saúde e Álcool - CISA - **Padrões de consumo do álcool**. 2014. Disponível em: <http://www.cisa.org.br/artigo/4405/padros-consumo-alcool.php> Acesso em: 08 de outubro 2017

11.Bonassi, S. et al. Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human MicroNucleus Project. **Journal Mutation Research**, 2003.

12.Corrêa, N. S. et al. Monitoramento da ação genotóxica em trabalhadores de sapatarias através do teste de micronúcleos, Pelotas, Rio Grande do Sul. **Revista Ciência e Saúde Coletiva**, Pelotas, v. 6, n. 14, p.2251-2260, 2009.

13.Batista, C. R.; Campos Júnior, E. O. AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE PACIENTES FUMANTES E NÃO FUMANTES POR MEIO DO TESTE DO MICRONÚCLEO. **Getec**, Uberlândia, v. 3, n. 6, p.49-58, 2014

14.Fernandes, E. E. **ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS FRENTE À UTILIZAÇÃO DE COLUTÓRIO BUCAL COM BASE ALCOÓLICA EM INDIVÍDUOS**

FUMANTES E NÃO FUMANTES. 2014. 47 f. TCC (Graduação) - Curso de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2014.

15.Ladeira, C. A. F. **BIOMARCADORES GENOTÓXICOS E POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM TRABALHADORES EXPOSTOS A FORMALDEÍDO.** 2009. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Molecular Humana, Universidade de Lisboa Faculdade de Ciências Departamento de Biologia, Lisboa, 2009.

16.Ferraz, G. A. et al. Effects of age on the frequency of micronuclei and degenerative nuclear abnormalities. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 19, n. 4, p.627-634, 2016.

17.Bohrer, D.D.S. et al. Assessment of micronucleus frequency in normal oral mucosa of patients exposed to carcinogens. **Acta Citologica**, v. 49, p. 265-272, 2005.

Anexo – Normas da Revista O Mundo da Saúde – ISSN: 19803990

Serão aceitos apenas:

- Artigos originais. Deve conter: introdução (apresentação de justificativa, objetivos e referenciais teóricos), metodologia (casuística e procedimentos), resultados, discussão e conclusão.
- A Revista O Mundo da Saúde não aceita: Artigo de Revisão; Relato de Experiência; Estudo de Caso; Comunicação.

Informações Complementares

- Artigo — deve ter até 30.000 caracteres com espaços, excluindo resumo, tabelas, gráficos, ilustrações e referências.
- Referências — devem limitar-se a 25 (vinte e cinco), salvaguardadas as devidas exceções.
- A partir de abril de 2017 serão aceitos apenas 07 autores por artigo.
- Formato: texto gravado em extensão doc ou docx, em fonte times new roman, corpo 12, espaçamento 1,5 e folha tamanho A4, com todas as margens de 2,0 cm.

Idioma

- Serão aceitos textos redigidos nos idiomas português, inglês e espanhol.

Tópicos do manuscrito

- Os tópicos a compor o manuscrito devem ser apresentados cada um deles em página própria, obedecendo à seguinte sequência: página de identificação, resumo e descritores, texto, tabelas, gráficos e quadros, agradecimentos, referências.

Página de identificação

a) título do artigo – completo, incorporando, se necessário, título complementar ou subtítulo, e conciso. Limite de 95 caracteres incluindo espaços.

b) nome de cada autor por extenso, sem abreviações.

c) qualificação de cada autor: graduação e titulação acadêmica (começando pela mais elevada).

d) vínculo institucional, incluindo o departamento/setor, cidade, estado e país.

e) endereço para correspondência e endereço eletrônico do autor responsável pelo manuscrito.

f) no caso de o pesquisador ter recebido auxílio, mencionar o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

g) no caso de o manuscrito resultar de tese, indicar o nome do autor, título, ano e instituição onde foi apresentada.

Conflitos de Interesse

- Todos os participantes no processo de publicação e avaliação por pares devem revelar as relações que possam ser consideradas potenciais conflitos de interesses. Os conflitos de interesse existem quando um autor (ou sua instituição), o parceiro ou editor tem vínculos de ordem financeira ou pessoal que influencia impropriamente suas ações.

Resumos e palavras-chave

- Resumo — estruturado em português e inglês (abstract) com no máximo 250 palavras, enunciando introdução, objetivo do estudo ou investigação, metodologia, resultados e discussão, conclusões mais importantes. Texto escrito sequencialmente sem a menção dos subtítulos.
- Palavras-chave — citação de três a cinco palavras-chave tendo como referência o Vocabulário Controlado em Ciências da Saúde — DeCS da BIREME ou, se em inglês, do Medical Subject Headings (MeSH).

Corpo do texto

- Tabelas, gráficos — devem ser incorporados ao manuscrito desde que com as citações de: título, fonte, ano e dados complementares, se houver, e numerados consecutivamente, com algarismos arábicos, segundo a ordem de citação no texto.
- Ilustrações — devem estar em alta resolução, com no mínimo 300 dpi.

a) se houver ilustração extraída de outro trabalho, previamente publicado, o autor deve solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução.

b) caso sejam utilizadas imagens de pessoas, só serão veiculadas se acompanhadas de permissão por escrito para divulgação.

- Abreviaturas e Símbolos — se houver, devem ser incorporados ao manuscrito de forma padronizada, seguidos das respectivas legendas.

Agradecimentos

- Ao final do manuscrito, podem ser mencionados os agradecimentos, destacando: as contribuições de profissionais por orientações técnicas e/ou apoio financeiro ou material, especificando a sua natureza. Os citados nos agradecimentos devem autorizar expressamente sua menção. Os autores devem se responsabilizar, mediante assinatura de termo específico, por essa autorização.

Referências

a) cada citação no texto deve ser indicada com um número sobrescrito.

b) as referências devem ser apresentadas segundo as “Orientações para publicação de referências em artigos científicos na área da saúde”, conforme a normalização de Vancouver.