

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

NATACHA MARTINS DA SILVA

**ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS OBSERVADAS EM
PACIENTES SUBMETIDOS A RADIOGRAFIAS
PERIAPICAIS E INTERPROXIMAIS**

BAURU
2012

NATACHA MARTINS DA SILVA

**ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS OBSERVADAS EM
PACIENTES SUBMETIDOS A RADIOGRAFIAS
PERIAPICAIS E INTERPROXIMAIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de cirurgião dentista sob orientação da Prof^a Dr^a Patrícia Pinto Saraiva.

BAURU
2012

Silva, Natacha Martins da

S5867a

Alterações citogenéticas observadas em pacientes submetidos a radiografias periapicais e interproximais / Natacha Martins da Silva -- 2012.

23f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Pinto Saraiva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Sagrado Coração - Bauru - SP

1. Citogenética. 2. Radiografias. 3. Periapicais. 4. Interproximais. I. Saraiva, Patrícia Pinto. II. Título.

NATACHA MARTINS DA SILVA

**ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS OBSERVADAS EM PACIENTES
SUBMETIDOS A RADIOGRAFIAS PERIAPICAIS E
INTERPROXIMAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Saúde da Universidade Sagrado coração de Jesus como parte dos requisitos para obtenção do título de cirurgião dentista sob orientação da Prof Dr^a Patrícia Pinto Saraiva.

Banca Examinadora:

Prof Dr^a Patrícia Pinto Saraiva
Universidade Sagrado Coração

Prof Dr^a Mariza Akemi Matsumoto
Universidade Sagrado Coração

Prof Ms Leandro de Andrade Holgado
Universidade Sagrado Coração

Bauru, 24 de Outubro de 2012.

Dedico meu trabalho aos meus pais e a toda
minha família que sempre me apoiaram nessa
empreitada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial a **Deus**.

Agradeço muito a minha professora orientada **Prof^a Dr^a Patrícia Pinto Saraiva**, que me apoiou a lutar pelos meus ideais e sempre esteve ao meu lado nas necessidades e ao meu **Prof Ms Rodrigo Vivan** que me auxiliou na execução do trabalho de conclusão de curso.

Agradeço aos demais **professores** que foram essenciais para a minha formação e para minha conquista do título de cirurgiã dentista.

Agradeço a minha **família**, principalmente aos meus **pais Magali e Nelson Júnior e meus irmãos: Naira, Nandra e Nelson Neto** que sempre me ajudaram a lutar por meu sonho e se esforçaram muito para nunca me faltar nada nesse momento.

Agradeço ao meu **namorado Evandro** pelo apoio moral e por ter me apoiado nos meus momentos de medo e desespero.

Agradeço aos meus **amigos**, que estiveram presentes nos bons e nos maus momentos, proporcionando-me alegrias e lágrimas que foram primordiais para chegar até aqui.

RESUMO

Os exames radiográficos proporcionam grande benefício ao exercício da Odontologia, porém o seu uso deve estar indicado mediante justificativa clínica, pois mesmo uma baixa dose de radiação é capaz de provocar efeitos biológicos deletérios e cumulativos nos tecidos humanos. Nosso objetivo foi verificar a ocorrência de alterações celulares, por meio da citotoxicidade sobre o epitélio da mucosa bucal. Foram avaliados 60 pacientes com indicação para a realização de radiografias periapicais e interproximais. Estes pacientes foram divididos em dois grupos: aqueles que realizaram uma única radiografia periapical e/ou interproximal em um dos lados (direito e/ou esquerdo) e aqueles que realizaram mais de uma radiografia por lado, em uma única sessão. As amostras de células foram colhidas imediatamente antes da exposição radiográfica e sete dias depois. As amostras foram processadas e analisadas a frequência de micronúcleos, cariólise, picnose e cariorrexe, indicadores de danos celulares. A frequência de micronúcleos observada no grupo que realizou apenas uma radiografia ($8,75 \pm 3,6/1000$ células) e o grupo que realizou várias ($5,24 \pm 1,25/1000$ células) não foi estatisticamente diferente ($p > 0,05$), mas os dois grupos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao controle ($1,85 \pm 0,74/1000$ células). Quando foram contabilizadas as outras alterações nucleares (cariólise, picnose e cariorrexe), o grupo com uma única radiografia ($41,8 \pm 19,2/1000$ células) foi semelhante ($p > 0,05$) ao grupo com mais de uma radiografia ($49,72 \pm 13,74/1000$ células), mas ambos foram estatisticamente maiores que o controle ($8,93 \pm 2,7/1000$ células). Estes resultados mostram que a formação de micronúcleos e outras alterações nucleares ocorrem independentemente do número de radiografias intrabucais a que o paciente é exposto.

Palavras-chave: Citogenética. Radiografias. Periapicais. Interproximais.

ABSTRACT

The X-ray examinations provide great benefit to the exercise of Dentistry, but its use must be indicated by clinical justification, because even a low dose of radiation can cause deleterious biological effects in human tissues and cumulative. Our objective was to verify the occurrence of cellular alterations, by cytotoxicity on the epithelium of the buccal mucosa. We evaluated 60 patients with indication for performing periapical and interproximal. These patients were divided into two groups: those who underwent a single periapical radiographs and / or interproximal on one side (right and / or left) and those who performed more than one radiograph per side in a single session. The cell samples were collected immediately before the radiographic exposure and seven days later. Samples were processed and analyzed the frequency of micronuclei, karyolysis, pyknosis and karyorrhexis, indicators of cell damage. The frequency of micronuclei observed in the group that performed only a radiograph ($8.75 \pm 3.6 / 1,000$ cells) and the group that made several ($5.24 \pm 1.25 / 1,000$ cells) was not statistically different ($p > 0, 05$), but the two groups differ significantly ($p < 0.05$) compared to control ($1.85 \pm 0.74 / 1,000$ cells). When they counted the other nuclear changes (karyolysis, and karyorrhexis picnoce), the group with a single radiography ($41.8 \pm 19.2 / 1,000$ cells) was similar ($p > 0.05$) to the group with more than one radiograph ($49.72 \pm 13.74 / 1,000$ cells), but both were statistically higher than the control ($8.93 \pm 2.7 / 1,000$ cells). These results show that the micronucleus and other nuclear changes occur regardless of the number of intraoral radiographs that the patient is exposed.

Keywords: Cytogenetics. Radiographs. Periapical. Interproximal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Presença de micronúcleo (seta), em célula analisada.	14
Figura 2 - Células apresentando padrões de cariólise, cariorrexe e picnose, característicos de citotoxicidade.....	15
Figura 3 - Frequência de micronúcleos nos diferentes grupos estudados. * $p < 0,05$	16
Figura 4 - Frequência das demais alterações nucleares estudadas (cariólise, cariorrexe e cariólise) nos grupos estudados. * $p < 0,05$).....	17

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	JUSTIFICATIVA	11
3	OBJETIVOS	12
3.1	OBJETIVO GERAL	12
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
4	PACIENTES E MÉTODOS	13
4.1	PACIENTES.....	13
4.2	COLETA DE CÉLULAS DA MUCOSA BUCAL.....	13
4.3	TESTE DO MICRONÚCLEO	14
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	15
5	RESULTADOS	16
6	DISCUSSÃO	18
7	CONCLUSÃO	20
	REFERÊNCIAS	21
	APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO	23
	ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	24

1 INTRODUÇÃO

O uso de radiografias como ferramenta para auxiliar no diagnóstico tornou-se uma rotina indispensável na Medicina e na Odontologia. A presença e extensão de muitas lesões patológicas somente podem ser avaliadas por meio deste exame. Em várias situações, o uso de radiografias também é essencial durante a preservação do tratamento. (VAN DER STELT, 2000).

Os exames radiográficos proporcionam grande benefício ao exercício da Odontologia, porém o seu uso deve estar indicado mediante justificativa clínica, pois mesmo uma baixa dose de radiação, como a recebida pelo paciente durante a obtenção da panorâmica, é capaz de provocar efeitos biológicos deletérios e cumulativos nos tecidos humanos. (PAGNONCELLI; OLIVEIRA, 1999).

A radiação provoca efeitos deletérios ao organismo, independentemente da quantidade de exposição. Uma pequena quantidade de radiação não será suficiente para provocar uma manifestação clínica ou genética, mas certamente provocará uma reação celular com quebra e desorganização de moléculas. (FREITAS et al., 1988; FREITAS, 1992; GIBILISCO, 1986; GOAZ; WHITE, 1995).

Não se conhecem, com precisão, os efeitos biológicos da radiação para pequenas doses tanto para desenvolver uma lesão (nível somático), como para provocar mutação (nível genético). Em nível somático, ocorre destruição de tecidos em que a radiosensibilidade é maior, como o tecido vascular, sexual e oftálmico. Em nível genético, as mutações ocorrem por quebras de cromossomos que contém os genes, ocorrendo reorganização aleatória e alterando o padrão hereditário. (ALVAREZ; TAVANO, 1987; FREITAS et al., 1988; FREITAS, 1992; GIBILISCO, 1986; GOAZ ; WHITE5, 1995).

A exposição precoce e sucessiva à radiação pode aumentar a possibilidade de alterações celulares num indivíduo, causando maior risco para o desenvolvimento de câncer. Alterações genéticas como formações de micronúcleos e aberrações nucleares são efeitos biológicos iniciais da carcinogênese. (POPOVA et al., 2007). O conhecimento dos fatores que causam essas alterações e dos efeitos dos agentes carcinogênicos favorece a prevenção ao câncer.

O estudo da frequência de micronúcleos tem sido utilizado para verificar efeitos genotóxicos em tecidos humanos, assim como o grau de exposição e a extensão do dano que um agente ambiental provocou no DNA. Funciona como um biomarcador, o qual indica a suscetibilidade do paciente ao desenvolvimento do câncer. Os micronúcleos são fragmentos

de cromossomos ou cromossomos inteiros que foram perdidos durante a mitose celular devido a um evento clastogênico (que provoca quebra cromossômica) ou aneugênico (que interfere no fuso mitótico). Os raios X são agentes clastogênicos e induzem a formação de micronúcleos, além de outras alterações nucleares. (RIBEIRO et al., 2008).

Underhill et al. (1988) avaliaram e compararam os riscos biológicos proporcionados por técnicas radiográficas diferentes, e mostraram que as técnicas intra-bucais, sem o uso de colimador, permitem a absorção de cerca de 2 a 5% da quantidade de radiação pela medula óssea.

A exposição aos raios X produz citotoxicidade e genotoxicidade nas células epiteliais da mucosa oral (CERQUEIRA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2008). Estudos sobre os efeitos genotóxicos induzidos por raios X são importantes para identificar o grau de risco ao câncer que um indivíduo apresenta.

Como a incidência do câncer de boca encontra-se entre aquelas mais proeminentes atualmente, sendo o sétimo tipo de câncer mais frequente (INCA, 2010), a detecção de grupos de maior probabilidade de seu desenvolvimento se faz necessária. A utilização de técnicas simples como a análise de micronúcleo possibilita a detecção de alterações celulares precocemente, evitando-se assim, um aumento na incidência do câncer bucal. Além disso, o teste de micronúcleos tem sua especificidade aumentada ao serem registradas alterações celulares degenerativas indicativas de morte celular como picnose, cariorréxe e cariólise. (WILLIE, 1985).

Nosso objetivo foi verificar a ocorrência de alterações celulares, por meio da citotoxicidade sobre o epitélio da mucosa bucal, em pacientes das Clínicas de Odontologia da Universidade Sagrado Coração, em Bauru, submetidos a radiografias periapicais e interproximais.

2 JUSTIFICATIVA

Uma vez que a incidência de tumores orais está aumentando na cavidade oral, principalmente o tumor maligno carcinoma espinocelular, são necessárias aplicações de metodologias mais específicas, utilizando os sistemas de testes *in vivo*, para o precoce diagnóstico do câncer bucal. Além disso, até o presente momento, existem poucos estudos que revelam as consequências da exposição aos raios X, em radiografias periapicais e interproximais.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar possíveis danos no DNA e morte celular, indicativos da fase de iniciação tumoral, promovidos por exposição aos raios X durante a realização de radiografias periapicais e interproximais, por meio do teste do micronúcleo *in vivo*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os seguintes parâmetros, para verificação dos danos ao DNA e morte celular:

1. Mutagenicidade, em células do epitélio bucal, a partir da frequência de células micronucleadas;
2. Citotoxicidade, em células da mucosa bucal, a partir da frequência de cariólise, cariorrexe e picnose nos esfoliados bucais.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 PACIENTES

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Sagrado Coração, sob nº036/11.

Foram selecionados 60 pacientes, com idade entre 18 e 65 anos com indicação para a realização de radiografias periapicais e interproximais, sendo 36 mulheres e 24 homens e esses tinham a média de idade dos 35 anos. Estes pacientes foram divididos em três grupos:

1. Grupo I – 20 pacientes submetidos a uma única exposição radiográfica periapical ou interproximal, em um dos lados da arcada dentária (direito ou esquerdo);
2. Grupo II – 20 pacientes submetidos a mais de uma exposição radiográfica periapical ou interproximal, desde que estas exposições ocorram no mesmo lado (direito ou esquerdo), padronizada com duas exposições.
3. Grupo controle – 20 pacientes que não foram submetidos a incidência radiográfica.

A coleta das células foi realizada em duas etapas:

- a) imediatamente antes,
- b) sete dias após a obtenção da(s) radiografia(s) periapicais e/ou interproximais. O período de sete dias foi escolhido, por encontrar-se dentro do ciclo de *turnover* celular, que ocorre em até 21 dias e também por ser o tempo decorrente do retorno dos pacientes.

Para pertencer aos grupos da pesquisa, os pacientes deveriam apresentar as seguintes características:

- ausência de processos de natureza neoplásica;
- não ter sido submetido a radiografias da região de cabeça e pescoço nos últimos 15 dias;
- não estar ingerindo drogas com finalidade terapêutica diariamente;
- não ser portador de doenças de natureza auto-imune;
- não estar sendo submetido a procedimentos de radio ou quimioterapia.

4.2 COLETA DE CÉLULAS DA MUCOSA BUCAL

Em todos os grupos foram coletadas amostras de células da mucosa bucal, mas especificadamente na mucosa jugal, com o auxílio de um *microbrush*. A seguir, o material obtido foi acondicionado em um tubo contendo soro fisiológico (NaCl à 0,9%), e fixado com solução de metanol: ácido acético (3:1). Antes da coleta, os pacientes realizaram um bochecho com soro fisiológico (EREN *et al.*, 2002). Em todos os casos, foi realizada uma anamnese a fim de coletar informações sobre o estado de saúde do paciente, além da coleta de informações gerais, como: idade, sexo, tabagismo e etilismo. A coleta dessas informações foi feita por meio de formulário próprio (Apêndice I). Antes de qualquer procedimento, os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, autorizando sua participação na pesquisa.

4.3 TESTE DO MICRONÚCLEO

As células coletadas e adicionadas ao meio de fixação foram dispostas cuidadosamente sobre as lâminas histológicas de vidro. As lâminas foram deixadas secar em temperatura ambiente e após secas foram coradas pela técnica Feulgen-Rossenbeck modificada (FEULGEN; ROSSEMBECK, 1924) seguindo os seguintes passos:

- 1) mergulhadas em uma solução de ácido clorídrico 5M por 30 minutos em temperatura ambiente;
- 2) enxaguadas com água destilada por 10-15 minutos;
- 3) mergulhadas no corante de Schiff por 1 hora e 30 minutos;
- 4) enxaguadas com água corrente por cinco minutos;
- 5) contra coradas com Fast Green 1% por um minuto;
- 6) enxaguadas em água corrente para remover possíveis excessos de contra corante;
- 7) montagem das lâminas com a colocação das lamínulas.

Por lâmina será analisada um total de 1000 células para a determinação da frequência do micronúcleo (Fig.1), cariólise, cariorrexe e picnose (parâmetros de citotoxicidade) utilizando o aumento de 100 vezes no microscópio. (Fig.2).

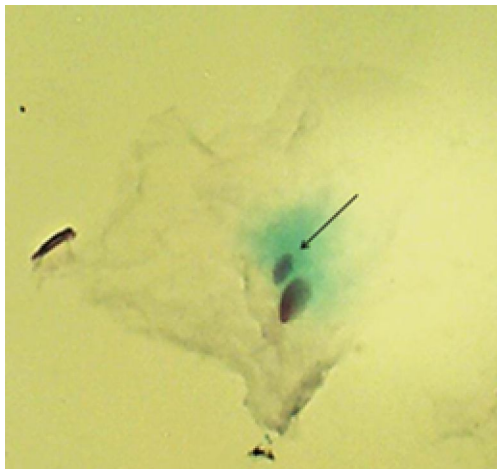
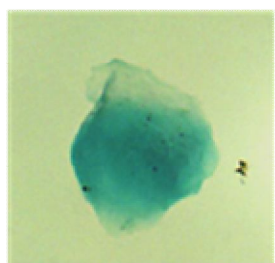
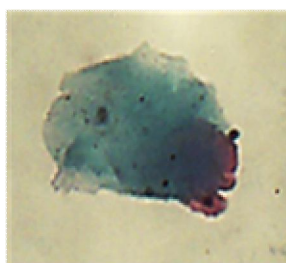


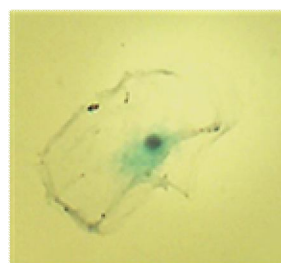
Figura 1 – Presença de micronúcleo (seta), em célula analisada.
Fonte: Elaborado pela autora.



Kariólise



Kariorrexe



Picnose

Figura 2 – Células apresentando padrões de kariólise, kariorrexe e picnose, característicos de citotoxicidade.

Fonte: Elaborado pela autora.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes ao teste do micronúcleo e das demais alterações nucleares foram submetidos ao teste do qui-quadrado para se avaliar as frequências de células afetadas. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5 RESULTADOS

A análise da quantificação de micronúcleos nos esfregaços de células da mucosa bucal foi realizada comparando-se os grupos estudados (Fig. 3). Ao se comparar os pacientes submetidos a uma única radiografia (GI) com o Grupo controle (C), foi constatada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$), sendo que a quantidade de micronúcleos apresentada pelos pacientes do grupo que realizou única radiografia ($8,75 \pm 3,6/1000$ células) foi maior que nos pacientes controle ($1,85 \pm 0,74/1000$ células).

Na comparação do grupo que realizou mais de uma radiografia ($5,24 \pm 1,25/1000$ células) com o grupo controle ($1,85 \pm 0,74/1000$ células) houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$). Entre os grupos de uma única radiografia ($8,75 \pm 3,6/1000$ células) e o grupo de várias radiografias ($5,24 \pm 1,25/1000$ células) não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

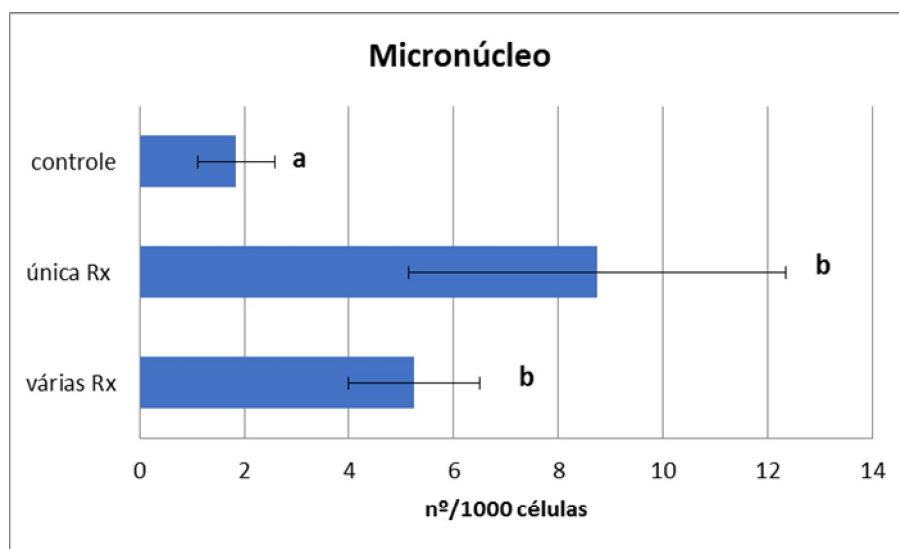


Figura 3 - Frequência de micronúcleos nos diferentes grupos estudados. Letras diferentes mostram diferença estatisticamente significativa $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora.

A análise das demais alterações nucleares presentes (picnose, cariólise e cariorrexe) também foi realizada por meio de comparação entre os grupos estudados (Fig. 4). Entre os grupos de pacientes que realizaram somente uma radiografia ($41,8 \pm 19,2/1000$ células) e o grupo controle ($8,93 \pm 2,7/1000$ células), também apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), sendo maior no grupo que realizou a radiografia única.

Também entre os grupos que realizou várias radiografias ($49,72 \pm 13,74/1000$ células) e o controle ($8,93 \pm 2,7/1000$ células) foi encontrada diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Já entre o grupo de radiografia única ($41,8 \pm 19,2/1000$ células) e de várias radiografias ($49,72 \pm 13,74/1000$ células) não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

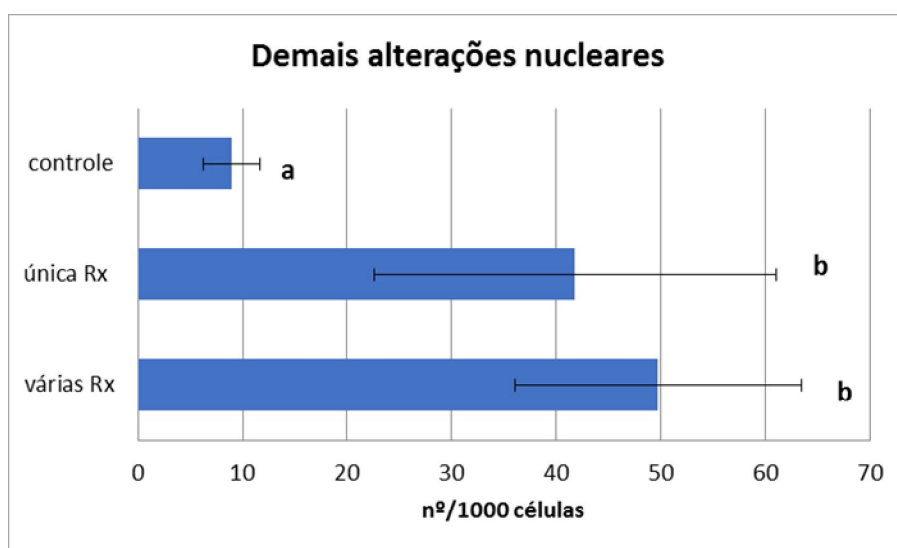


Figura 4 – Frequência das demais alterações nucleares estudadas (cariólise, cariorrexe e cariólise) nos grupos estudados. Letras diferentes mostram diferença estatisticamente significativa $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora.

6 DISCUSSÃO

Durante a vida, vários são os fatores internos e externos aos qual o organismo fica exposto. Substâncias endógenas ou exógenas associadas a fatores genéticos podem agir sobre células normais e induzir o aparecimento de mutações que afetam os genes envolvidos no controle da diferenciação e proliferação celular ou no reparo do DNA, estabelecendo relação com o desenvolvimento de tumores. Um dos fatores que pode gerar a produção de danos ao material genético é a exposição aos raios-x, que ocorre durante uma tomada radiográfica.

As alterações nas células esfoliadas da mucosa bucal são bons indicadores de dano ao cromossoma. O teste de frequência de micronúcleos (MNs) é o ensaio, *in vivo*, mais amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos e aneugênicos (THOMAS et al., 2009). Este é um método simples, rápido e fácil de ser realizado, que possibilita a obtenção de ótimos resultados. Por estes motivos, foi o teste escolhido para essa avaliação.

Os micronúcleos que são detectados nas células da mucosa bucal refletem eventos genotóxicos que ocorrem nas células basais, e esses eventos podem ser observados em células epiteliais esfoliadas após período que varia de 1 a 3 semanas (CELIK et al., 2003). Neste trabalho realizou-se uma coleta anterior à emissão da radiação e outra coleta uma semana após a tomada radiográfica, obedecendo ao período em que as alterações passam a ser evidenciadas, período este que corresponde a migração da célula afetada, da camada basal à camada superficial do epitélio.

No presente estudo, seguindo o protocolo de Tolbert et al. (1992), além da quantificação dos micronúcleos, foram quantificados os números de células em cariorrexe, cariólise e picnose, reunidas em um só grupo, rotuladas como outras alterações nucleares. A inclusão das outras alterações nucleares é devido ao fato dessas também refletirem eventos que podem estar ligados a carcinogênese, uma vez que as alterações citotóxicas podem promover neoplasia via proliferação celular assim como indução a apoptose pelo dano ao material genético (INCA 2011).

Raios-X induzem a formação de micronúcleos e acredita-se que o DNA é seu alvo principal na célula e, por conseguinte, é um cenário plausível que raios-X induzam a formação de micronúcleos a partir da fragmentação de cromossomos (AZZAM et al., 1994). Estudos demonstraram que o número de micronúcleos induzidos por radiação está fortemente correlacionado com a dose de radiação e depende da qualidade de radiação (WILLEMS, 2010). Não se encontrou, na literatura, trabalho prévio que verifique se a realização de uma ou

várias radiografias em um lado da face (direito ou esquerdo) tem influência sobre o número de alterações genéticas que ocorrem.

Neste trabalho encontrou-se que a exposição a uma única ou a várias radiografias em um único lado da face causam o aparecimento de micronúcleos, independentemente da quantidade de raios-X que o paciente realizou. Estes resultados são contrários àqueles encontrados por POPOVA et al. (2007), que mostrou que a exposição a baixas doses de radiação, como a emitida durante a obtenção da radiografia panorâmica, causam citotoxicidade em tecidos da mucosa oral, mas não causam aumento na frequência de micronúcleos, embora os tipos de radiografias utilizadas tenham sido diferentes.

Além da formação de micronúcleos, mostramos neste trabalho, que a realização de uma ou várias radiografias provoca os diferentes tipos de alterações nucleares estudadas (cariólise, cariorrexe e picnose). Também se pode verificar que não houve diferença entre a exposição a uma única ou várias radiografias, o que também é contrário ao estudo de HE et al. (2000). Estes autores verificaram que a formação de micronúcleos é dose dependente e varia conforme o tipo de radiação utilizada e a radiosensibilidade do tecido envolvido. Entretanto, baixas doses de radiação X são capazes de induzir quebra de DNA, mas não resultam necessariamente em micronúcleos.

Os exames radiográficos proporcionam grande benefício ao exercício da Odontologia, porém o seu uso deve estar indicado mediante justificativa clínica, pois mesmo uma baixa dose de radiação, como a recebida pelo paciente durante a obtenção da panorâmica ou radiografias intrabucais, é capaz de provocar efeitos biológicos deletérios e cumulativos nos tecidos humanos.

Portanto, o teste do micronúcleo é uma ferramenta de avaliação valiosa que precisa ainda ser validada e padronizada para que possa ser adotada amplamente na investigação dos danos ao genoma humano.

7 CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos pode-se concluir que:

A técnica de micronúcleos foi capaz de detectar, na região de mucosa jugal, um aumento de células com micronúcleos e células com outras alterações nucleares, tanto nos pacientes que realizaram uma única radiografia, como naqueles que realizaram várias radiografias intrabucais em uma mesma consulta quando comparada ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

ALVARES, L. C.; TAVANO, O. **Curso de radiologia em odontologia**. 1. ed. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 1987.

AZZAM, E. I.; RAAPHORST, G. P.; MITCHEL, R. E. J. Radiation-induced adaptive response for protection against micronucleus formation and neoplastic transformation in C3H 10T1/2 mouse embryo cells. **Radiation Research**, Lawrence, v. 138, n. 1, p. S28–31, apr. 1994. Disponível em: <xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx >. Acesso em: 11 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Câncer de Boca. **INCA**, 2010. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=2>. Acesso em: 13 abr. 2011.

CELIK. A, CAVAS. T., ERGENE-GÖZÜKARA S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. **Mutagenesis**. 2003 Sep;18(5):417-21.

CERQUEIRA, E. M. M. et al. Genotoxic effects of X-rays on keratinized mucosa cells during panoramic dental radiography. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 37, p. 398-403, 2008.

EREN K; OZMERIC N; SARDAS, S. Monitoring of buccal epithelial cells by alkaline comet assay (single cell gel electrophoresis technique) in cytogenetic evaluation of chlorhexidine. **Clin Oral Investig**, v. 6, p. 150-4, 2002.

FEULGEN R.; ROSSENBECK, H. Mikroskopisch chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der thymonucleinsäure und die darauf bestehende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparate. **Z Physiol Chem**, v. 135, p. 203-48, 1924.

FREITAS, A.; ROSA, J. E.; SOUZA, I. F. **Radiologia Odontológica**. 2. ed. São Paulo: Editora Artes Médicas, 1988.

FREITAS, L. **Radiologia bucal: técnica e interpretação**. 1. ed. São Paulo: Pancast, 1992.

GIBILISCO, J. A. **Diagnóstico radiográfico bucal de stafne**. 5. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1986.

GOAZ, P. W.; WHITE, S. C. **Radiologia oral: princípios e Interpretacion**. 3. ed. Madrid: Mosby/Doyma Libros, 1995; 1. ed. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 1987.

HEJ., CHEN. W, JIN. L., JIN. H. Comet assay and cytokinesis-blocked micronucleus test for monitoring the genotoxic effects of X-ray radiation in humans. **Chin Med J (Engl)**. 2000 Oct;113(10):911-4.

PAGNONCELLI S, D.; OLIVEIRA, F. A. M. A utilização da radiografia panorâmica como uma opção de diagnóstico radiográfico inicial em Odontopediatria. **J Bras Odontopediatria & Odontologia do Bebê**, v. 2, p. 186-99, 1999.

POPOVA, L; KISHKILOVA, D; HADJIDEKOVA, V. B.; HRISTOVA, R. P.; ATANASOVA, P; HADJIDEKOVA, V. V. et al. Micronucleous test in buccal epithelium cells from patients subjected to panoramic radiography. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 36, p.168-71, 2007.

RIBEIRO D. A. et al. Cytogenetic biomonitoring in patients exposed to dental X-rays: comparison between adults and children. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 37, p. 404-7, 2008.

THOMAS. P., HOLLAND. N., BOLOGNESI C, KIRSCH-VOLDERS. M, BONASSI. S., ZEIGER E., KNASMUELLER S, FENECH M. Buccal micronucleus cytome assay. **Nat Protoc**. 2009;4(6):825-37.

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.

UNDERHILL, T. E. et al. Radiobiologic risk estimation for dental radiology. Part I. Absorbed doses to critical organs. **Oral Surg Oral Med Pathol**, v. 66, p. 111-20, 1988.

VAN DER STELT, P.F. Principles of digital imaging. **Dent Clin N Amer**, v. 44, p. 237-48, 2000.

WILLEMS, P. et al. Automated micronucleus (MN) scoring for population triage in case of large radiation events. **Int. J. Radiat. Biol.**, v. 86, p. 2-11, 2010.

WYLLIE, A. H. The biology of cell death in tumors. **Anticancer Res.**, n. 5, p. 131-142, 1985.

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO

Anamnese

Paciente:.....

Nº prontuário:.....

Idade:.....

1. Durante os últimos 2 anos recebeu algum tratamento médico?_____
2. Toma medicamentos?_____ Quais?_____
3. Tem alergia a algum medicamento ou anestésico?_____
4. Você fuma?_____ Quantos cigarros/dia?_____
5. Toma bebidas alcoólicas frequentemente?_____
6. Tem ou teve alguma das doenças abaixo:
 - Problemas cardíacos?_____ - Pressão alta?_____ - Anemia?_____
 - Hepatite?_____ - Diabetes?_____ -
 - Epilepsia?_____
 - Febre reumática?_____ - Icterícia?_____ - Reumatismo?_____
 - Problemas nervosos?_____ - Hepático?_____ - Renal?_____
 - Respiratório?_____ - Tuberculose?_____ - Depressão?_____
 - HIV?_____ - Outras?_____

Declaro que as informações prestadas acima são verdadeiras.

Data: Bauru ____/____/____.

Assinatura do paciente ou responsável

ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PRPPG
Pró-reitoria
de Pesquisa e
Pós-graduação

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**CERTIFICADO**

Baseado em parecer competente este Comitê de Ética em Pesquisa analisou o Projeto “*ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS OBSERVADAS EM PACIENTES SUBMETIDOS A RADIOGRAFIAS PERIAPICAIS E INTERPROXIMAIS*”, Protocolo nº 036/11, tendo como responsável o Pesquisador **PATRÍCIA PINTO SARIVA** e o considerou **APROVADO**.

Bauru, 28 de abril de 2011.



Prof. Dr. Marcos da Cunha Lopes Virmond
Presidente Comitê de Ética em Pesquisa – USC