

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
ODONTOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA
MUCOSA BUCAL EM PACIENTES EXPOSTOS AO
CRACK – ESTUDO TRANSVERSAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EVA CASTRO TORRIANI

SANTA MARIA, RS, BRASIL

2013

**AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA MUCOSA
BUCAL EM PACIENTES EXPOSTOS AO CRACK – ESTUDO
TRANSVERSAL**

EVA CASTRO TORRIANI

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Patologia Bucal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Odontológicas**.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Sant’Ana Filho

SANTA MARIA, RS, BRASIL

2013

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA MUCOSA BUCAL
EM PACIENTES EXPOSTOS AO CRACK – ESTUDO TRANSVERSAL**

elaborada por
Eva Castro Torriani

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Odontológicas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Manoel Sant’Ana Filho, Dr. (UFRGS)
(Presidente/Orientador)

Fabício Zanatta, Dr. (UFSM)
(Membro)

Raquel Rocha, Dr^a. (UFSM)
(Membro)

Santa Maria, 05 de fevereiro de 2013.

“E você aprende que realmente pode suportar... que realmente é forte e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida! Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o bem que poderíamos conquistar se não fosse o medo de tentar.”

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não me deixar só em nenhum momento, por me amparar nos momentos difíceis e pela vida maravilhosa que tenho. Obrigada.

Aos meus pais, **Raimundo e Risalva** que sempre me apoiaram e acreditaram em mim. Agradeço pelos conceitos de amor ao próximo, humildade e simplicidade que vocês ensinaram de maneira tão humana. Amo muito vocês.

Ao meu irmão **Israel**, de quem me orgulha profundamente pela sua total solidariedade e amor com o próximo. Exemplo de vida. Obrigada por me acalantar nos momentos mais difíceis, sem você não teria conseguido. Eu te amo.

Ao Meu marido, **Luciano**, a quem me ajudou desde a aprovação do vestibular, passando pela especialização até chegar aqui. Não tenho palavras para dizer o quanto és importante na minha vida. Obrigada, pela tranquilidade que me passou durante todos esses anos, para que eu pudesse desenvolver meu trabalho da melhor forma. Obrigada pela admiração que tem por mim. Obrigada pelo nosso filho e pelas inúmeras vezes que ficou com ele para que eu pudesse trabalhar e concluir mais uma etapa. Obrigada, obrigada, obrigada. Você é tudo pra mim. Eu te amo.

Ao meu filho, **Benício**, que esteve comigo em parte dessa jornada e que me fez seguir com mais entusiasmo. Filho, tu és minha vida.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho**, o qual teve a paciência de me ensinar nesses dois anos e meio de trabalho. Poucas pessoas levam seu trabalho tão a sério como o professor Manoel. A dedicação e responsabilidade com a patologia é admirável. Soube me ensinar a aprender de forma genuína. Atrás da aparência séria se esconde um coração grande, que ama o que faz. Obrigada pela oportunidade de conviver e aprender contigo.

Ao meu co-orientador **Prof. Dr. Vinícius Carrard**, que dedicou grande parte do seu tempo para me ajudar nesse trabalho. Vini, gostaria de te agradecer

profundamente pela forma como me ensinou, por sempre estar disponível para me ajudar. Obrigada por me receber sempre de forma tão tranqüila e bem humorada. Você me encorajou em muitos momentos. Sem a sua ajuda, não teria conseguido. Admiro-te muito pela sua dedicação e humildade. Obrigada.

A todos os **participantes** dessa pesquisa, que superaram o constrangimento e a insegurança e fizeram possível a realização desse trabalho.

À **Prof. Dra. Juliana Praetzel**, exemplo de profissional e conselheira em muitos momentos. Sou eternamente grata por me acolher e me ajudar a dar meus primeiros passos como profissional e agora como mestre. Ju, você fez grande diferença na minha vida. Obrigada pelos ensinamentos.

À **Prof. Dra. Rachel Rocha**, que sempre se mostrou solícita nos momentos que a procurei para pedir ajuda. Sinto que posso contar sempre contigo. Obrigada.

Aos professores da disciplina de patologia bucal da UFRGS; **Manoel Sant'Ana Filho, Vinícius Carrard, Pantelis Rados, Manoela Martins, Márcia de Oliveira, Laura Hildebrand e Fernanda Visioli**, pelo acolhimento. Em nenhum lugar que eu trabalhei pude observar o verdadeiro sentido da palavra EQUIPE. Vocês, dentro da hierarquia que vos cabe, sabem trabalhar perfeitamente em equipe, mostrando a real importância de cada profissional. Isso é de fundamental importância para que o desenvolvimento e aprendizado do aluno não se dêem de forma fragmentada como ocorre de costume. Foi um grande privilégio poder conhecer e conviver com vocês por esses anos. Obrigada.

As técnicas do laboratório de patologia bucal da UFRGS; **Alessandra, Chris e Isa**, pelo envolvimento com o meu trabalho. Vocês me fizeram sentir importante. Vibrando desde a aprovação do meu projeto. Obrigada pela paciência no laboratório e pelo interesse e dedicação com o meu projeto.

Aos meus colegas da UFRGS; **Bruna, Viviane, Thaíse, Arthur, Ana Carolina, Carol e Bernardo** que me receberam da melhor forma. Obrigada pelo acolhimento, pelo aprendizado, pela convivência. Muito obrigada de coração.

Aos meus colegas da UFSM; **Grabriela Ruat, Felipe Degrazia, Márcia Galetto, Otávio Dias, Patrícia Machado, Rafaela Correia e Thiene Kaefner** por fazerem essa jornada mais leve e alegre. Foi maravilhoso conhecer e conviver com vocês. Obrigada.

À **Jessica Dalcin**, secretária da PPGCO/UFSM, pelo exemplo de profissional dedicada, atenciosa, incansável. Jessica, em muitos momentos, precisei de você e fui correspondida com muito profissionalismo e carinho. Obrigada pela sua atenção, pela sua destreza em solucionar os problemas de forma calma e rápida.

À **Sandra Padoin**, babá do meu filho Benício que se tornou amiga e em muitos momentos conselheira. Sandra, obrigada pela forma carinhosa com que cuidou do meu filho o tempo que estive fora. Obrigada pela tranquilidade que me passou para que eu pudesse finalizar meu trabalho da melhor forma possível. Você foi fundamental nessa jornada. Serei sempre grata pela sua sempre disponibilidade e atenção. Obrigada.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA MUCOSA BUCAL EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS AO CRACK

Autora: Eva Castro Torriani
Orientador: Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho
Data e local da defesa: 05 de fevereiro de 2013

OBJETIVO: Comparar a taxa de proliferação celular de dois sítios da mucosa bucal (língua e assoalho) de indivíduos expostos ao crack, e/ou cocaína com a de indivíduos não expostos a droga.

METODOLOGIA: A amostra foi composta de 71 indivíduos divididos em: Grupo Controle (GC): 25 indivíduos que não fumavam e não consumiam droga ilícita; Grupo Crack (GCR): 18 indivíduos, que consumiam crack diariamente ou quase todos os dias; Grupo Cocaína (GCO): 12 indivíduos que cheiravam cocaína diariamente ou quase diariamente; Grupo Crack-Cocaína (GCRO): 16 indivíduos que consumiam diariamente ou quase diariamente crack e cocaína. Todos os indivíduos dos grupos GCR, GCO e GCRO fumavam tabaco, maconha e ingeriam bebida alcoólica diariamente. Uma entrevista foi realizada para coletar dados de identificação, demográficos, sócio-econômico, condição bucal (e o questionários ASSIST foi aplicado para avaliar o) nível de exposição à droga. Realizaram-se esfregaços citológicos em borda de língua e de assoalho bucal, os quais foram submetidos à técnica de impregnação pela prata para avaliar a taxa de proliferação celular através da quantificação da média e do percentual de AgNORs/núcleo. As medidas foram comparadas pelo teste de Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste de Kruskal-Wallis, seguidos, respectivamente, pelos testes de comparações múltiplas de Tukey e Dunn no nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS: Foi verificado aumento da taxa de proliferação das células esfoliadas da borda de língua para $pAgNOR > 2$ nos grupos GCR e GCO ($p = 0,02$). No sítio, assoalho bucal, não houve diferença significativa entre o GC e os demais grupos ($p = 0,48$).

CONCLUSÕES: A borda de língua é um sítio mais suscetível a exposição a drogas, porém em função desses indivíduos se exporem a diferentes tipos de agentes externos, não se pode afirmar que o crack, de forma isolada, seja o responsável pelo aumento na taxa de proliferação celular no GCR. Dentre as dificuldades em se estudar o efeito do crack na boca estão; a variedade da composição química da droga (componentes e quantidade), a combinação de outras drogas e a variabilidade individual do número de AgNORs/núcleo.

Palavras-chave: proliferação celular; crack; mucosa bucal; cocaína.

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Post Graduate Program InDental Science
Federal University of Santa Maria

EVALUATION OF ORAL MUCOSAL CELL PROLIFERATION IN PATIENTS EXPOSED TO CRACK

Author: Eva Castro Torriani
Supervisor: Manoel Sant'Ana Filho
Date and place of defense: Santa Maria, Jan 23th, 2013.

AIM: To compare the rate of cell proliferation in two sites of the oral mucosa (tongue and floor) of patients exposed to crack cocaine and patients not exposed to drug.

METHODS: The sample consisted of 71 individuals divided into control group (GC): 25 subjects who did not smoke and did not consume illicit drug, with 21 men and 4 women; Group Crack (GCR): 18 subjects who consumed daily or crack almost every day, 14 men and 4 women; Cocaine Group (GCO): 12 subjects who sniffed cocaine daily or almost daily, 7 men and 5 women; Group Crack-Cocaine (GCRO): 16 subjects who drank daily or almost daily crack cocaine, 12 men and 4 women. An interview was conducted to collect data identification, demographic, socio-economic status, oral health status and level of exposure to the drug. There were cytological smears edge of tongue and floor of the mouth, which were submitted to silver impregnation technique for quantifying the average and the percentage of AgNORs/nucleus. Measurements were compared by analysis of variance (ANOVA) and the Kruskal-Wallis, followed, respectively, by testing multiple comparisons Tukey and Mann Whitney test at a significance level $p > 0,05$.

RESULTS: Increased proliferation rate of the cells exfoliated from de edge of tongue $p_{AgNOR} > 2$ groups GCR and GCRO. At the site, floor of the mouth, there was no significant difference between the GC and the other groups.

CONCLUSION: The edge of the tongue is a site more susceptible to drug exposure, but depending on these individuals being exposed to different types of external agents, can not be said that crack, in isolation, is responsible for the increased rate of cell proliferation the GCR. Among the difficulties in studying the effect of crack mouth are, the variety of the chemical composition of the drug (components and quantity), the combination of other drugs and the individual variability in the number of AgNORs / nucleus.

Key Words: cell proliferation; crack cocaine; oral mucosa, cocaine.

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Ficha para triagem de álcool, tabaco, crack e outras substâncias (ASSIST OMS)	44
Anexo B – Técnica citoquímica de AgNOR	46
Anexo C – Carta de aprovação do Comitê de Ética	47

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 – Ficha para cadastramento de pacientes	40
Apêndice 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	42

SUMÁRIO

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVAS	13
OBJETIVO	16
REFERÊNCIAS	17
ARTIGO CIENTÍFICO	19
1. RESUMO.....	22
2. INTRODUÇÃO.....	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
FIGURA	
4. RESULTADOS.....	27
TABELAS	
5. DISCUSSÃO.....	33
6. REFERÊNCIAS.....	37
APÊNDICES	40
ANEXOS	44

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

O carcinoma espinocelular é a neoplasia maligna mais prevalente na boca, sendo os sítios anatômicos mais acometidos a língua, o lábio e o assoalho bucal (FRANSCESCHI et al., 1990; BATISTA et al., 2008; MARRON et al., 2009). O Instituto Nacional de Câncer (<http://www.inca.gov.br/>) estimou a ocorrência de 9.990 novos casos de câncer da cavidade bucal em homens e 4.180 casos em mulheres para o Brasil no ano de 2012. Estes valores correspondem a um risco estimado de 10 novos casos a cada 100 mil homens e 4 a cada 100 mil mulheres. Em função disso, o câncer de boca pode ser considerado um problema de saúde pública, requerendo realização de pesquisas que visem uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos com o seu desenvolvimento, o que permitiria a implementação de estratégias de combate mais eficazes.

Esta neoplasia está associada a diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, que atuam provocando alterações nos eventos proliferação, morte e diferenciação celular. Os principais fatores de risco relacionados ao câncer de boca são os consumos de fumo e álcool (FRANSCESCHI et al., 1990). Ao fumo tem sido atribuído um papel principal, uma vez que atuaria como um agente iniciador, provocando mutações nos genes que regulam os fenômenos proliferação (protooncogenes) e morte celular (genes supressores de tumor - antioncogenes), o que, por si só, poderia levar ao aparecimento da doença. Ainda que a exposição ao fumo associada ao álcool tenha mostrado efeito multiplicador, o papel do álcool como agente isolado não é tão claro (OGDEN, WIGHT, 1998; OGDEN, WIGHT, RICE, 1999). Carrard et al. (2004) avaliaram a atividade proliferativa das células epiteliais da mucosa lingual de camundongos frente à ação do etanol a 40°GL, a partir da aplicação tópica e ingestão. Os animais foram biopsiados no início, aos 6 e 12 meses de experimento. Esse estudo mostrou que a ingestão de álcool a 40°GL provoca um aumento da proliferação celular na mucosa bucal.

Em relação aos efeitos de outros agentes externos sobre a mucosa há pouco conhecimento. Nesse contexto, se insere o crack, droga cujo consumo tem-se difundido muito nos últimos anos.

Fligiel et al. (1997) conduziram uma análise histopatológica de biópsias de mucosa traqueobronquial de fumantes de crack. Constataram que o consumo de

crack estava relacionado com diversas alterações, tais como, hiperplasia das células basais, alteração da estratificação epitelial, pleomorfismo nuclear, espessamento da membrana basal e presença de inflamação. Adicionalmente, observaram aumento da presença de marcadores de proliferação celular como Ki67 e fator de crescimento epidermal (EGF) e aumento da ploidia, sugerindo que esta droga teria potencial carcinogênico.

Woyceichoski et al. (2008) analisaram os efeitos do crack nas células epiteliais esfoliadas da mucosa jugal com base em uma análise citomorfométrica. Observaram que o consumo de crack induziu redução da área nuclear e da relação núcleo/citoplasma, o que provavelmente resulta do maior grau de ceratinização da mucosa induzido pelo crack, o qual já havia sido demonstrado anteriormente (LIMA et al, 2007).

Lima et al. (2010) avaliaram o efeito genotóxico do álcool, do fumo e de drogas como o crack na mucosa lingual com base na quantificação dos micronúcleos (MN). Seus resultados mostraram aumento, não estatisticamente significativo, do número total de MN nos raspados dos pacientes que fumavam crack e/ou fumavam tabaco ou ainda que consumiam bebidas alcoólicas. Além disso, álcool, tabaco e drogas ilícitas (entre elas o crack) mostraram relação com aumento da freqüência de MN. Os resultados deste estudo apontam para a necessidade do seguimento de estudos com este grupo de indivíduos, uma vez que estes usualmente associam fumo e álcool com o crack, o que provavelmente resulta em efeito sinérgico dos diferentes agentes.

As regiões organizadoras nucleolares (NORs) são segmentos de DNA que transcrevem o RNA ribossômico e estão localizadas nos braços curtos dos cromossomos acrocêntricos 13, 14, 15, 21, 22. AgNORs são proteínas que têm afinidade pela prata relacionadas ao nucléolo. Está bem demonstrado, por Derenzini et al., (2000), que a quantidade de AgNORs aumenta, em células com maior atividade de proliferação. Diferentemente da maioria dos marcadores de proliferação, que indicam apenas se uma célula está ou não se dividindo, a técnica de AgNOR permite diferenciar, entre as células que estão proliferando, aquelas que o fazem mais rapidamente (DERENZINI et al., 2000).

O emprego da citologia esfoliativa tem permitido que se estude a influência de fatores de risco (fumo, álcool e crack) no epitélio bucal em humanos, em especial, utilizando a análise de proliferação destas células. Cançado et al. (2001) e Sampaio

et al. (1999) demonstraram, por meio desta técnica, que o consumo de fumo induz um aumento na taxa de proliferação nas células da mucosa bucal. Adicionalmente, apontaram que a quantidade de cigarros e o tempo de exposição ao fumo não provoca alteração na variação do número de AgNORs por núcleo. A avaliação longitudinal destes pacientes (GEDOZ et al., 2007), por meio de esfregaços, mostrou progressivo aumento da atividade proliferativa, indicando que o método de avaliação utilizado (quantificação das AgNORs) é um método útil para o monitoramento de pacientes expostos.

Diante do que foi exposto, pode-se constatar que o consumo de crack modifica o processo de renovação do epitélio da mucosa bucal, principalmente ao induzir o aumento da ceratinização (LIMA et al., 2007) e altera a morfologia celular (WOYCEICHOSKI et al., 2008). Na medida em que se sabe que os fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de boca estão associados ao aumento da taxa de proliferação celular de células esfoliadas da mucosa clinicamente normal (PAIVA et al., 2004; GEDOZ et al., 2007), o qual consiste em uma etapa importante na progressão tumoral (MACCLUSKEY et al., 1999), torna-se importante um estudo que avalie a taxa de proliferação celular da mucosa bucal de indivíduos expostos ao crack.

OBJETIVO

Quantificar a taxa de proliferação celular de dois sítios da mucosa bucal (língua e assoalho) em pessoas usuárias de drogas e comparar com não usuários.

REFERÊNCIAS

BATISTA JL, ANES RAA, RODRIGUES LC. Smoking increases the risk of relapse after successful tuberculosis treatment. **International Journal of Epidemiology**, v.37, p.841-851, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Instituto Nacional do Câncer**. Estimativas de incidência e mortalidade por câncer no Brasil em 2012 (texto online). Disponível em http://www.inca.org.br/estimativa_2012.

CANÇADO RP, YURGEL LS, FILHO MS. Evaluation of the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. **Oral Oncology**, v.37, n.5, p.446-454, 2001.

CARRARD VC, FILHO MS, RADOS PV, CHAVES AC, LAUXEN IS. Quantification of silver-staining nucleolar organizer region in epithelial cells of tongue of mice after exposure to, or intake of alcohol. **Alcohol**, v.34, n.2-3, p. 233-238, 2004.

DERENZINI M. et al. Nucleolar size indicates the rapidity of cell proliferation in cancer tissue. **Journal of Pathology**, Chichester, v.191, n.2, p.181-186, 2000.

FLIGIEL SE, ROTH MD, KLEERUP EC, SIMMONS MS, TASHKIN DP. Tracheobronchial histopathology in habitual smokers of cocaine, marijuana, and/or tobacco. **Chest**, v.112, p.319-326, 1997.

FRANCESCHI S, TALAMINI R, BARRA S, BARON AE, NEGRI E, BIDOLI E. et al. Smoking and drinking in relation to cancer of oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in Northern Italy. **Cancer Research**, v.50, p.6502-507, 1990.

GEDOZ L et al. Proliferative activity in clinically healthy oral mucosa exposed to tobacco smoking and alcohol: a longitudinal study using the AgNOR staining technique. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, v.29, p.231-238, 2007.

LIMA AAS, WOYCEICHOSKI IEC, BATISTA AB, GREGIO AMT, IGNACIO AS, MACHADO MAN, et al. Cytopathological changes in oral epithelium induced by crack cocaine smoking. **Pharmacologyonline**, v.1, p.31-40, 2007.

LIMA CF et al. Cytogenetic damage of oral mucosa by consumption of alcohol, tobacco and illicit drugs. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v.39, p.441-446, 2010.

MACLUSKEY M, OGDEN GR, GREEN M, CHISHOLM DM, SCHOR SL, SCHOR AM. The association between epithelial proliferation and diseases progression en the oral mucosa. **Oral Oncol**, v.35, n.4, p.409-14, 1999.

MARRON M et al. Cessation of alcohol drinking, tobacco smoking and the reserval of heard and neck cancer risk. **International Journal of Epidemiology**, n.1-15, 2009.

OGDEN GR, WIGHT AJ. A etiology of oral cancer: alcohol. **British Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, v.36, n.4, p.247-251, 1998.

OGDEN GR, WIGHT AJ, RICE P. Effect of alcohol on the oral mucosa assessed by quantitative cytomorphometry. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 28, n.5, p.216-220, 1999.

PAIVA RL, FILHO MS, BOHRER PL, LAUXEN IS, RADOS PV. AgNOR quantification in cells of normal oral mucosa exposed to smoking and alcohol. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, v.26, n.3, p.175-180, 2004.

SAMPAIO HC, LOYOLA AA, GOMES RS, MESQUITA RA. AgNOR count in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. **Acta Cytologica**, n.43, p.117-120, 1999.

WOYCEICHOSKI IEC, et al. Cytomorphometric analysis of crack cocaine effects on the oral mucosa. **Oral and Maxillofacial Pathology**, v.105, n.6, p.745-749, june 2008.

AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA MUCOSA BUCAL EM PACIENTES EXPOSTOS AO CRACK- ESTUDO TRANSVERSAL

Este artigo será submetido à publicação na revista *Analytical & Quantitative Cytology & Histology*.

Fator de Impacto: 0,41

Qualis: B2

ARTIGO

**AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA MUCOSA BUCAL
EM PACIENTES EXPOSTOS AO CRACK- ESTUDO TRANSVERSAL**

**Artigo apresentado de acordo com as normas da revista: Analytical &
Quantitative Cytology & Histology**

AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DA MUCOSA BUCAL EM PACIENTES EXPOSTOS AO CRACK- ESTUDO TRANSVERSAL

Eva Castro Torriani (Torriani, EC)

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, (97015-372), Brasil.

Manoel Sant'Ana Filho (Filho, MS)

Professor Associado 2 da Disciplina de Patologia Bucal, Departamento de Patologia Bucal, Curso de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul (90035-003), Brasil.

Autor (a) para correspondência:

Nome: Manoel Sant'Ana Filho

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2492/503 – Patologia Bucal

CEP: 90035-003

E-mail: manoel@ufrgs.br

Telefone: +55 51 3308.5011

1. RESUMO

OBJETIVO: Comparar a taxa de proliferação celular de dois sítios da mucosa bucal (língua e assoalho) em indivíduos expostos ao crack, à cocaína, ao crack e cocaína de forma combinada e em indivíduos não expostos a droga.

METODOLOGIA: A amostra foi composta de 71 indivíduos divididos em: Grupo Controle (GC): 25 indivíduos que não fumavam e não consumiam droga ilícita; Grupo Crack (GCR): 18 indivíduos, que consumiam crack diariamente ou quase todos os dias; Grupo Cocaína (GCO): 12 indivíduos que cheiravam cocaína diariamente ou quase diariamente; Grupo Crack-Cocaína (GCRO): 16 indivíduos que consumiam diariamente ou quase diariamente crack e cocaína. Uma entrevista foi realizada para coletar dados de identificação, demográficos, sócio-econômico, condição bucal e o questionário ASSIST foi aplicado para avaliar o nível de exposição à droga. Realizaram-se esfregaços citológicos de borda de língua e de assoalho bucal, os quais foram submetidos à técnica de impregnação pela prata para quantificação da média e do percentual de AgNORs/núcleo. As medidas foram comparadas pelo teste de Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste de Kruskal-Wallis, seguidos, respectivamente, pelos testes de comparações múltiplas de Tukey e Dunn no nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS: Aumento da taxa de proliferação das células esfoliadas da borda de língua para $pAgNOR > 2$ nos grupos GCR e GCO ($p = 0,02$). No sítio, assoalho bucal, não houve diferença significativa entre o GC e os demais grupos ($p = 0,48$).

CONCLUSÕES: A borda de língua é um sítio mais suscetível a exposição a drogas, porém em função desses indivíduos se exporem a diferentes tipos de agentes externos, não se pode afirmar que o crack, de forma isolada, seja o responsável pelo aumento na taxa de proliferação celular no GCR. Dentre as dificuldades em se estudar o efeito do crack na boca estão; a variedade da composição química da droga (componentes e quantidade), a combinação de outras drogas e a variabilidade individual do número de AgNORs/núcleo

Palavras-chave: proliferação celular; crack; mucosa bucal; cocaína.

2. INTRODUÇÃO

O carcinoma espinocelular é a neoplasia maligna mais prevalente na boca, sendo os sítios anatômicos mais acometidos a língua, o lábio e o assoalho bucal (FRANSCESCHI et al., 1990; BATISTA et al., 2008; MARRON et al., 2009). O Instituto Nacional de Câncer (<http://www.inca.gov.br/>) estimou a ocorrência de 9.990 novos casos de câncer da cavidade bucal em homens e 4.180 casos em mulheres para o Brasil no ano de 2012. Estes valores correspondem a um risco estimado de 10 novos casos a cada 100 mil homens e 4 a cada 100 mil mulheres. Em função disso, o câncer de boca pode ser considerado um problema de saúde pública.

O emprego da citologia tem permitido que se estude a influência de fatores de risco (fumo, álcool e crack) no epitélio bucal em humanos, em especial, utilizando a análise de proliferação destas células. Cançado et al. (2001) e Sampaio et al. (1999) demonstraram, por meio desta técnica, que o consumo de fumo induz um aumento na taxa de proliferação nas células da mucosa bucal. Adicionalmente, apontaram que a quantidade de cigarros e o tempo de exposição ao fumo não provoca alteração na variação do número de AgNORs por núcleo.

Em relação aos efeitos de outros agentes externos sobre a mucosa há pouco conhecimento. Nesse contexto, se insere o crack, droga cujo consumo tem-se difundido muito nos últimos anos.

Woyceichoski et al. (2008) analisaram os efeitos do crack nas células epiteliais esfoliadas da mucosa jugal com base em uma análise citomorfométrica. Observaram que o consumo de crack induziu redução da área nuclear e da relação núcleo/citoplasma, o que provavelmente resulta do maior grau de ceratinização da mucosa devido ao crack, o qual já havia sido demonstrado anteriormente (LIMA et al. 2007).

Lima et al. (2010) comparou a frequência de micronúcleos (MN) em células esfoliadas na mucosa de borda de língua entre um grupo de indivíduos não expostos e um grupo de indivíduos que fumavam tabaco e ingeriam bebida alcoólica diariamente, e que usavam algum tipo de droga ilícita, como o crack e estes apresentaram aumento não significativo estatisticamente.

Na medida em que se sabe que os fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de boca estão associados ao aumento da taxa de proliferação celular de células esfoliadas da mucosa clinicamente normal (PAIVA et al., 2004; GEDOZ et al., 2007), o qual consiste em uma etapa importante na progressão tumoral (MACCLUSKEY et al., 1999), torna-se importante um estudo que avalie a taxa de proliferação celular da mucosa bucal em indivíduos expostos ao crack. (justificativa). Desta forma, este estudo tem como objetivo comparar a taxa de proliferação celular entre indivíduos expostos ao crack, à cocaína, ao crack e cocaína e a não usuários de drogas. A hipótese deste estudo é de que a taxa de proliferação celular está aumenta no GCR e no GCRO.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra do estudo

A realização deste estudo foi aprovada pelo CEP/UFSM (processo nº 26081.000200/2011-76 e CAAE 0397.0.243.000-11). Um termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi lido e assinado por todos os participantes.

Foi realizado um estudo transversal com 71 indivíduos divididos em: Grupo Controle (GC): 25 indivíduos que não fumavam e que não bebiam mais do que 2 doses (15g) de álcool por semana e não consumiam droga ilícita ao iniciarem atendimento na Escola Estadual Irmão José Otão da cidade de Santa Maria – RS (EMIJO); sendo 21 homens e 4 mulheres; Grupo Crack (GCR): 18 indivíduos, que consumiam crack diariamente ou quase todos os dias, sendo 14 homens e 4 mulheres; Grupo Cocaína (GCO): 12 indivíduos que inalavam cocaína diariamente ou quase diariamente, sendo 7 homens e 5 mulheres; Grupo Crack-Cocaína (GCRO): 16 indivíduos que consumiam diariamente ou quase diariamente crack e cocaína, sendo 12 homens e 4 mulheres. Os grupos GCR, GCO e GCRO foram compostos por indivíduos que se encontravam internados no Hospital Casa de Saúde de Santa Maria – RS (HCSSM) para tratamento de desintoxicação no período de maio de 2011 a novembro de 2011, enquanto que o GC foi coletado nos meses de outubro e novembro de 2011, os quais foram coletados de forma randomizada, respeitando a mesma faixa etária dos demais grupos.

O tamanho da amostra foi determinado por um senso, incluindo todos os pacientes internados na unidade 100 do HCSSM, que quiseram participar do estudo e se enquadravam nos critérios de inclusão pré-estabelecidos. (PODER DO ESTUDO)

Uma entrevista inicial foi realizada para coletar informações a respeito de características sociodemográficas, tais como idade, ocupação, renda, condições de saúde geral e medicações em uso. Além disso, realizou-se um exame intrabucal para avaliar presença de próteses, aparelhos ortodônticos, lesões intra-bucal e condição de saúde bucal, tais como presença de raízes residuais, perdas dentárias, cárie, tártaro e restaurações. O questionário (ASSIST – OMS) foi aplicado como forma de entrevista para avaliar a frequência do consumo de cada droga. Quatro pacientes foram excluídas da pesquisa por estarem grávidas. Todos os pacientes dos grupos GCR, GCO e GCRO fumavam tabaco, maconha e ingeriam bebida alcoólica diariamente. Sendo assim, o tabaco passa a ser um confundidor, à medida que já se sabe que ele aumenta a taxa de proliferação por si só. Por outro lado a formação de um grupo controle de usuários de tabaco nesta faixa etária jovem torna-se difícil.

Obtenção dos raspados e análise da atividade proliferativa

Amostras foram obtidas da mucosa da borda da língua e da mucosa do assoalho bucal, ambos do lado esquerdo, com o auxílio de escovas citológicas (cytobrush). Previamente a realização dos raspados, os pacientes foram orientados a bochechar água filtrada durante 1 minuto, com a finalidade de eliminar possíveis detritos pré-existentes. O material obtido foi distendido em lâminas de vidro, que posteriormente, foram fixadas em álcool 96% até serem submetidas à técnica de impregnação pela prata (AgNORs), segundo protocolo estabelecido por Ploton et al. (1986).

A captura de imagens foi realizada por um examinador cego, previamente calibrado (intra examinador), com o auxílio de uma câmera de vídeo Olympus® (modelo Qcolor 5, Coolet, RTV) acoplada a um microscópio binocular Olympus Optical Co. modelo CX41RF e a um computador Dell (modelo Dimension 5150), utilizando o software Qcapture® (versão 2.81; Quantitative Imaging Corporation, Inc.; 2005). Foram capturadas as primeiras 50 células nucleadas distendidas e não sobrepostas visualizadas em aumento de 1000x com auxílio de óleo de imersão,

seguindo um mesmo sentido, com a finalidade de não capturar a mesma célula mais de uma vez.

A partir das imagens capturadas, realizou-se a quantificação das AgNORs através da contagem do número de AgNORs/núcleo. Posteriormente, calculou-se a média de AgNORs/núcleo (mAgNOR) de cada lâmina. Um segundo parâmetro de avaliação calculado foi o percentual de células com mais do que 1, 2, 3 e 4 AgNORs/núcleo (pAgNOR>1, pAgNOR>2, pAgNOR>3, pAgNOR>4), de acordo com a metodologia proposta por Xie et al. (1997) e representado na figura 1.

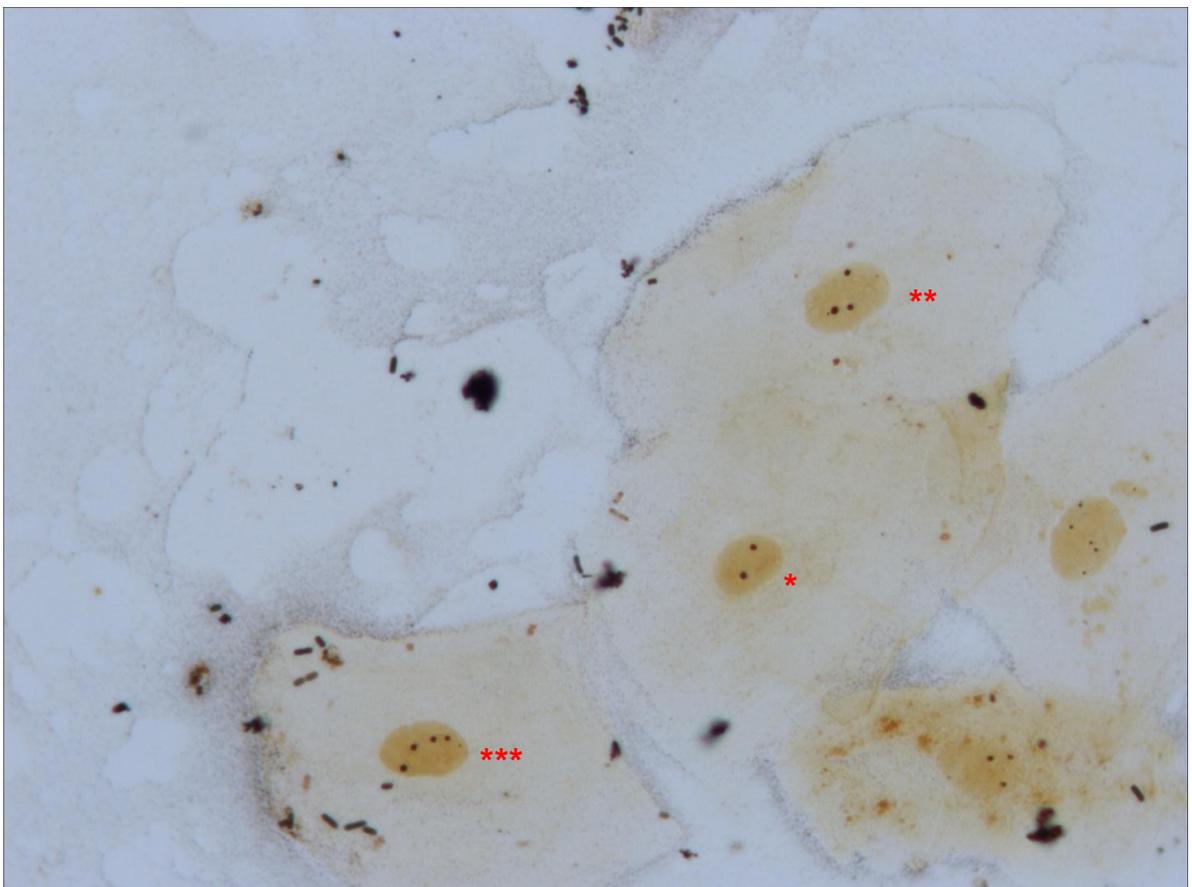


Fig. 1. Células epiteliais da borda de língua de indivíduo do GCR apresentando 2 (*), 3 (**) AgNORs e 4 (***)AgNORs. (Técnica de AgNOR, magnificação original:1000x)

Análise estatística

Foi realizada uma análise descritiva dos dados, a fim de conhecer o perfil dos entrevistados. O teste ANOVA seguido do teste Tukey para diferenças significativas, foi empregado nas comparações dos grupos para as variáveis idade, mAgNOR, pAgNOR>1, pAgNOR>2, pAgNOR>3 e pAgNOR>4, nas células esfoliadas de mucosa da borda da língua e do assoalho de boca.

O teste não-paramétrico Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn foi utilizado para diferenças significativas, assim como para a comparação dos grupos em relação ao consumo de diferentes substâncias nos últimos 3 meses.

O nível de significância estabelecido neste estudo foi de 5% ($\alpha = 0,05$). Sendo utilizado para todas as análises estatísticas o *software* SPSS versão 10.0.

4. RESULTADOS

Características demográficas, socioeconômicas, comportamentais e estado bucal

Analisando a Tabela 1, observa-se que o GC apresentou idade média mais baixa quando comparado ao GCR, GCO e GCRO. No entanto essa diferença quando testada não é significativa, pelo teste ANOVA temos $p=0,398$. A idade mínima e máxima de cada grupo foi: GC (13-18 anos), GCR (13-44 anos), GCO (13-29 anos) e GCRO (14-33 anos). Em relação ao DP da idade, temos menor valor no grupo GC e maior no GCR.

Em todos os grupos há um predomínio de homens, destacando os grupos GCR e GCRO em que os valores são iguais ou superiores a 75%.

Todos os participantes dos grupos, GCR, GCO e GCRO pertenceram ao nível fundamental, ou seja, primeiro grau incompleto, enquanto que o GC apresentou 56% dos participantes, cursando o segundo grau do ensino médio.

No GC, 96% apresentam condição bucal boa/muito boa; enquanto que mais de 58% dos demais grupos apresentaram condição bucal regular ou pobre.

Tabela 1. Descrição da amostra do estudo de acordo com os dados demográficos e condição de saúde bucal

Variável	Controle n=25	Crack n=18	Cocaína n=12	Crack/cocaína n=16
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Idade				
Média	15,68	18,44	17,00	16,88
DP	1,18	8,46	4,47	4,62
Gênero				
Masculino (n=54)	21 (84)	14 (77,77)	7 (58,33)	12 (75)
Feminino (n=17)	4 (16)	4 (22,22)	5 (41,66)	4 (25)
Total (n=71)	25 (100)	18 (100)	12(100)	16 (100)
Raça				
Branco (n=59)	19 (76)	13 (72,22)	12 (100)	15 (94)
Não-branco(n=12)	6 (24)	5 (27,78)	0 (0)	1 (6)
	25 (100)	18 (100)	12 (100)	16 (100)
Nível Educacional				
E. fundamental (n=57)	11 (44)	18 (100)	12 (100)	16 (100)
E. médio (n=14)	14 (56)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total (n=71)	25 (100)	18 (100)	12 (100)	16 (100)
Condição Bucal				
Pobre (n=7)	0 (0)	4 (22,22)	2 (16,66)	1 (6,25)
Regular (n=25)	1 (4)	7 (38,88)	5 (41,66)	12 (75)
Boa/Muito boa (n=39)	24 (96)	7 (38,88)	5 (41,66)	3 (18,75)
Total (n=71)	25 (100)	18 (100)	12 (100)	16 (100)

Segundo a Tabela 2, quando testada a diferença entre estes grupos em relação às variáveis fumo, álcool e maconha não se observam diferença significativa. O consumo de cocaína foi semelhante nos GCO e GCRO, e maior do que no GCR. Enquanto isso, o consumo de crack foi semelhante entre o GCR e o GCRO, e maior do que no GCO.

Tabela 2. Comparação dos grupos com relação ao consumo de substâncias de abuso.

Variável	Crack	Cocaína	Crack/cocaína	P
	n=18	n=12	n=16	
	Rank médio	Rank médio	Rank médio	
Fumo	20,39	26,04	25,09	0,18
Álcool	21,47	28,71	21,88	0,24
Maconha	21,83	24,96	24,28	0,76
Cocaína	9,50 ^A	36,17 ^B	29,75 ^B	<0,01
Crack	29,06 ^A	6,50 ^B	30,00 ^A	<0,01
Anfetaminas	23,00	23,00	24,44	0,39
Inalantes	22,50	24,42	23,94	0,50
Sedativos	22,50	24,38	23,97	0,51
Alucinógenos	22,50	24,42	23,94	0,50

Kruskal – Wallis /Dunn. Valores seguidos de letras diferentes diferem entre si na linha.

Segundo a Tabela 3, não houve diferença significativa entre os grupos, em relação à mAgNORs, pAgNOR>1, pAgNOR>3 e pAgNOR>4 na células esfoliadas da mucosa da língua. Porém, GCR e o GCO apresentaram aumento da proliferação celular, para pAgNOR>2, quando comparados ao GC e GCRO (p=0,02).

Tabela 3. Distribuição dos valores de mAgNOR e pAgNOR nas células esfoliadas da mucosa da borda da língua.

Variável	Grupo (n)	Rank médio	Média (DP)	p
mAgNOR	Controle (n=25)	29,12	2,36 (0,45)	0,07*
	Crack (n=17)	43,29	2,59 (0,32)	
	Cocaína (n=11)	43,32	2,65 (0,55)	
	Crack/cocaína (n=16)	29,66	2,35 (0,21)	
pAgNOR>1	Controle (n=25)	28,76	73,12 (14,28)	0,57*
	Crack (n=17)	40,35	75,76 (26,10)	
	Cocaína (n=11)	41,23	81,27 (14,73)	
	Crack/cocaína (n=16)	34,78	78,50 (10,10)	
pAgNOR>2	Controle (n=25)	28,30	39,36 (16,15) ^A	0,02*
	Crack (n=17)	43,47	50,82 (13,34) ^B	
	Cocaína (n=11)	43,27	52,91 (20,69) ^B	
	Crack/cocaína (n=16)	30,78	40,50 (9,28) ^A	
pAgNOR>3	Controle (n=25)	31,96	16,16 (13,12)	0,56*
	Crack (n=17)	40,59	21,88 (16,69)	
	Cocaína (n=11)	41,09	20,91 (12,84)	
	Crack/cocaína (n=16)	29,63	16,25 (17,66)	
pAgNOR>4	Controle (n=25)	34,38	4,60 (6,17)	0,51**
	Crack (n=17)	35,18	3,53 (3,12)	
	Cocaína (n=11)	42,32	6,36 (7,08)	
	Crack/cocaína (n=16)	30,75	2,63 (2,39)	

*ANOVA/Tukey **Kruskal – Wallis. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si. Uma lâmina do GCR e uma lâmina do GCO foram perdidas em decorrência de erro na técnica.

Segundo a tabela 4, no sítio assoalho bucal não houve diferença significativa entre as mAgNOR, pAgNOR>1, pAgNOR>2, pAgNOR>3 e pAgNOR>4 nos diferentes grupos. Também não há um aumento na taxa de proliferação celular para as células esfoliadas do assoalho bucal em nenhum dos grupos.

Tabela 4. Distribuição dos valores de mAgNOR e pAgNOR nas células esfoliadas da mucosa do assoalho de boca.

Variável	Grupo (n)	Rank médio	Média (DP)	p
mAgNOR	Controle (n=24)	37,90	3,17 (0,29)	0,48*
	Crack (n=17)	34,00	3,12 (0,20)	
	Cocaína (n=12)	37,79	3,24 (0,41)	
	Crack/cocaína (n=16)	29,63	3,06 (0,40)	
pAgNOR>1	Controle (n=24)	33,25	96,92 (2,70)	0,89**
	Crack (n=17)	37,94	97,18 (3,67)	
	Cocaína (n=12)	34,25	97,00 (2,89)	
	Crack/cocaína (n=16)	35,06	95,88 (6,08)	
pAgNOR>2	Controle (n=24)	38,65	74,75 (11,34)	0,48*
	Crack (n=17)	30,29	70,65 (9,42)	
	Cocaína (n=12)	36,88	75,50 (12,96)	
	Crack/cocaína (n=16)	33,13	70,00 (16,01)	
pAgNOR>3	Controle (n=24)	36,65	36,17 (12,89)	0,78*
	Crack (n=17)	32,65	32,82 (9,48)	
	Cocaína (n=12)	37,04	37,67 (14,39)	
	Crack/cocaína (n=16)	33,50	34,63 (17,52)	
pAgNOR>4	Controle (n=24)	37,46	9,25 (6,37)	0,23**
	Crack (n=17)	37,79	8,71 (5,33)	
	Cocaína (n=12)	38,17	10,33 (9,45)	
	Crack/cocaína (n=16)	25,97	7,00 (7,62)	

*ANOVA/Tukey **Kruskal – Wallis. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si. Uma lâmina de GCR foi perdida em decorrência de erro na técnica.

5. DISCUSSÃO

Analisando os dados demográficos e sócio-econômicos pode-se observar que não houve diferença significativa com relação à idade entre os diferentes grupos. Segundo dados do IBGE, a idade média para o início do uso do crack é de 13 anos (WWW.cmn.org.br). A média deste grupo no presente estudo foi maior (aproximadamente 18 anos), o que pode ser explicado pelo fato de vários participantes estarem internados pela segunda ou terceira vez em virtude de recaídas. Há um predomínio de homens em todos os grupos. Porém, este número pode estar superestimado, principalmente no GCR, já que as gestantes foram excluídas deste estudo.

Comparando o nível educacional dos entrevistados, pode-se observar que, mais da metade do GC encontrava-se cursando o ensino médio, enquanto que todos os participantes dos demais grupos (GCR, GCO e GCRO), ou seja 100%, tinham estudado até o ensino fundamental. Estes dados representam o abandono escolar, por parte dos usuários, nessa faixa etária, em decorrência do uso contínuo da droga. Segundo dados do CNM (Conselho Nacional dos municípios) 2012, situações de abandono familiar, profissional (perda do emprego devido ao vício), casos de prostituição e gravidez na adolescência também são comuns. Ações públicas ainda funcionam como medida paliativa, uma vez que os usuários ficam internados por um período muito curto, a fim de desintoxicar apenas, não tendo continuidade no tratamento que exige acompanhamento multidisciplinar.

A condição bucal de 58% dos entrevistados dos grupos GCR, GCO e GCRO foi regular ou pobre, enquanto que 96% do GC apresentaram condição bucal boa ou muito boa. Estes achados podem estar correlacionados com o fato do usuário de crack passar maior parte do tempo nas ruas, onde a preocupação primordial passa a ser o consumo desta droga. Muitos relatam que ficam dias; sem comer, dormir, e sem os cuidados mínimos com a higiene pessoal, dentre estes a higiene bucal. Aliado a esses fatos está a faixa etária (adolescência) na qual estes cuidados tornam-se ainda menos prioritários.

O perfil dos participantes dos grupos GCR, GCO e GCRO é semelhante e pode ser caracterizado como gênero masculino, branco, aproximadamente 17 anos, que parou de estudar ainda no ensino fundamental, sem vínculos empregatícios

formais e que apresenta condição bucal regular ou pobre. Estas características corroboram com o perfil do paciente usuário de crack segundo um estudo de Oliveira et al. (2008). Pacientes do grupo GCR fumam tabaco diariamente, ingerem bebidas alcoólicas nos finais de semana, fumam maconha quase diariamente e praticamente, não inalam cocaína ou o fazem 1 ou 2 vezes no mês (dados não apresentados). Esse perfil se assemelha com o grupo de pacientes avaliados por Lima et al. (2010). Em estudo de Harrel et al. (2012), que avaliou a combinação entre tabaco e drogas ilícitas, dentre estas o crack, verificou que usuários desta substância são caracterizados como fumantes leves de tabaco. Para Guindalini et al. (2006), os usuários de crack têm diferenças marcantes em relação aos usuários de cocaína inalada, sendo mais comum entre os primeiros o consumo de outras drogas. Esses achados não foram observados no presente estudo, uma vez que o consumo de tabaco, álcool e maconha foi alto e semelhantes para os grupos GCR e GCO.

Este estudo transversal avaliou a taxa de proliferação celular da mucosa bucal em dois sítios anatômicos da boca (borda de língua e assoalho bucal), em pacientes expostos ao crack e a cocaína.

Com relação ao sítio borda de língua podemos observar que houve um aumento da taxa de proliferação celular, verificado a partir de $pAgNOR > 2$ nos grupos GCR e GCO. Este achado vai ao encontro com o trabalho de Gedoz et al. (2007), no qual observou um aumento na velocidade de proliferação celular em borda de língua para os efeitos do tabaco.

Quando comparados os grupos GCO e GCRO pôde-se perceber que estes não apresentam diferença significativa em relação à frequência do consumo de tabaco, álcool e maconha; diferindo apenas no consumo de crack. Com isso, podemos sugerir que nesta situação, o crack não é responsável pelo aumento da taxa proliferativa do GCO, uma vez que os indivíduos desse grupo não fumam crack e mesmo assim o grupo GCO apresenta um aumento na taxa de proliferação celular.

Gandara et al. (2002) avaliou o efeito da cocaína na mucosa bucal e nasal e concluiu que os efeitos dependem da via de administração. Em três dos quatro pacientes avaliados esta prática levou a lesões eritematosas, enquanto que o paciente remanescente apresentou recessão gengival e seqüestro ósseo. Atribuiu essas lesões à atividade vasoconstritora da cocaína e ao seu efeito cáustico na mucosa. Apesar desse achado, Harris et al. (2003) relatou o efeito do cocaetileno, um metabólito formado do uso combinado de cocaína e álcool, que atua no

organismo de forma sistêmica. Talvez, a cocaína, mesmo inalada, possa apresentar efeito vasoconstritor na mucosa bucal.

Mitchell-Lewis et al. (1994), observou a presença de úlceras em região medial de palato duro em pacientes usuários de crack e sugeriu que a cocaína fumada, produz uma vasodilatação em decorrência do calor produzido pela queima da pedra e uma vasoconstrição em decorrência do efeito químico da cocaína. O aquecimento da mucosa, tanto pelo tabaco como pelo crack leva a um aumento do grau de ceratinização. Este aumento da ceratinização em indivíduos usuários de crack foi observado por Lima et al. (2007) e Woyceichoski et al. (2008) em região de mucosa jugal. Talvez a ação vasoconstritora da cocaína fumada dependa da composição química do crack, o é variável.

Por outro lado, no sítio assoalho bucal, não houve diferença significativa entre os grupos GCR, GCO, GCRO e GC. O fato de mAgNOR ter dado maior que 3 por núcleo para todos os grupos, inclusive para o GC, pode estar relacionado com as características histológicas da região, a qual exigem um período de renovação celular mais curto. (Richard et al. 2001).

A dificuldade em realizar um estudo sobre o efeito isolado do crack na mucosa bucal é, principalmente, devido ao fato de totalidade desses usuários utilizarem mais de uma droga em combinação. Além disso, a variedade de composição química desta droga dificulta a interpretação dos resultados encontrados. Entretanto parece mais importante estudar o paciente usuário, do que isolar uma droga. Fligiel et al. (1997) observou, a partir de biópsias de mucosa traqueobronquial, que quando o crack é fumado de forma isolada, a mucosa bronquial sofre poucas alterações, quando comparada a mucosa de fumantes de maconha e tabaco. Porém, quando fumado junto com o tabaco, o crack parece aumentar a injúria desta mucosa, causada por fumantes de tabaco. Estudos longitudinais poderiam ser úteis no sentido de avaliar se a exposição crônica a estas drogas não é capaz de provocar alterações mais marcantes no processo de renovação da mucosa bucal ou mesmo alterações citogenéticas. Porém o número de recaídas destes indivíduos é bastante considerável, tornando o estudo longitudinal muitas vezes inviável.

Desta forma, podemos concluir que a borda de língua é um sítio mais suscetível a exposição a drogas, porém em função desses indivíduos se exporem a diferentes tipos de agentes externos, não podemos afirmar que o crack, de forma

isolada, seja o responsável pelo aumento da taxa de proliferação do grupo GCR. Mais estudos são necessários para melhor compreender os efeitos da exposição a drogas nestes dependentes químicos.

6. REFERÊNCIAS

BATISTA JL, ANES RAA, RODRIGUES LC. Smoking increases the risk of relapse after successful tuberculosis treatment. **International Journal of Epidemiology**, v.37, p.841-851, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Instituto Nacional do Câncer**. Estimativas de incidência e mortalidade por câncer no Brasil em 2012 (text online). Disponível em http://www.inca.org.br/estimativa_2012.

CANÇADO RP, YURGEL LS, FILHO MS. Evaluation of the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. **Oral Oncology**, v.37, n.5, p.446-454, 2001.

FLIGIEL SEG, ROTH MD, KLEERUP EC, BARSKY SH, SIMMONS MS, TASHKIN DP. Tracheobronchial histopathology in habitual smokers of cocaine, marijuana and/or tobacco. **Chest** 1997; 112:319-26.

FRANCESCHI S, TALAMINI R, BARRA S, BARON AE, NEGRI E, BIDOLI E. et al. Smoking and drinking in relation to cancer of oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in Northern Italy. **Cancer Research**, v.50, p.6502-507, 1990.

GANDARA-REY JM, DINIZ- FREITAS M, GANDARA-VILA P, BLANCO-CARRION A, GARCIA-GARCIA A. Lesions of the oral mucosa in cocaine users Who apply the drug topically. **Med Oral** 2002 March-Apr; 7(2): 103-7.l

GEDOZ L et al. Proliferative activity in clinically healthy oral mucosa exposed to tobacco smoking and alcohol: a longitudinal study using the AgNOR staining technique. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, v.29, p.231-238, 2007.

GUINDALINI C, VALLADA H, BREEN G, LARANJEIRA R. Concurrent crack and powder cocaine users from São Paulo: do they represent a different group? **BMC Public Health**. 2006 jan 20;6:10.

HARRELL PT, TRENZ RC, SCHERER M, PACEK LR, LATIMER WW. Cigarette smoking, illicit drug use, and routes of administration among heroin and cocaine users. **Addictive Behaviors** 37 (2012) 678-681.

HARRIS DS, EVERHART ET, MENDELSON J, JONES RT. The pharmacology of cocaethylene in humans following cocaine and ethanol administration. **Drugs and Alcohol Dependence** 72 (2003) 169-182.

LIMA AAS, WOYCEICHOSKI IEC, BATISTA AB, GREGIO AMT, IGNACIO AS, MACHADO MAN, et al. Cytopathological changes in oral epithelium induced by crack cocaine smoking. **Pharmacologyonline**, v.1, p.31-40, 2007.

LIMA CF et al. Cytogenetic damage of oral mucosa by consumption of alcohol, tobacco and illicit drugs. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v.39, p.441-446, 2010.

MACLUSKEY M, OGDEN GR, GREEN M, CHISHOLM DM, SCHOR SL, SCHOR AM. The association between epithelial proliferation and diseases progression in the oral mucosa. **Oral Oncol**, v.35, n.4, p.409-14, 1999.

MARRON M et al. Cessation of alcohol drinking, tobacco smoking and the reversal of head and neck cancer risk. **International Journal of Epidemiology**, n.1-15, 2009.

MITCHELL-LEWIS DA, PHELAN JÁ, KELLY RB, BRANDLEY JJ, LAMSTER IB. Identifying oral lesions associated with crack cocaine use. **J Am Dent Assoc** 1994; 125: 1104-8.

OBSERVATORIO DO CRACK. Mapeamento do crack nos municípios brasileiros em 2010. <http://www.cnm.org.br/crack/>

OLIVEIRA LG, NAPPO AS. Crack na cidade de São Paulo: acessibilidade, estratégias de mercado e formas de uso. **Revista Psiquiatria Clínica** 2008; 34(6).

PAIVA RL, FILHO MS, BOHRER PL, LAUXEN IS, RADOS PV. AgNOR quantification in cells of normal oral mucosa exposed to smoking and alcohol. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, v.26, n.3, p.175-180, 2004.

PLOTON D et al. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochemical Journal* 1986; 18: 5-14.

RICHARD TC. *Histologia Bucal: desenvolvimento, estrutura e função*. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

SAMPAIO HC, LOYOLA AA, GOMES RS, MESQUITA RA. AgNOR count in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. **Acta Cytologica**, n.43, p.117-120, 1999.

WOYCEICHOSKI IEC, et al. Cytomorphometric analysis of crack cocaine effects on the oral mucosa. **Oral and Maxillofacial Pathology**, v.105, n.6, p.745-749, june 2008.

XIE X et al. Diagnostic and prognostic value of nucleolar organizer regions in normal epithelium, dysplasia, and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer* 1997; 79(11): 2200-2208.

APÊNDICE 1 – FICHA PARA CADASTRAMENTO DOS PACIENTES

Nome (Iniciais): _____ CI _____ Data: ____/____/____
 Idade: _____ Gênero: () Masculino () Feminino Cor: _____
 Endereço: _____ nº _____ Cidade _____

Nível Socioeconômico:

Escolaridade: () 1º Grau () 2º Grau () 3º Grau () incompleto
Ocupação: _____ **Renda:** () até R\$ 500,00 () de R\$ 501,00 a R\$ 1000,00
 () de R\$ 1001,00 a 1500,00 () acima R\$ 1500,00

História Médica:**Doenças Sistêmicas:**

Hipertensão () Não () Sim Diabetes () Não () Sim Hepatite () Não () Sim
 Colesterol alto () Não () Sim Outras () Não () Sim Qual(is)? _____

Medicamentos (em caso afirmativo, especificar abaixo)

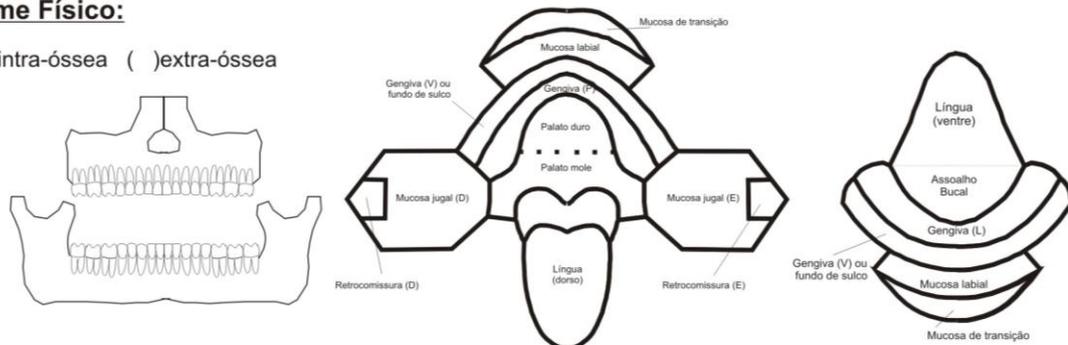
Antihipertensivo () Não () Sim Diurético () Não () Sim Hipoglicemiante () Não () Sim
 Antibiótico () Não () Sim Analgésico () Não () Sim AINE () Não () Sim
 Anticoncepcional () Não () Sim Antidepressivo () Não () Sim
 Outro(s) () Não () Sim Qual(is)? _____

EXAME CLÍNICO:**Uso de prótese:**

Não Sim Tipo: _____ Condições: _____
 Remove à noite
 Tempo de uso _____ anos Última troca _____ (meses, anos) Tempo (anos) _____ Não Sim

Exame Físico:

() intra-óssea () extra-óssea



	Lesão fundamental	Tamanho (mm)	Cor	Consistência	Diagnóstico Clínico	Conduta
Lesão 1						
Lesão 2						
Lesão 3						
Lesão 4						

Condição de saúde bucal:

() Pobre	() Regular	() Boa	() Muito boa
Raízes residuais, perda de vários dentes e doença periodontal avançada	Presença de cáries e tártaro, mas poucos dentes perdidos	Muitas restaurações, mas sem cáries e com tártaro.	Ausência de cáries, restaurações ou tártaro

Declaro que fui informado a respeito do meu estado de saúde bucal e que autorizo a utilização de meus dados em atividades de ensino e pesquisa de forma anônima, de forma a garantir minha privacidade. Assinatura: _____

APÊNDICE 2 - Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA

Título do projeto: Avaliação da mucosa bucal**Pesquisador responsável:** Juliana Praetzel, Eva Castro Torriani**Instituição/Departamento:** Faculdade de odontologia da UFSM**Pesquisadora participante:** Eva Castro torriani**Telefones para contatos:** (55) 33177317

Caro participante,

Estamos realizando um estudo para avaliar o que acontece na boca das pessoas que não fumam cigarro e bebidas alcoólicas ou outras drogas.

O estudo proposto também envolve o exame da boca e das gengivas, pois a higiene bucal é outro fator que pode ter relação com as doenças da boca e entre elas, até o câncer de bucal.

Os possíveis desconfortos associados à participação neste estudo são aqueles decorrentes da realização de um exame bucal completo e o desconforto emocional que pode haver ao responder perguntas sobre o vício e ou sua vida privada. Todas as medidas de biossegurança (cuidados tais como uso de materiais descartáveis e instrumentais esterilizados) serão adotadas.

Os benefícios diretos relacionados à participação neste estudo são o exame bucal completo, que inclui um exame detalhado da boca, bem como orientação de higiene e diagnóstico a respeito das doenças bucais presentes e necessidades de tratamento. Fica ainda assegurado o direito ao sigilo (segredo) de todas as informações coletadas, não sendo permitido acesso por outra pessoa que não o próprio participante e da equipe de pesquisa.

Fica, ainda, assegurada a liberdade dos participantes de se recusarem a participar ou retirarem-se do estudo a qualquer momento que desejarem, sem que isso traga conseqüências negativas ao seu tratamento. Entretanto, é importante lembrar que a pessoa que fumou ou bebeu tem uma chance maior de desenvolver câncer de boca e deve ser examinado periodicamente.

Toda e qualquer dúvida no decorrer do estudo poderá ser esclarecida pela pesquisadora através do telefone (55) 33177317 (Eva Castro Torriani). A pesquisadora envolvida no estudo estará à disposição para esclarecimentos necessários.

Possíveis problemas podem ser reportados diretamente ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM 32209263.

Os dados resultantes desta pesquisa poderão, apenas, ser utilizados para fins científicos. Eles serão armazenados por um período de dois anos, na secretaria de pós-graduação da Faculdade de Odontologia da UFSM (prédio da antiga reitoria, terceiro andar).

Eu, _____ (participante), declaro que fui informado dos objetivos e procedimentos que serão realizados nesta pesquisa, bem como sei dos meus direitos e dos deveres dos pesquisadores.

Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo.

Santa Maria, ____ de _____ de 2011.

Participante: _____

R.G.: _____

ANEXO A – ASSIST (Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test

Nome: _____ Registro _____
 Entrevistador: _____ DATA: ____/____/____

ASSIST - OMS

1. Na sua vida qual(is) dessa(s) substâncias você já usou? (somente uso não prescrito pelo médico)	NÃO	SIM
a. derivados do tabaco	0	3
b. bebidas alcoólicas	0	3
c. maconha	0	3
d. cocaína, crack	0	3
e. anfetaminas ou éxtase	0	3
f. inalantes	0	3
g. hipnóticos/sedativos	0	3
h. alucinógenos	0	3
i. opióides	0	3
j. outras, especificar	0	3

- SE "NÃO" em todos os itens investigue:
Nem mesmo quando estava na escola?
- Se "NÃO" em todos os itens, pare a entrevista
- Se "SIM" para alguma droga, continue com as demais questões

3. Durante os três últimos meses, com que frequência você teve um forte desejo ou urgência em consumir? (primeira droga, segunda droga, etc.)	NUNCA	1 OU 2 VEZES	MENSALMENTE	SEMANALMENTE	DIARIAMENTE OU QUASE TODOS OS DIAS
a. derivados do tabaco	0	3	4	5	6
b. bebidas alcoólicas	0	3	4	5	6
c. maconha	0	3	4	5	6
d. cocaína, crack	0	3	4	5	6
e. anfetaminas ou éxtase	0	3	4	5	6
f. inalantes	0	3	4	5	6
g. hipnóticos/sedativos	0	3	4	5	6
h. alucinógenos	0	3	4	5	6
i. opióides	0	3	4	5	6
j. outras, especificar	0	3	4	5	6

NOMES POPULARES OU COMERCIAIS DAS DROGAS

- a. produtos do tabaco (cigarro, charuto, cachimbo, fumo de corda)
- b. bebidas alcóolicas (cerveja, vinho, champagne, licor, pinga uisque, vodca, vermouthes, caninha, rum tequila, gin)
- c. maconha (baseado, erva, liamba, diamba, birra, fuminho, fumo, mato, bagulho, pango, manga-rosa, massa, haxixe, skank, etc)
- d. cocaína, crack (coca, pó, branquinha, nuvem, farinha, neve, pedra, caximbo, brilho)
- e. estimulantes como anfetaminas (bolinhas, rebites, bifetamina, moderina, MDMA)
- f. inalantes (solventes, cola de sapateiro, tinta, esmalte, corretivo, verniz, tinner, clorofórmio, tolueno, gasolina, éter, lança perfume, cheirinho da loló)
- g. hipnóticos, sedativos (ansiolíticos, tranquilizantes, barbitúricos, fenobarbital, pentobarbital, benzodiazepínicos, diazepam)
- h. alucinógenos (LSD, chá-de-lirio, ácido, passaporte, mescalina, peiote, cacto)
- i. opiáceos (morfina, codeína, ópio, heroína elixir, metadona)
- j. outras – especificar.

QUESTIONÁRIO PARA TRIAGEM DO USO DE ÁLCOOL, TABACO E OUTRAS SUBSTÂNCIAS.

2. Durante os três últimos meses, com que frequência você utilizou essa(s) substância(s) que mencionou? (primeira droga, depois a segunda droga, etc)	NUNCA	1 OU 2 VEZES	MENSALMENTE	SEMANALMENTE	DIARIAMENTE OU QUASE TODOS OS DIAS
a. derivados do tabaco	0	2	3	4	6
b. bebidas alcoólicas	0	2	3	4	6
c. maconha	0	2	3	4	6
d. cocaína, crack	0	2	3	4	6
e. anfetaminas ou éxtase	0	2	3	4	6
f. inalantes	0	2	3	4	6
g. hipnóticos/sedativos	0	2	3	4	6
h. alucinógenos	0	2	3	4	6
i. opióides	0	2	3	4	6
j. outras, especificar	0	2	3	4	6

- Se "NUNCA" em todos os itens da questão 2 pule para a questão 6, com outras respostas continue com as demais questões

4. Durante os três últimos meses, com que frequência o seu consumo de (primeira droga, depois a segunda droga, etc) resultou em problema de saúde, social, legal ou financeiro?	NUNCA	1 OU 2 VEZES	MENSALMENTE	SEMANALMENTE	DIARIAMENTE OU QUASE TODOS OS DIAS
a. derivados do tabaco	0	4	5	6	7
b. bebidas alcoólicas	0	4	5	6	7
c. maconha	0	4	5	6	7
d. cocaína, crack	0	4	5	6	7
e. anfetaminas ou éxtase	0	4	5	6	7
f. inalantes	0	4	5	6	7
g. hipnóticos/sedativos	0	4	5	6	7
h. alucinógenos	0	4	5	6	7
i. opióides	0	4	5	6	7
j. outras, especificar	0	4	5	6	7

5. Durante os três últimos meses, com que frequência, por causa do seu uso de (primeira droga, depois a segunda droga, etc), você deixou de fazer coisas que eram normalmente esperadas de você?

	NUNCA	1 OU 2 VEZES	MENSALMENTE	SEMANALMENTE	DIARIAMENTE OU QUASE TODOS OS DIAS
a. derivados do tabaco	0	5	6	7	8
b. bebidas alcoólicas	0	5	6	7	8
c. maconha	0	5	6	7	8
d. cocaína, crack	0	5	6	7	8
e. anfetaminas ou êxtase	0	5	6	7	8
f. inalantes	0	5	6	7	8
g. hipnóticos/sedativos	0	5	6	7	8
h. alucinógenos	0	5	6	7	8
i. opióides	0	5	6	7	8
j. outras, especificar	0	5	6	7	8

• **FAÇA as questões 6 e 7 para todas as substâncias mencionadas na questão 1**

6. Há amigos, parentes ou outra pessoa que tenha demonstrado preocupação com seu uso de (primeira droga, depois a segunda droga, etc...)?

	NÃO, Nunca	SIM, nos últimos 3 meses	SIM, mas não nos últimos 3 meses
a. derivados do tabaco	0	6	3
b. bebidas alcoólicas	0	6	3
c. maconha	0	6	3
d. cocaína, crack	0	6	3
e. anfetaminas ou êxtase	0	6	3
f. inalantes	0	6	3
g. hipnóticos/sedativos	0	6	3
h. alucinógenos	0	6	3
i. opióides	0	6	3
j. outras, especificar	0	6	3

7. Alguma vez você já tentou controlar, diminuir ou parar o uso de ((primeira droga, depois a segunda droga, etc...)) e não conseguiu?

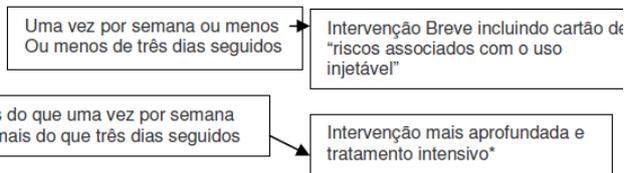
	NÃO, Nunca	SIM, nos últimos 3 meses	SIM, mas não nos últimos 3 meses
a. derivados do tabaco	0	6	3
b. bebidas alcoólicas	0	6	3
c. maconha	0	6	3
d. cocaína, crack	0	6	3
e. anfetaminas ou êxtase	0	6	3
f. inalantes	0	6	3
g. hipnóticos/sedativos	0	6	3
h. alucinógenos	0	6	3
i. opióides	0	6	3
j. outras, especificar	0	6	3

Nota Importante: Pacientes que tenham usado drogas injetáveis nos últimos 3 meses devem ser perguntados sobre seu padrão de uso injetável durante este período, para determinar seus níveis de risco e a melhor forma de intervenção.

8- Alguma vez você já usou drogas por injeção? (Apenas uso não médico)

NÃO, nunca	SIM, nos últimos 3 meses	SIM, mas não nos últimos 3 meses

Guia de Intervenção para Padrão de uso injetável



PONTUAÇÃO PARA CADA DROGA

	Anote a pontuação para cada droga. SOME SOMENTE das Questões 2, 3, 4, 5, 6 e 7	Nenhuma intervenção	Receber Intervenção Breve	Encaminhar para tratamento mais intensivo
Tabaco		0-3	4-26	27 ou mais
Alcool		0-10	11-26	27 ou mais
Maconha		0-3	4-26	27 ou mais
Cocaína		0-3	4-26	27 ou mais
Anfetaminas		0-3	4-26	27 ou mais
Inalantes		0-3	4-26	27 ou mais
Hipnóticos/sedativos		0-3	4-26	27 ou mais
Alucinógenos		0-3	4-26	27 ou mais
Opióides		0-3	4-26	27 ou mais

Cálculo do escore de envolvimento com uma substância específica.
 Para cada substância (de 'a' a 'j') some os escores obtidos nas questões 2 a 7 (inclusive).
 Não inclua os resultados das questões 1 e 8 aqui.
 Por exemplo, um escore para maconha deverá ser calculado do seguinte modo: Q2c + Q3c + Q4c + Q5c + Q6c + Q7c.
 Note que Q5 para tabaco não é codificada, sendo a pontuação para tabaco = Q2a + Q3a + Q4a + Q6a + Q7a

ANEXO B – Técnica citoquímica de AgNOR

Esta técnica de AgNOR foi desenvolvida baseada na técnica descrita por Ploton et al (1986) e seguiu os seguintes passos:

- Fixação em álcool etílico 96°
- Desidratação com álcool etílico absoluto
- Pós-fixação em uma mistura de álcool etílico-ácido acético (solução 3:1) por 10 minutos
- Lavagem em água destilada
- Impregnação pela Prata, gotejando a solução coloidal sobre os cortes colocados em câmara úmida fechada e lavados a estufa por 20 minutos a 35°C. A solução colóide de Prata deve ser preparada na hora de uso pela dissolução de 2% de gelatina em solução aquosa de ácido fórmico a 1%, misturado numa proporção de 1:2 partes com solução aquosa de nitrato de Prata em concentração de 50%.
Para 16 lâminas: 10ml de água + 0,2g de gelatina + 100µl de ácido fórmico + 20ml de água + 10g de AgNO₃
- Duas lavagens em água destilada aquecida a 35°C, para facilitar a remoção da gelatina e uma em água destilada na temperatura ambiente.
- Desidratação em três banhos de álcool etílico absoluto
- Clareamento em xilol
- Montagem em Permount (Fisher ChemAlert®).

A técnica foi adaptada para citologia por Isabel Lauxen e Márcia Oliveira.

Laboratório de Patologia Bucal – Faculdade de Odontologia da UFRGS Fone: (51) 3308-5023.

ANEXO C – Carta de aprovação no Comitê de Ética.

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFSM REGISTRO CONEP: 243</p> 
--	---

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Avaliação da mucosa bucal em pacientes usuários de crack

Número do processo: 23081.000200/2011-76

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0397.0.243.000-11

Pesquisador Responsável: Juliana Rodrigues Praetzel

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Abril/2012- Relatório final

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO: 15/04/2011

Santa Maria, 18 de Abril de 2011



Félix A. Antunes Soares
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa-UFSM
Registro CONEP N. 243.