

Análise do efeito genotóxico do consumo de álcool, pelo teste de micronúcleos em estudantes da Universidade Cesumar, polo Ponta Grossa

Analysis of the genotoxic effect of alcohol consumption, using the micronucleus test in students at Cesumar University, Ponta Grossa

Análisis del efecto genotóxico del consumo de alcohol, mediante la prueba de micronúcleos en estudiantes de la Universidad Cesumar, Ponta Grossa

Recebido: 22/12/2024 | Revisado: 26/12/2024 | Aceitado: 26/12/2024 | Publicado: 03/01/2025

Bruna Meller Schmidt

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-4233-939X>

Universidade Cesumar, Brasil

E-mail: bmellerschmidt@gmail.com

Michele Andressa Vier Wolski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-0626>

Universidade Cesumar, Brasil

E-mail: michele.wolski@unicesumar.edu.br

Resumo

A exposição a substâncias genotóxicas, tais como o álcool, podem ocasionar danos no DNA genômico, levando aos mais diversos tipos de alterações celulares. Os micronúcleos são fragmentos de DNA que se separam do núcleo resultando em instabilidade celular. A sua presença pode estar associada com diversas doenças, como diversos tipos de câncer, Alzheimer e AIDS. Por esse motivo, e considerando o elevado consumo de álcool por estudantes universitários, o objetivo deste trabalho é estudar quantitativa e qualitativamente a presença de micronúcleos nas células e sua relação com o álcool, através do teste de micronúcleos em estudantes da Unicesumar. Foi elaborado um questionário baseado no teste de AUDIT para selecionar através dos hábitos de vida os candidatos adequados para este estudo é dividido os selecionados em dois grupos, 15 pessoas no grupo exposto e 15 no grupo controle. Após coleta de material biológico, mucosa oral, foi feita a análise microscópica e estatística dessa anomalia, através do teste de Tukey. Após análise foi possível observar a relação direta que o álcool, assim como outros agentes genotóxicos possuem com as mutações ocorridas nos núcleos das células da mucosa oral. Este trabalho envolve pesquisa com seres humanos e, portanto, foi aprovado pelo comitê de ética segundo o Certificado de Apresentação e Apreciação Ética (CAAE): 59946422.1.0000.5539.

Palavras-chave: Agentes genotóxicos; Alterações metanucleares; Citogenética.

Abstract

The exposure to genotoxic substances, such as alcohol, can cause damage to genomic DNA, leading to various types of cellular alterations. The Micronuclei are DNA fragments that are separated of the nucleus resulting in cellular instability. Their presence may be associated with several diseases, such as various types of cancer, Alzheimer's and AIDS. For this reason, and considering the high consumption of alcohol by university students, the objective of this project is to study quantitatively and qualitatively the presence of micronuclei in cells and their relationship with alcohol, through the micronucleus test in students of Unicesumar. A questionnaire was elaborated based on the AUDIT test to select through life habits the appropriate candidates for this study and divided in two groups, 15 people in the exposed group and 15 in the control group. After the collection of biological material, oral mucosa, microscopic and statistical analysis of this anomaly was performed, through the Tukey test. After analysis, it was possible to observe the direct relationship that alcohol, as well as other genotoxic agents have with the mutations that occurred in the nuclei of the cells of the oral mucosa. This project involves research with human beings and, therefore, was approved by the ethics committee according to the Certificate of Presentation and Ethical Appreciation (CAAE): 59946422.1.0000.5539.

Keywords: Genotoxic agents; Metanuclear changes; Cytogenetics.

Resumen

La exposición a sustancias genotóxicas, como el alcohol, puede provocar daños en el ADN genómico, provocando los más diversos tipos de cambios celulares. Los micronúcleos son fragmentos de ADN que se separan del núcleo provocando inestabilidad celular. Su presencia puede estar asociada con varias enfermedades, como diferentes tipos de cáncer, Alzheimer y SIDA. Por tal motivo, y considerando el alto consumo de alcohol por parte de estudiantes

universitarios, el objetivo de este proyecto es estudiar cuantitativa y cualitativamente la presencia de micronúcleos en las células y su relación con el alcohol, a través del test de micronúcleos en estudiantes de Unicesumar. Se elaboró un cuestionario basado en la prueba AUDIT para seleccionar candidatos idóneos para este estudio a través de hábitos de vida y los seleccionados se dividieron en dos grupos, 15 personas en el grupo expuesto y 15 en el grupo control. Luego de recolectar material biológico, mucosa oral, se realizó análisis microscópico y estadístico de esta anomalía mediante la prueba de Tukey. Tras el análisis, se pudo observar la relación directa que tienen el alcohol, así como otros agentes genotóxicos, con las mutaciones que se producen en los núcleos de las células de la mucosa oral. Este proyecto involucra investigaciones con seres humanos y, por lo tanto, fue aprobado por el comité de ética según el Certificado de Presentación y Apreciación Ética (CAAE): 59946422.1.0000.5539.

Palabras clave: Agentes genotóxicos; Cambios metanucleares; Citogenética.

1. Introdução

Algumas substâncias têm o poder de causar alterações diretamente no DNA das células, o que pode levar ao surgimento de diversas doenças, o nome disso é genotoxicidade (Kolling, 2006). Pessoas sensibilizadas geneticamente por agentes genotóxicos tais como radiações, drogas e vírus, podem apresentar danos no DNA genômico, levando aos mais diversos tipos de alterações celulares. Entre estas alterações se destaca a micronucleação (Andrade & Campos, 2020; Barbon et al., 2014; Martins & Filho, 2003).

O álcool representa cerca de 5,3% de todas as mortes, sendo mais comum na população masculina. Com isso, um dos objetivos da Organização Mundial da Saúde (OMS) é reduzir os problemas causados pelo consumo excessivo do álcool, para isso foi desenvolvido o Sistema Mundial de Informações sobre o álcool e a Saúde (GISAH). O álcool é considerado um agente genotóxico, pois pode ocasionar erros durante a divisão celular, isso em células com elevadas taxas mitóticas, gerando lesões pré-neoplásicas e alterando seu padrão original de replicação (Álcool - OPAS/OMS, 2020; Diaz et al., 2013; Faria & Braga, 2015; Miranda et al., 2024). O composto resultante da metabolização do álcool, o acetaldeído, é descrito por possibilitar o aumento da passagem de carcinógenos pelas membranas celulares, solubilizando as mesmas e permitindo a entrada de substâncias potencialmente genotóxicas nas células (Homann et al., 1997).

Efeitos genotóxicos relacionados à exposição a diversos fatores de risco para o câncer oral têm sido investigados. Para tal, uma das metodologias mais utilizadas, descrita por Stich, Curtis e Parida em 1982, é o Teste de Micronúcleo (MN) em células esfoliadas. Estes Micronúcleos, são estruturas conhecidas como indicadoras de danos cromossômicos, por tanto são descritos como excelentes marcadores biológicos de risco de câncer por diversos autores. Além disso, sua efetividade na avaliação de efeitos genotóxicos tem sido validada (Holland et al., 2008; Torres et al., 2023).

Segundo o trabalho publicado por Maciel, et al. (2019), o uso de álcool e fumo levou a um aumento de 0,01 na presença de micronúcleos com relação ao grupo controle. A vantagem deste método de análise é a possibilidade de verificar, in vivo, a mucosa que está simultaneamente sendo exposta a agentes carcinógenos, e antioxidantes, possibilitando mensurar de forma rápida a frequência de alterações no núcleo da célula. Além disso, o micronúcleo surge após o dano, antes mesmo de qualquer alteração pré-maligna clínica (Setúbal et al., 2005).

Micronúcleos são fragmentos de cromossomos que não se juntam ao núcleo durante a fase de divisão celular (Dietz et al., 2000; Torres et al., 2023); uma mutação muito estudada na citogenética, que por esse motivo pode ser facilmente analisada e auxiliar no diagnóstico precoce de doenças como AIDS, Alzheimer e diversos tipos de cânceres (Barbon et al., 2014; Torres et al., 2023).

A identificação de alterações genéticas é uma importante medida de prevenção do câncer, uma vez que estas alterações ocorrem antes da manifestação de qualquer sintoma clínico da doença. Por tanto, este artigo visa entender de forma mais aprofundada o surgimento de micronúcleos na mucosa oral de estudantes, no polo de Ponta Grossa da Unicesumar, analisando artigos científicos e produzindo uma pesquisa prática, respaldada pelo Conselho de Ética.

2. Metodologia

2.1 Local de estudo

O estudo foi realizado com indivíduos voluntários, estudantes da Unicesumar-PG na cidade de Ponta Grossa, Paraná. As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório de microscopia da mesma instituição.

2.2 Amostragem e caracterização das amostras

Foram enquadrados na amostragem estudantes na faixa etária entre 18 e 50 anos, sem exclusão de gênero, selecionados a partir de um questionário elaborado e baseado no teste AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test), padronizado pela OMS (Organização Mundial de Saúde) (Babor et al., 2001). Este questionário foi divulgado em meio on-line, e foi preenchido pelo formulário Google.

A amostra foi caracterizada pela aplicação de questionário contendo indagações a respeito de: idade; sexo; hábito de fumar; exposição à radiação e a outros genotóxicos; hábitos para o consumo de bebidas alcoólicas. Como critérios de exclusão, foram retirados aqueles indivíduos com lesões visíveis na boca, que informaram exposição à genotóxicos, assim como, aqueles com consumo menor que 12 doses/semana. Todos os outros participantes da pesquisa que não obedeceram aos critérios de exclusão foram incluídos.

Após o preenchimento do questionário, os estudantes elegíveis foram subdivididos em dois grupos distintos, com igual número de indivíduos cada: 15 etilistas ou grupo exposto (consumo de 12 unidades ou mais nas últimas duas semanas, onde cada unidade equivale a 1 copo de cerveja ou chopp, 1 taça de vinho ou ½ dose de bebida destilada), e 15 abstêmios que não possuem os hábitos para o consumo de bebidas alcoólicas (grupo- controle).

2.3 Extração do material biológico

A coleta de células esfoliadas da mucosa oral, para estudo citológico, foi realizada segundo Thomas et al. (2008), sendo feita uma raspagem gentil da mucosa oral com escova tipo citobrush esfregado na parte interior da bochecha, borda lateral da língua, lábio inferior e palato. Para cada indivíduo coletou-se células para a confecção de quatro lâminas de material esfoliativo.

O material coletado foi imediatamente transferido por esfregado para uma lâmina de vidro previamente limpa, com uma gota de soro fisiológico (NaCl a 0,9%). As lâminas com o material coletado, secas à temperatura ambiente, foram fixadas em solução de metanol/ácido acético na concentração de 3/1. Transcorridas 24 horas fez-se a hidrólise em solução de ácido clorídrico (5N) por 15 minutos, seguindo-se lavagem em água destilada por três vezes. A coloração das lâminas foi feita com Álcool 80% e 50% e Orceína.

2.4 Teste do micronúcleo

Para a análise do efeito genotóxico, a detecção dos micronúcleos foi feita em um microscópio óptico em aumento de 100x e iluminação simples. Toda a análise citológica foi em teste cego em relação aos dados obtidos no questionário.

O total de 1000 células por indivíduo foram analisadas segundo os critérios de identificação de micronúcleo descritos por Tolbert, Shy e Allen (1991; 1992): sendo considerados micronúcleos estruturas arredondadas e distintamente separadas do núcleo, com limites bem definidos, medindo de 1/3 a 1/5 do tamanho do núcleo, apresentando em relação à este, estrutura cromatínica e coloração similar e visualizados no mesmo plano. Também foram computadas células com alterações nucleares degenerativas indicativas de apoptose: cariorréxis, cromatina condensada e picnose. Foram avaliadas somente as células visivelmente normais e distintas entre si, observando a presença ou não de micronúcleos ou alterações nucleares em seu citoplasma.

2.5 Análise estatística

Um banco de dados com as informações colhidas em questionário e com os resultados da análise citológica foi montado em planilhas utilizando o Excel®, assim como, utilizado o teste de Tukey para comparação das variáveis entre o grupo exposto e grupo- controle, com nível de significância de $p= 0,05$.

2.6 Aspectos éticos da pesquisa

Este artigo envolve pesquisa com Seres Humanos e, portanto, foi enviado para análise no site da Plataforma Brasil e posteriormente analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Aprovação pelo comitê de ética segundo o Certificado de Apresentação e Apreciação Ética (CAAE) no 59946422.1.0000.5539. Este projeto só teve dados coletados após a sua aprovação pelo CEP.

A metodologia a ser aplicada para obtenção das células da mucosa oral não é um procedimento invasivo (raspagem superficial da mucosa). E a mesma foi realizada com material descartável que não oferece risco de lesão ou contaminação dos indivíduos da amostra.

Todos os participantes dos grupos amostrais foram esclarecidos a respeito da pesquisa e tiveram liberdade para participar ou desistir no momento que lhes fosse conveniente. Aqueles que concordarem em participar do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os dados dos participantes da pesquisa foram mantidos em sigilo e todas as informações contidas nos formulários, utilizadas somente pelos pesquisadores responsáveis.

3. Resultados e Discussão

Para selecionar o grupo amostral foi feito um formulário através do google e disponibilizado de forma on-line entre os estudantes da Universidade Cesumar. Este formulário obteve 78 respostas das quais 30 se encaixavam nos critérios de participação da pesquisa e permitiram coleta de material biológico.

As células da mucosa oral são expostas constantemente a agentes agressores, com isso torna-se necessário minimizar a quantidade de agentes genotóxicos ingeridos e inalados para que o resultado da pesquisa seja o mais fidedigno possível (Carrard et al., 2017).

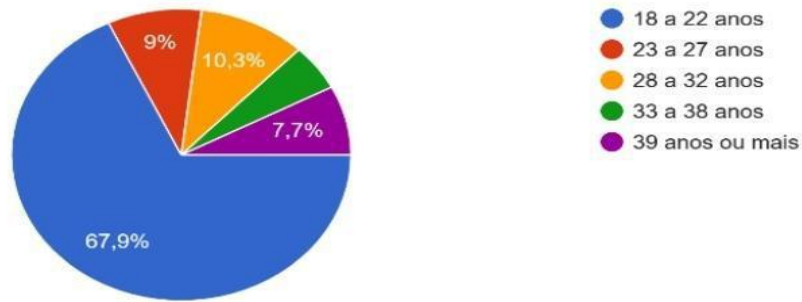
Das 78 respostas 75,6% eram mulheres e apenas 24,4% homens (Gráfico 1), a maioria, 67,9% com idade entre 18 a 22 anos (Gráfico 2), 78,2% sem o hábito de fumar e 65,4% com o hábito de ingerir bebidas alcoólicas (Gráficos 3 e 4). Participaram da pesquisa indivíduos dos mais diversos cursos disponibilizados pela faculdade, dentre eles, os principais foram: Biomedicina, Agronomia, Engenharias e Psicologia.

Gráfico 1 - Resposta do formulário com relação ao gênero dos participantes.



Fonte: Autoria própria (2022).

Gráfico 2 - Resposta dos participantes com relação a idade.



Fonte: Autoria própria (2022).

Esta pesquisa utilizou como base o teste AUDIT, com isso, os indivíduos foram divididos em dois grupos com base na frequência e quantidade da ingestão de bebidas alcoólicas.

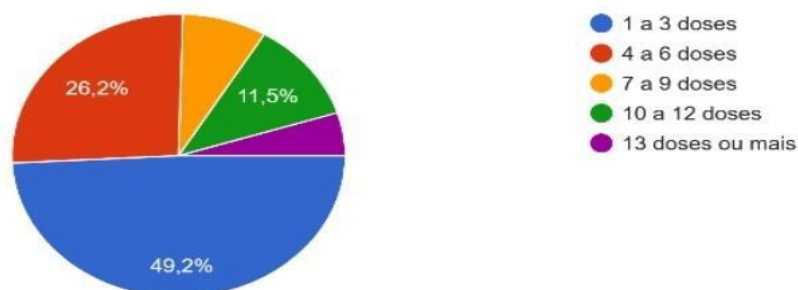
Durante o período de 2020 a 2022 ocorreu a pandemia do vírus SARS-Cov e com ela circularam na internet diversas notícias falsa com relação a influência do consumo de bebidas alcoólicas no enfraquecimento no vírus, fazendo que com o consumo aumentasse e influenciando também no psicológico dos indivíduos, entretanto já é possível afirmar que o mesmo pode prejudicar a resposta imunológica dos seres humanos, ocasionando ainda mais infecções (Garcia et al., 2020).

Gráfico 3 - Respostas dos participantes quanto ao hábito de ingerir bebidas alcoólicas.



Fonte: Autoria própria (2022).

Gráfico 4 - Respostas dos participantes com relação a quantidade de doses ingeridas.

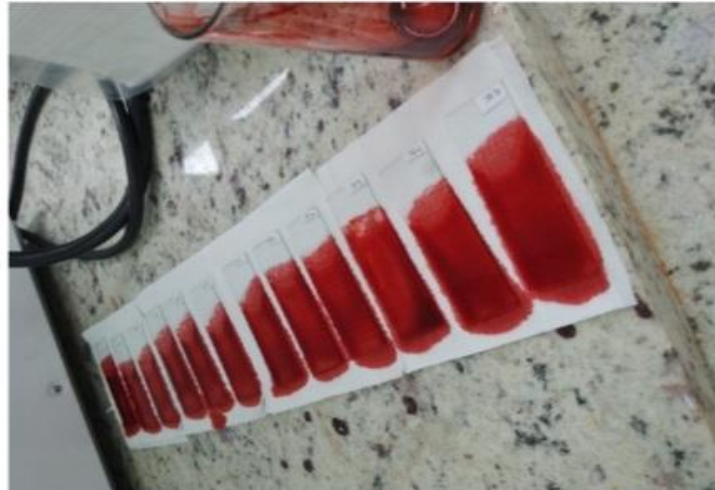


Fonte: Autoria própria (2022).

Ainda neste formulário do google foi questionado com relação a coleta de material biológico, 74,4% permitiram a coleta, 16,7% não permitiram e conseqüentemente não participaram da pesquisa e 9% não souberam informar e gostariam de conhecer mais a pesquisa para responder a esta pergunta. Das pessoas que permitiram coleta, apenas 82,1% gostariam de saber o resultado do teste de micronúcleos.

Após selecionado o grupo amostral foi feita a coleta do material e corado as lâminas com Orceína e feito o teste de micronúcleos (Figura 1).

Figura 1 - Coloração das lâminas com Orceína.



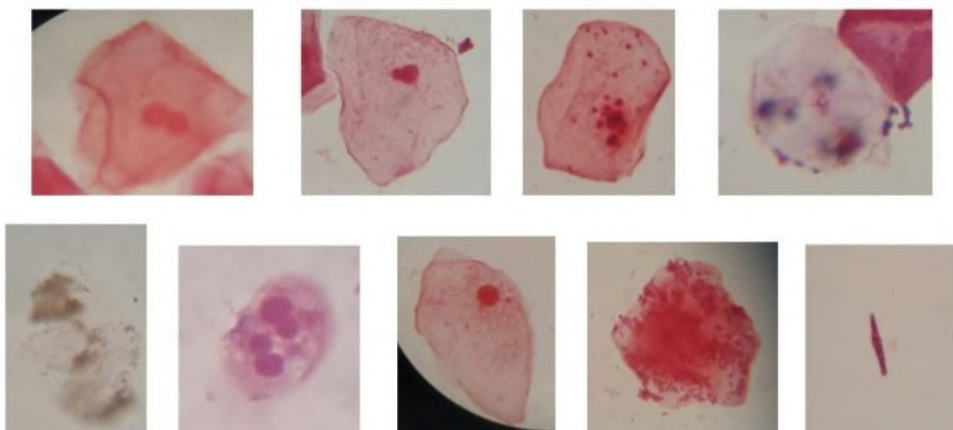
Fonte: Arquivo das autoras (2022).

O teste de Micronúcleos é feito manualmente através de análise microscópica das lâminas e contado a quantidade de células normais e com mutação. As células possuem agentes clastogênicos, que promovem quebra cromossômica e aneugênicos, que interferem no fuso mitótico; esses agentes são um dos responsáveis pelas mutações ocorridas nas células e estudadas nesse artigo. Caso essas mutações sejam em células somáticas, pode ocorrer uma neoplasia (Carrard et al., 2017).

Foi observado algumas alterações celulares durante o exame, dentre elas: binucleação, brotamento, polinucleação, células sem núcleos, morte celular, tetranuclear e micronúcleos, além de alterações externas como quantidade de bactérias e fungos, apresentadas na Figura 2.

A presença dessas células significa que houve exposição a agentes genotóxicos a cerca de 1-3 semanas antes da obtenção dos esfregaços, assim como aponta o artigo “Teste de Micronúcleos – Um biomarcador de dano genotóxico em células descamadas da mucosa oral”, com isso é possível observar uma influência de 80% do estilo de vida sob essas alterações (Carrard et al., 2017).

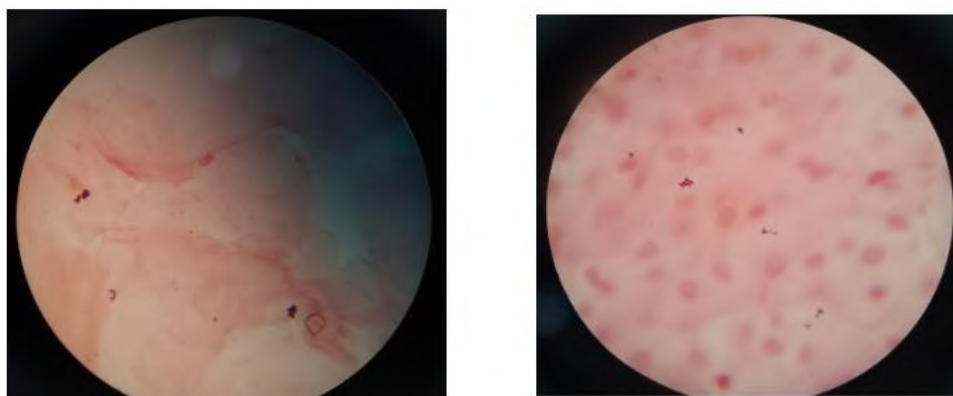
Figura 2 - Alterações morfológicas celulares encontradas.



Fonte: Arquivo das autoras (2022).

Por ser um exame manual, além do tempo necessário para ser feito é de extrema importância que o profissional seja qualificado para essa análise, para minimizar erros. Por ser feito através de esfregaço em lâminas, pode ocorrer uma difícil visualização, devido a coloração ou até mesmo agrupados de células, visualizado na Figura 3. Com isso, torna-se importante a padronização de protocolos de análise e a comparação dos resultados entre diferentes estudos, com o objetivo de encontrar as fontes de variação dos resultados (Carrard et al., 2017).

Figura 3 - Agrupados de células ocasionados em decorrência dos esfregaços.



Fonte: Arquivo das autoras (2022).

Estas instabilidades genéticas, os micronúcleos, assim como, outras alterações nucleares têm sido cada vez mais observadas relacionadas a outras doenças, como diversos tipos de câncer, Alzheimer e AIDS. Por ser um local com bastante renovação celular, a mucosa oral pode apresentar mais ou menos incidência de mutações de acordo com a exposição a substâncias genotóxicas (Andrade & Campos, 2020; Barbon, 2014; Vieira et al., 2015).

Por se tratar de um exame considerado simples é possível utilizá-lo na prevenção de doenças quando feito de forma rotineira em clínicas, associado a outros exames (Barbon, 2014).

Após a análise individual de cada participante da pesquisa, torna-se necessário analisar as proporções de mutações entre ensaios. Para tanto, realizaram-se cálculos para definição da proporção das alterações nucleares e celulares formadas, perante a quantidade de células analisadas.

Na avaliação da genotoxicidade, além das características celulares, também são calculados e comparados as médias de cada alteração celular dos grupos controle e exposto, que pelo teste estatístico (One-Way ANOVA seguido do teste de Tukey) com nível de significância fixado em $p \leq 0.05$; verifica-se que houve diferença significativa das células com mutação entre o grupo controle e exposto ($t = 6,05 \times 10^{-9}$).

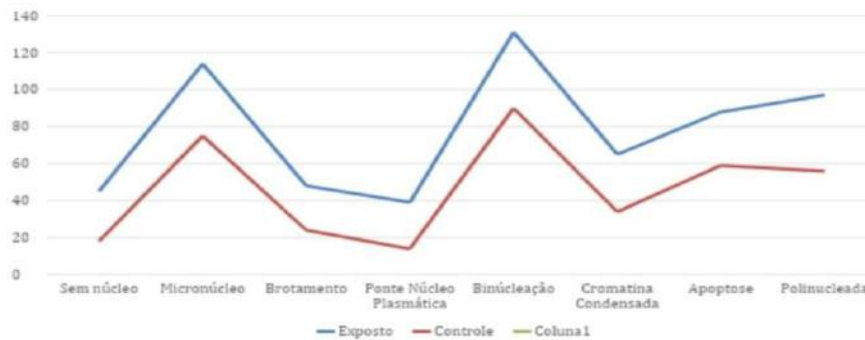
Os achados das alterações nucleares demonstraram que em todos os grupos analisados houve presença de algum tipo de alteração. Os resultados do Gráfico 5 mostram que, desse total, a alteração que apresentou maior frequência foi a binucleação, com 21% do total de alterações nucleares no grupo exposto e 14% no grupo controle. Esta grande discrepância observada, é estatisticamente significativa no teste de Tukey ($t = 0,039$), a 5% de probabilidade de erro. Seguido da presença de micronúcleos no grupo exposto (18%) e grupo controle (12%), sendo esta uma diferença estatisticamente significativa ($T = 0,01$; $p \leq 0.05$).

As células binucleadas são células que apresentam dois núcleos principais, dispostos com certa proximidade, podendo estar unidos, apresentando tanto morfologia como coloração semelhantes a um núcleo normal (Faria & Braga, 2015).

Com nível de significância fixado em $p \leq 0.05$; verifica-se que houve diferença significativa das células com as demais alterações encontradas, comparando ambos os grupos controle e exposto. Sendo estas, respectivamente organizadas de maior

para menor frequência, células polinucleadas ($t= 3,6 \times 10^{-2}$), apoptose ($t= 3,4 \times 10^{-2}$), cromatina condensada ($t= 0,03$), brotamento ($t= 0,014$), sem núcleo ($t= 0,02$) e pontes cromossômicas ($t= 3,7 \times 10^{-2}$) (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Análise comparativa entre as frequências de alterações nucleares, obtidas entre todos os tratamentos controles e expostos.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os resultados obtidos neste estudo indicam uma clara associação entre o consumo de álcool e a presença de micronúcleos nas células da mucosa oral dos estudantes universitários analisados. Observamos que o grupo exposto ao álcool apresentou uma frequência significativamente maior de micronúcleos (18%) em comparação ao grupo controle (12%), conforme destacado pelo teste estatístico de Tukey ($p \leq 0.05$). Este achado é consistente com pesquisas anteriores que identificaram o álcool como um agente genotóxico, capaz de causar danos ao DNA durante a divisão celular (Homann et al., 1997; Miranda et al., 2024).

Os resultados deste estudo corroboram com achados prévios que indicam o efeito genotóxico do álcool. Maciel et al. (2019) demonstraram que o uso de álcool e tabaco aumentou significativamente a presença de micronúcleos em células esfoliativas da mucosa oral, com um aumento de 0,01 na presença de micronúcleos em relação ao grupo controle. Esse achado é consistente com os dados obtidos no presente estudo, que também observou uma maior frequência de micronúcleos no grupo exposto ao álcool. Isso sugere que o álcool, isoladamente ou em combinação com outros fatores genotóxicos, pode levar a danos significativos no DNA celular.

Outro estudo relevante é o de Carrard et al. (2017), que validou o teste de micronúcleo como um biomarcador eficaz de dano genotóxico em células da mucosa bucal. A pesquisa indicou que a exposição a agentes genotóxicos, como o álcool, está associada a um aumento significativo na frequência de micronúcleos, reforçando a ideia de que a presença desses fragmentos nucleares é um indicativo confiável de danos cromossômicos. No presente estudo, foi utilizado o mesmo teste de micronúcleos, obtendo-se resultados similares que confirmam a validade deste método de análise.

Além dos micronúcleos, outras alterações nucleares, como binucleação, brotamento e polinucleação, foram observadas com maior frequência no grupo exposto. A binucleação foi a alteração mais prevalente, presente em 21% das células no grupo exposto, contra 14% no grupo controle. Faria e Braga (2015) discutem como esses tipos de alterações nucleares são frequentemente observados em células expostas a agentes genotóxicos, incluindo o álcool. Eles destacam que a binucleação é um sinal de interferência no processo de divisão celular, o que pode levar à instabilidade genômica e, potencialmente, ao desenvolvimento de neoplasias. Os resultados deste estudo mostraram uma frequência significativamente maior dessas alterações no grupo exposto, apoiando as conclusões de Faria e Braga.

Garcia et al. (2020) realizaram um estudo durante a pandemia de COVID-19 que abordou o aumento do consumo de álcool e suas consequências na saúde. Eles encontraram uma relação direta entre o aumento da ingestão de bebidas alcoólicas e

a elevação de danos celulares, incluindo a genotoxicidade. Este estudo é particularmente relevante para o contexto atual, onde observou-se que mudanças nos hábitos de consumo de álcool devido à pandemia também podem ter contribuído para os danos genotóxicos observados na amostra.

Por fim, o estudo de Holland et al. (2008) no projeto HUMN destacou a importância do ensaio de micronúcleo em células da mucosa bucal como uma ferramenta eficaz para biomonitoramento de danos ao DNA. Eles concluíram que a frequência de micronúcleos é um indicador robusto de exposição a agentes genotóxicos. Os dados deste estudo, que mostraram uma relação direta entre o consumo de álcool e o aumento de micronúcleos, estão em concordância com esses achados, sublinhando a utilidade do teste de micronúcleos para detectar danos genotóxicos em populações expostas a álcool.

Em relação aos dados apresentados, pode-se observar que as amostras empregadas ao grupo em que há o consumo regular de álcool, demonstraram significativa taxa de dano citológico.

Apesar de tais discrepâncias, não se pode afirmar que o aumento na frequência de micronúcleos indica a possibilidade de transformação maligna, uma vez que a técnica não permite avaliar a importância dos fragmentos quebrados para a linhagem celular avaliada. Também não é possível afirmar se o DNA presente no micronúcleo pode ou não ser transcrito. Entretanto, caso ocorra a exposição sucessiva a agentes genotóxicos, a capacidade de reparo do organismo fatalmente será excedida, levando a eventos degenerativos capazes de gerar morte celular ou danos cumulativos no sentido da transformação maligna (Homann et al., 1997).

Portanto, analisando os ensaios como um todo, tendo em vista que amostras do controle negativo, em que não há o consumo regular de álcool, também apresentou alterações nucleares, pode-se afirmar que as mutações podem ocorrer também de forma natural, sem a ação de agentes genotóxicos.

4. Conclusão

O álcool possui forte efeito genotóxico nas células, aumentando a instabilidade genômica se ingerido em maiores quantidades. Durante a pandemia do Covid-19 aumentou os níveis de ingestão de bebidas alcoólicas, desencadeando como consequência diversas outras doenças físicas e mentais.

Foi possível avaliar através do teste de Micronúcleos e do teste estatístico de Tukey a relação entre a ingestão de bebidas alcoólicas com as mutações citogenéticas na mucosa oral.

As análises estatísticas confirmaram a significância das diferenças observadas entre os grupos, reforçando a hipótese de que o consumo de álcool contribui para o aumento de alterações genotóxicas. No entanto, o estudo enfrenta limitações, incluindo o tamanho relativamente pequeno da amostra e possíveis variações na coleta e análise das amostras biológicas. A dependência de análises manuais pode introduzir erros e variações nos resultados, sugerindo a necessidade de padronização dos protocolos de análise.

Os achados deste estudo têm importantes implicações clínicas. A detecção precoce de micronúcleos pode servir como um biomarcador útil na prevenção e no diagnóstico precoce de condições como câncer e outras doenças relacionadas ao dano genotóxico. No entanto, mais pesquisas são necessárias para validar estes achados e explorar a aplicabilidade clínica em populações mais amplas. Além disso, torna-se necessário lembrar que a presença de alterações citoplasmáticas não gera obrigatoriamente doenças. Entretanto devido a exposição exacerbada o organismo pode não conseguir se adaptar às consecutivas lesões, ocasionando maiores problemas futuros.

Futuros estudos devem buscar amostras maiores e incluir métodos automatizados de análise para reduzir possíveis erros humanos. Além disso, a investigação de outras populações e a consideração de fatores adicionais, como dieta e exposição a outros agentes genotóxicos, serão cruciais para uma compreensão mais completa dos efeitos do álcool na genotoxicidade.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Cesumar e o programa ICETI-Unicesumar, instituição onde realizei a pesquisa, por oferecer os recursos, uma bolsa de estudo e o ambiente propício ao desenvolvimento acadêmico, incentivando desde o início do curso a busca pelo conhecimento científico e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e sucesso deste artigo.

Conflitos de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Álcool - OPAS/OMS (2020). Organização Pan-Americana de Saúde. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/alcool>
- Andrade, R. B., & Campos, N. A. (2020). Comparação da frequência de micronúcleos entre indivíduos fumantes e não fumantes: uma revisão sistemática. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*.
- Babor, T. F., Higgins-Biddle, J. C., Saunders, J. B., Monteiro, M. G., & World Health Organization. (2001). AUDIT: the alcohol use disorders identification test: guidelines for use in primary health care (No. WHO/MSD/MSB/01.6 a). World Health Organization.
- Barbon, F. J., et al. (2014). Micronúcleos em Fumantes e Etilistas. *I Med*.
- Carrard, V. C., et al. (2017). Teste dos Micronúcleos - Um Biomarcador de Dano Genotóxico em Células Descamadas da Mucosa Bucal. *Revista da Faculdade de Odontologia*, 48(1/2), 77-81.
- Díaz, A. C., Mora, E. S., & Herrera, A. (2013). Presencia de micronúcleos en células epiteliales de encías, como marcador de inestabilidad cromosomal: Revisión sistemática. *Avances em Odontostomatología*, 29(2), 95-102.
- Dietz, J., et al. (2000). Pesquisa de Micronúcleos na Mucosa Esofágica e sua Relação com Fatores de Risco ao Câncer de Esôfago. *Revista da Associação Médica Brasileira*.
- Faria, L. E. M., & Braga, J. R. M. (2015). Aplicação do Teste de Micronúcleo para Avaliação de Potencial Genotóxico em Epitélio Oral de Estudantes Universitários. *Revista Atualiza Saúde*, 1(1).
- Garcia, L. P., et al. (2020). Consumo de álcool durante a pandemia da COVID-19: uma reflexão necessária para o enfrentamento da situação. *Cadernos de Saúde Pública*.
- Holland, N., et al. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN Project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*, 659, 93-108.
- Homann, N., et al. (1997). High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption: methodological aspects and pathogenetic implications. *Carcinogenesis*, 18(9), 1739-1743.
- Kolling, D. J. (2006). Padronização in vitro da técnica do micronúcleo em células vero para detecção de genotoxicidade. *Resumo de Iniciação Científica na UFSC*.
- Maciel, L. A. M., Silva, D. R., Silva, S. V., Castro, T., Costa, L. S., Trolly, T. S., Goes, I. N. C., Feitosa, S. B., & Sousa, A. L. P. (2019). Determinação da frequência de micronúcleos em células esfoliativas da mucosa oral em indivíduos fumantes e etilistas. *Pubsaude*, 2, a.006. <https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude2.a006>
- Martins, K. F., & Filho, J. B. (2003). Determinação da frequência de micronúcleos e outras alterações nucleares em células da mucosa bucal de indivíduos não-fumantes e fumantes. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas*, 5, 43-53.
- Miranda, L. A., Leal, A. L. M. L., Junior, R. G. dos S., Dias, C. V., Ferreira, I. G. A., Oliveira, N. B. D., Gratão, A. L. S. M., Nobre, B. R. S., Carvalho, R. S. de, Batista, B. R. A., Carvalho, J. M. S. de, Borges, Y. O. O. C., Vial, T. F., Monteiro, P. F. dos S., & Canuto, M. M. de G. (2024). Efeitos carcinogênicos e mutagênicos do consumo de álcool sobre o trato gastrointestinal superior: Uma revisão de literatura. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, 6(5), 415-427. <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n5p415-427>
- Setúbal, A. M. G., Reis, S. R. A., Robinson, W. M., & Borges-Osório, M. R. (2005). Micronúcleo: um importante marcador biológico intermediário na prevenção do câncer bucal. *Revista Odonto Ciência-Faculdade de Odontologia PUCRS*, 20, 137-141.
- Stich, H. F., Curtis, J. R., & Parida, B. B. (1982). Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *International Journal of Cancer*, 30, 553-559.
- Thomas, P., Harvey, S., Gruner, T., & Fenech, M. (2008). The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutation Research*, 638, 37-47.
- Tolbert, P. E., Shy, C. M., & Allen, J. W. (1991). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *American Journal of Epidemiology*, 134, 840-850.

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

Torres, B. O., & Arias, R. L. F. (2023). Micronúcleos: Actualización del papel en la inestabilidad genética, inflamación, envejecimiento y cáncer. Revisión panorámica. *Rev Biomed*. 34(2):208-223.

Vieira, C., Aguiar, Z. S. T., & Souza, F. V. (2015). Tabagismo e sua relação com o câncer bucal: uma revisão de literatura. *Revista Bionorte*, 4(2).