

# Comparação da frequência de micronúcleos entre indivíduos fumantes e não fumantes: uma revisão sistemática

## *Comparison of micronuclei frequency between smokers and non-smokers: a systematic review*

Rodrigo B. Andrade; Nadine Alessandra Campos

Centro Universitário da Serra Gaúcha, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

### RESUMO

**Introdução:** O câncer é o resultado do acúmulo de diversas modificações no material genético, portanto, é possível realizar sua detecção citogenética utilizando biomarcadores. Micronúcleos (MN) têm sido abordados pela literatura como biomarcadores de danos genotóxicos. Esses marcadores fornecem informações sobre alterações biológicas ou bioquímicas em um tecido-alvo ainda de forma precoce, possibilitando um prognóstico favorável. **Objetivo:** Comparar se a frequência de MN em indivíduos fumantes ativos é superior à dos não fumantes. **Material e método:** Realizou-se a busca no Medical Literature Analysis and Retrieval System (PubMed), no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e no Scientific Electronic Library On-line (SciELO) de artigos publicados nos últimos dez anos. Foram selecionados ensaios clínicos randomizados, com delineamento transversal, que compararam a frequência de MN na mucosa bucal de indivíduos adultos fumantes e não fumantes. **Resultados:** Cinquenta e dois artigos foram identificados; quatro deles foram removidos devido à duplicidade. Dos 48 estudos restantes, após a leitura dos seus títulos e resumos, restaram 14, os quais tiveram seus textos completos lidos. Por fim, oito artigos permaneceram para a análise qualitativa. **Discussão e conclusão:** Indivíduos que utilizam tabaco apresentam danos genotóxicos e citotóxicos que interferem no processo de mitose, o que acarreta a formação de MN. A hipótese do tabagismo como causa dessa alteração genética é corroborada pelos autores ao confrontar os dados obtidos em seus estudos entre grupos de risco e grupos-controle.

**Unitermos:** câncer de pulmão; micronúcleo; tabagismo.

### ABSTRACT

**Introduction:** Cancer results from the accumulation of several modifications in the genetic material and, therefore, it is possible to carry out its cytogenetic detection using biomarkers. Micronuclei (MN) have been addressed in the literature as biomarkers of genotoxic damage. These markers provide information on biological or biochemical changes in a target tissue at early stage, enabling a favorable prognosis. **Objective:** To compare whether the frequency of MN in active smokers is higher than that in non-smokers. **Material and method:** The search was performed in the Medical Literature Analysis and Retrieval System (PubMed), in the Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (LILACS), and in the Scientific Electronic Library Online (SciELO), for articles published in the last ten years. Randomized clinical trials, with a cross-sectional design, which compared the MN frequency in the oral mucosa of adult smokers and non-smokers, were selected. **Results:** A total of 52 articles were identified, four of them were removed due to duplicity. From the remaining 48 studies, after reading their titles and abstracts, 14 remained, which had their full texts read. Finally, eight articles remained for the qualitative analysis. **Discussion and conclusion:** Individuals who use tobacco present genotoxic and cytotoxic damages that interfere in the mitosis process, which leads to MN formation. The hypothesis of smoking as the cause of this genetic alteration is corroborated by the authors when comparing the data obtained in their studies between risk groups and control groups.

**Key words:** lung cancer; micronucleus; smoking.

## RESUMEN

**Introducción:** El cáncer es el resultado de la acumulación de diversas modificaciones en el material genético, por lo tanto, es posible realizar su detección citogenética usando biomarcadores. Micronúcleos (MN) se han abordado por la literatura como biomarcadores de daño genotóxico. Estos marcadores ofrecen información sobre cambios biológicos o bioquímicos en un tejido diana todavía en forma precoz, permitiendo un pronóstico bueno. **Objetivo:** Determinar si la frecuencia de MN en fumadores activos es superior a la de los no fumadores. **Material y método:** Hicimos una búsqueda en Medical Literature Analysis and Retrieval System (PubMed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) y Scientific Electronic Library On-line (SciELO) de artículos publicados en los últimos diez años. Hemos seleccionado ensayos clínicos aleatorizados, de diseño transversal, que compararon la frecuencia de MN en la mucosa bucal de personas adultas fumadoras y no fumadoras. **Resultados:** Se identificaron 52 artículos; cuatro de ellos fueron eliminados debido a duplicidad. Entre los 48 estudios restantes, tras la lectura de sus títulos y resúmenes, quedaron 14, que tuvieron sus textos completos leídos. Por último, ocho artículos permanecieron para el análisis cualitativo. **Discusión y conclusión:** Personas que utilizan tabaco presentan daños genotóxicos y citotóxicos que interfieren con el proceso de mitosis, lo que acarrea la formación de MN. La hipótesis del tabaquismo como causa de ese cambio genético es corroborada por los autores al cotejar los datos obtenidos en sus estudios entre grupos de riesgo y grupos de control.

**Palabras clave:** cáncer de pulmón; micronúcleo; tabaquismo.

## INTRODUÇÃO

No ano de 2017, pouco mais de 10% da população brasileira era tabagista; o sexo masculino apresentou a maior prevalência, com 13,2%, e o feminino, com 7,5%<sup>(1)</sup>. As doenças crônicas não transmissíveis são responsáveis por 60% das mortes ocorridas no mundo, enquanto, no Brasil, correspondem a 72%<sup>(2)</sup>. Nesse viés, estudos demonstram que o produto da queima do tabaco é capaz de gerar aberrações cromossômicas que podem formar micronúcleos (MN) em células cultivadas de mamíferos<sup>(3,4)</sup>.

Os MN consistem em estruturas nucleares originadas a partir de eventos capazes de alterar a estabilidade do ácido desoxirribonucleico (DNA), como a produção em excesso de espécies reativas do oxigênio (ERO) e do nitrogênio (ERN), o encurtamento dos telômeros e a inibição da ação da enzima telomerase<sup>(3, 5, 6)</sup>. Por expressar a modificação gênica, a frequência de MN tem sido abordada na literatura como possível bioindicador da extensão dos danos cromossômicos em indivíduos expostos a agentes genotóxicos ou em portadores de um perfil genético suscetível ao desenvolvimento de câncer<sup>(7)</sup>. Por se tratar de uma técnica minimamente invasiva, o ensaio com MN mostra-se adequado para monitorar o risco individual e populacional de indivíduos às patologias desencadeadas pelo consumo de tabaco, pois tem alta confiabilidade e baixo custo<sup>(3,6,7)</sup>.

## OBJETIVO

Revisão sistemática de estudos clínicos com a finalidade de comparar se a frequência de MN em indivíduos fumantes ativos é superior à dos não fumantes.

## MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi conduzido com base na metodologia sugerida pelo Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)<sup>(8)</sup>. As buscas dos estudos foram realizadas em bases de dados de cunho científico (plataformas *on-line*), entre elas, Medical Literature Analysis and Retrieval System (PubMed), Scientific Electronic Library On-line (SciELO) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). Ensaio clínico com delineamentos dos seguintes tipos foram considerados: ensaio clínico randomizado, coorte, transversal, série de casos e relato de casos.

Após a seleção dos estudos, a análise dos dados obtidos pelos autores foi realizada. Para cada estudo, foram consideradas as variáveis como número da amostragem, grupos de estudo, faixa etária da população estudada, número de células analisadas, metodologia de coloração das amostras e média de MN para cada tipo de metodologia.

Inicialmente, os dados obtidos para cada grupo foram comparados entre si, com o intuito de validar a hipótese alternativa, ou seja, que indivíduos fumantes apresentam maior média de MN quando comparados com os não fumantes. Logo após, foram comparados os dados entre os diferentes estudos, a fim de confrontar a eficácia das metodologias empregadas, bem como determinar a concordância dos estudos ou identificar potenciais motivos de discordância.

## RESULTADOS

Com a busca de artigos, 52 textos foram obtidos, com base nas palavras-chave e nos filtros já descritos na seção de materiais

e métodos. Desse total, quatro estudos se repetiam e, por isso, uma de suas cópias foi excluída, restando 48 estudos que teriam seus títulos e resumos lidos. A partir da leitura prévia, apenas 14 artigos seguiram para a etapa seguinte, que consistia na leitura completa do texto. Seis artigos foram desclassificados devido a informações incompatíveis com o objetivo da revisão, restando apenas oito artigos elegidos para esta pesquisa, conforme mostra a **Figura 1**.

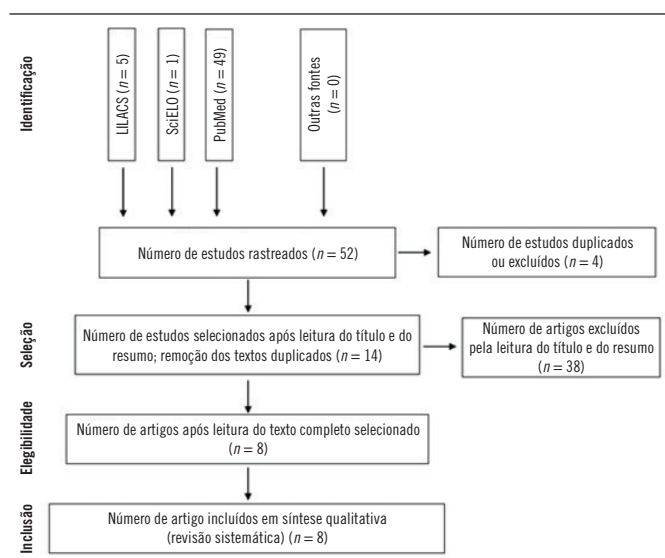


FIGURA 1 – Fluxograma das etapas de seleção dos estudos elegidos para a revisão sistemática

## Características dos estudos elegidos

Os estudos selecionados para esta revisão foram numerados e tiveram seus títulos, autores, ano de publicação e objetivos tabelados para melhor conhecimento de cada um (**Tabela 1**).

## Resultados dos estudos elegidos

A análise de dados baseou-se na busca de determinadas informações, entre elas, os grupos em que os participantes foram divididos, suas respectivas faixas etárias, número de células analisadas, tipos de colorações utilizadas, média de MN encontrada em cada paciente para cada tipo de coloração e se houve ou não a descrição da presença de outras alterações nucleares.

Os resultados dos estudos 1 a 7<sup>(9-15)</sup> são apresentados na **Tabela 2**, porém, o estudo 8<sup>(16)</sup>, por ter realizado três tipos de colorações (Feulgen, Giemsa e laranja de acridina), teve seus resultados distribuídos em uma tabela separada para melhor interpretação (**Tabela 3**).

Todos os estudos apresentaram grupo-controle composto por indivíduos não fumantes e pelo menos um grupo de risco, integrado por participantes que utilizavam tabaco. Três artigos consideraram, além do grupo de fumantes e controle, um terceiro grupo com indivíduos que consumiam tabaco mascado (1, 2 e 4)<sup>(9, 10, 12)</sup>. Dois estudos (7 e 8)<sup>(15, 16)</sup> avaliaram a influência do tempo de exposição ao tabaco.

TABELA 1 – Estudos comparando a frequência de MN entre fumantes e não fumantes incluídos na revisão sistemática

nº do estudo	Ano	Autores	País	Estudo	Enfoque
1	2018	Gopal KS, <i>et al.</i>	Índia	Evaluation of cytogenetic damage in the form of micronuclei in oral exfoliated buccal cells in tobacco users	Comparar a genotoxicidade em células da mucosa bucal e encontrar a incidência de células micronucleadas de acordo com a duração e a frequência do uso do tabaco
2	2014	Dash KC, <i>et al.</i>	NI	Comparative study of micronuclei counts in patients with different tobacco-related habits using exfoliated buccal epithelial cells: a tool for assessment of genotoxicity	Identificar e quantificar MN nas células esfoliadas da mucosa bucal em indivíduos com diferentes hábitos relacionados com o tabaco e no grupo-controle
3	2015	Silva VHP, <i>et al.</i>	Brasil	Cytogenetic biomonitoring in buccal mucosa cells from young smokers	Avaliar comparativamente o dano ao DNA (MN) e a morte celular (picnose, cariólise e cariorrexe) em células da mucosa oral de fumantes e não fumantes
4	2014	Chandirasekar R, <i>et al.</i>	Índia	Assessment of genotoxic and molecular mechanisms of cancer risk in smoking and smokeless tobacco users	Realizar a análise citogenética e genotóxica em indivíduos com uso de tabaco e comparar os dados com controles saudáveis
5	2011	Zamani AG, <i>et al.</i>	Índia	Evaluation of smoking genotoxicity in Turkish young adults	Determinar e avaliar as frequências de MN de jovens fumantes e não em linfócitos do sangue periférico, mucosa bucal e células uroteliais esfoliadas
6	2010	Haveric A, <i>et al.</i>	Bósnia	Micronuclei frequencies in peripheral blood and buccal exfoliated cells of young smokers and non-smokers	Avaliar a genotoxicidade do consumo de cigarros em jovens fumantes e correlacionar os resultados da análise citogenética em linfócitos do sangue periférico e células bucais esfoliadas
7	2012	Naderi NJ, <i>et al.</i>	Irã	Micronucleus assay of buccal mucosa cells in smokers with the history of smoking less and more than 10 years	Avaliar a frequência de MN em células da mucosa bucal de fumantes com história de tabagismo menor e maior que 10 anos e sua comparação com não fumantes
8	2018	Metgud R, <i>et al.</i>	Índia	Effect of staining procedures on the results of micronucleus assay in the exfoliated buccal mucosal cells of smokers and nonsmokers: a pilot study	Avaliar a eficácia da coloração específica do DNA sobre a coloração inespecífica de DNA em células da mucosa bucal esfoliada em fumantes e não fumantes para avaliação de MN e anomalias nucleares

MN: micronúcleos; NI: não informado; DNA: ácido desoxirribonucleico.

TABELA 2 – Características metodológicas e resultados dos estudos elegidos de 1 a 7

nº do estudo	n	Grupos de estudo	Faixa etária	Nº de células analisadas	Tipo de coloração	Média de MN por grupo	Outras alterações presentes
1	75	I Fumantes	25-55	500	Feulgen	I 7,2 ± 7,08	NI
		II Tabaco mascado				II 8 ± 7,9	
		III Controles				III 0,4 ± 1,2	
2	180	I Fumantes	NI	2.000	Giemsa	I 3,11 ± 0,7	NI
		II Tabagismo com Betel				II 2,13 ± 1,2	
		III Tabaco mascado				III 1,67 ± 0,8	
		IV Controles				IV 0,5 ± 0,8	
3	38	I Fumantes	21-33	2.000	Feulgen	I 0,7 ± 0,8	Picnocitose, cariorrexe, cariólise
		II Controles				II 0 ± 0,1	
4	366	I Fumantes	> 15	1.000	Feulgen	I 2,06 ± 1,28	Aberrações cromossômicas
		II Fumantes e tabaco mascado				II 2,38 ± 1,37	
		III Tabaco mascado				III 2,22 ± 1,52	
		V Controles				IV 1,43 ± 0,77	
5	30	I Fumantes	18-33	2.000	Feulgen	I 1,2 ± 0,22	NI
		II Controles				II 0,26 ± 0,1	
6	87	I Fumantes	20-37	1.000	Giemsa	I 3,04 ± 3	Apoptose (cariorrexe, cariólise)
		II Controles				II 2 ± 2,03	
7	63	I Fumantes < 10 anos	20-76	500	Feulgen	I 1,89 ± 0,62	NI
		II Fumantes > 10 anos				II 2,01 ± 0,93	
		III Controles				III 0,94 ± 0,94	

Os grupos designados como controles referem-se àqueles indivíduos que não utilizam tabaco em nenhuma das suas formas de consumo.

NI: não informado.

TABELA 3 – Características metodológicas e resultados do estudo número 8

Variáveis	Controle	Tabagismo < 10 anos	Tabagismo > 10 anos	
n	10	10	10	
Média de faixa etária	± 38,3 years	± 39,8 years	± 44,4 anos	
Nº de células analisadas	10 campos por lâmina	10 campos por lâmina	10 campos por lâmina	
nº de MN	Feulgen	1,6 ± 0,89	3,7 ± 0,67	5,5 ± 1,17
	Giemsa	2,8 ± 1	5,3 ± 1,25	11,1 ± 1,47
	Laranja de acridina	2,1 ± 1	4,4 ± 0,69	7,1 ± 0,99

Os grupos designados como controles referem-se àqueles indivíduos que não utilizam tabaco em nenhuma das suas formas de consumo.

MN: micronúcleos.

Os estudos 3, 5 e 8<sup>(11, 13, 16)</sup> foram os que obtiveram a menor amostragem, enquanto o de número 4<sup>(12)</sup> foi o ensaio com maior número de amostras. Os artigos 2, 3 e 5<sup>(10, 11, 13)</sup> analisaram pelo menos 2 mil células; 4 e 6<sup>(12, 14)</sup>, mil células; e 1 e 7<sup>(9, 15)</sup>, apenas 500 células. Somente o estudo 8<sup>(16)</sup> não descreveu o número exato de células analisadas, mas citou ter investigado pelo menos 10 campos por lâmina.

Todos os estudos contavam com voluntários com idades superiores a 18 anos, exceto o estudo número 4<sup>(12)</sup>, que incluiu indivíduos acima de 15 anos. O artigo 2<sup>(10)</sup> também não informou a idade de nenhum dos indivíduos, e o de número 7<sup>(15)</sup> incluiu participantes na pesquisa com até 76 anos. Sete dos oito artigos utilizaram apenas um tipo de coloração: 1, 3, 4, 5 e 7<sup>(9, 11-13, 15)</sup>, utilizaram a coloração de Feulgen; 2 e 6<sup>(10, 14)</sup>, a coloração de Giemsa; e apenas a pesquisa 8<sup>(16)</sup> utilizou as duas colorações citadas e também a coloração de laranja de acridina.

Exceto o grupo-controle do estudo 3<sup>(11)</sup>, nenhum dos outros estudos obteve resultado totalmente zerado para o número de MN em seus grupos. Todos os artigos obtiveram maior número de MN para os grupos que consumiam tabaco, independente da forma de consumo, quando comparados com os grupos-controle. Cinquenta por cento dos estudos citaram a presença de outras alterações nucleares (3, 4, 6 e 8)<sup>(11, 12, 14, 16)</sup>.

## DISCUSSÃO

Diversas estruturas e moléculas podem ser utilizadas como biomarcadores citogenéticos<sup>(6)</sup>. Como exemplo, temos as pontes nucleoplásmicas, constituídas por fragmentos nucleares ainda ligados ao núcleo principal por uma área de constrição, ou as células binucleadas, com presença de dois núcleos principais ocorridos pela

falha durante a citocinese em consequência das falhas na formação do anel de microfilamento ou da interrupção do ciclo celular<sup>(6)</sup>. Além disso, há os MN, que se formam durante a divisão celular, no ponto de transição das etapas de metáfase para anáfase, devido a não união dos fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos inteiros ao restante do material genético<sup>(17)</sup>.

A literatura cita que a maior incidência de MN em relação à idade pode estar associada aos efeitos cumulativos de mutações no reparo do DNA, à divisão inadequada dos cromossomos e à falha nos pontos de checagem do ciclo celular<sup>(3)</sup>. Como resultado de todas essas modificações, há a formação de MN, constituídos por meio de expressão gênica alterada ou aneuploidia, rearranjos cromossômicos ou efeitos associados ao fenótipo de instabilidade cromossômica, que são observados no câncer<sup>(7)</sup>. Da mesma forma, sugere-se que o aumento do estresse oxidativo acarreta a formação dessa estrutura, cuja produção dos radicais livres pode ser aumentada pela influência de fontes exógenas, como a exposição à poluição do ar, à radiação ultravioleta e à radiação ionizante, bem como pelo consumo de determinados alimentos e pelo tabagismo, conforme ilustrado na **Figura 2**<sup>(18, 19)</sup>.

A finalidade desta revisão sistemática foi identificar, selecionar, analisar e sintetizar os resultados obtidos em estudos clínicos relevantes já publicados referentes à frequência de MN em indivíduos fumantes ativos e não fumantes. Em posse dos artigos selecionados e após a leitura deles, observou-se que todos os estudos concluíram que o tabaco é capaz de induzir danos genéticos independentemente da sua forma de consumo. Gopal e Padma (2018)<sup>(9)</sup> sugerem que o grau dos danos varia de acordo com a forma de consumo do tabaco, já que o tabaco mascado apresentou maior quantidade de MN ( $8 \pm 7,906$ ). Porém, ao



**FIGURA 2** – Fatores que induzem a formação de radicais livre e, por consequência, o dano genético

analisarmos os dados, é possível notar a estreita faixa de diferença entre os resultados ( $7,2 \pm 7,083$ ). Tal situação se difere quando comparamos o número de MN desses dois grupos com o grupo-controle ( $0,4 \pm 1,2$ ), pois a diferença dos resultados é significativa.

Os estudos de Gopal e Padma (2018)<sup>(9)</sup>, Metgud e Neelesh (2018)<sup>(16)</sup> e Dash *et al.* (2018)<sup>(10)</sup> foram os que obtiveram os maiores resultados de MN para fumantes, enquanto os estudos de Silva *et al.* (2015)<sup>(11)</sup>, Zamani *et al.* (2011)<sup>(13)</sup> e Naderi *et al.* (2012)<sup>(15)</sup> demonstraram resultados significativamente inferiores e os estudos de Chandirasekar *et al.* (2014)<sup>(12)</sup> e Haveric *et al.* (2010)<sup>(14)</sup>, resultados intermediários. Todos os artigos foram concordantes quanto ao uso do tabaco promover o surgimento de MN, contudo, os resultados apresentaram diferenças significativas, uma vez que o primeiro estudo obteve mais que o dobro de MN para cada variável em comum estudada. Diversos fatores podem ser a causa dessa diferença de resultados; entre eles, sugerimos a quantidade de cigarros e a frequência do consumo/dia por cada indivíduo, o convívio com outros fumantes (fumantes passivos), a composição do cigarro, a distinção no número de amostras e a forma de consumo do tabaco. Além disso, os diferentes procedimentos de coloração podem causar interferências na análise das amostras, conforme demonstrado na pesquisa de Metgud e Neelesh (2018)<sup>(16)</sup>, que apresentou em torno de um a dois desvios padrão (DP) de diferença de uma técnica para outra entre o mesmo grupo. Por isso, há a necessidade da padronização das técnicas empregadas nos estudos, a fim de que eles proporcionem resultados mais específicos, concordantes e de fácil aplicabilidade e reprodução.

O estudo número 8<sup>(16)</sup> optou por analisar 10 campos por lâmina em vez de estabelecer um número mínimo de células visualizadas por amostra, como realizado pelos outros estudos, o que pode impactar nos resultados obtidos. Essa interferência pode ser consequência do número de células: alguns campos apresentam numerosas células, enquanto outros, raras células. As esfoliadas podem se apresentar aglomeradas, prejudicando a visualização dos seus limites e os MN.

Nesse sentido, fatores como idade, tempo de tabagismo e frequência na literatura são discordantes, já que alguns estudos indicam que esses fatores acarretam o aumento de MN<sup>(9)</sup>, enquanto outros sugerem ser irrelevantes<sup>(14)</sup>. Naderi *et al.* (2012)<sup>(15)</sup> obtiveram média superior de MN para indivíduos que fumavam há mais de 10 anos quando comparados com aquelas que utilizavam o cigarro há menos tempo; no entanto, não houve diferença estatística significativa.

Metade dos estudos observaram a presença de outras alterações nucleares, como picnocitose, cariorrexe e cariólise, que são indicativos de apoptose e aberrações cromossômicas,

deixando claro que as células manifestam o seu dano genotóxico não apenas pela formação de MN, mas também pela manifestação de outras estruturas nucleares<sup>(11, 12, 14)</sup>. Nessa perspectiva, o mecanismo de impacto do tabagismo pode ser explicado devido à elevada produção de íons superóxido, os quais são capazes de amplificar a peroxidação lipídica e a fragmentação do DNA, bem como desencadear a apoptose, o que gera o aumento da frequência das divisões celulares e, conseqüentemente, as divisões nucleares. Entretanto, o processo de separação do material genético fica prejudicado e acarreta o aumento do número de MN<sup>(9)</sup>.

## CONCLUSÃO

A literatura afirma que o ensaio com MN pode ser usado como uma ferramenta para previsão do risco, triagem, diagnóstico

e prognóstico do câncer, visto que todos os estudos apontaram que indivíduos que consomem tabaco apresentam aumento significativo no número de células MN, quando comparados com aqueles que não o utilizam. Além disso, esse teste consiste em uma técnica de triagem simples, não invasiva, mas confiável, por meio da qual é possível determinar os impactos gerados no material genético de forma ainda precoce, antes que qualquer sinal clínico de alterações histológicas resultantes do câncer seja evidente.

Consoante aos resultados obtidos nos artigos selecionados, é possível concluir que indivíduos que utilizam tabaco apresentam danos genotóxicos que interferem no processo de mitose, durante a etapa de anáfase, o que acarreta a formação de MN. A hipótese do tabagismo como a causa dessa alteração genética é corroborada pelos autores ao confrontar os dados obtidos em seus estudos entre grupos de risco (fumantes) e grupos-controle (não fumantes).

## REFERÊNCIAS

1. São Paulo (Estado). Ministério da Saúde. Hábito de fumar cai em 36% entre os brasileiros. São Paulo, 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agenciasaude/43401-habito-de-fumar-cai-em36entre-os-brasileiros>.
2. Malta DC, Iser BPM, Sá NNB, et al. Tendências temporais no consumo de tabaco nas capitais brasileiras, segundo dados do VIGITEL, 2006 a 2011. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2013; 29(4): 812-22. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102311X20130004000>.
3. Costa Júnior CEO, Silva LMB, Fernandes TS, et al. Evaluation of Pb-210 in urine and frequency of micronuclei in exfoliated cells as indicators of exposure to cigarettes. *Mutat Res Gen Tox Em*. 2018; 825: 59-64. PubMed PMID: 29307376.
4. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation and cancer. *Elsevier Cell*. 2010; 140: 883-99. PubMed PMID: 20303878.
5. O'Callaghan-Gordo C, Kogevinas M, Fthenou E, et al. Vitamin D insufficient levels during pregnancy and micronuclei frequency in peripheral blood T lymphocytes mothers and newborns. *Clin Nutr*. 2017; 36(4): 1029-35. PubMed PMID: 27396287.
6. Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Thomas P, Fenech M. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – an update and expanded photogallery. *Mutat Res*. 2013; 753: 100-13.
7. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*. 2007; 28(3): 625-31. PubMed PMID: 23942275.
8. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*. 2009; 6(7): e1000097. PubMed PMID: 19621072.

9. Gopal KS, Padma M. Evaluation of cytogenetic damage in the form of micronuclei in oral exfoliated buccal cells in tobacco users. *Indian J Dental Res*. 2018; 29(6): 773-80. PubMed PMID: 30589007.
10. Dash KC, Nishat R, Kumar H, et al. Comparative study of micronuclei count in patients with different tobacco-related habits using exfoliated buccal epithelial cells: a tool for assessment of genotoxicity. *J Contemp Dent Pract*. 2018; 19(9): 10761081. PubMed PMID: 30287707.
11. Silva VHP, de Luna Antonio R, Pompeia S, et al. Cytogenetic biomonitoring in buccal mucosa cells from young smokers. *Acta Cytol*. 2015; 59(6): 474-8. PubMed PMID: 26844552.
12. Chandrasekar R, Kumar BL, Sasikala K, et al. Assessment of genotoxic and molecular mechanisms of cancer risk in smoking and smokeless tobacco users. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2014; 767: 21-7. PubMed PMID: 24769293.
13. Zamani AG, Durakbasi-Dursun HG, Demirel S, et al. Evaluation of smoking genotoxicity in 14. Turkish young adults. *Indian J Human Genet*. 2011; 17(1): 7-12. PubMed PMID: 21814336.
14. Haveric A, Haveric S, Ibruij S. Micronuclei frequencies in peripheral blood and buccal exfoliated cells of young smokers and non-smokers. *Toxicol Mech Methods*. 2010; 20(5): 260-6. PubMed PMID: 20450262.
15. Naderi NJ, Farhadi S, Sarshar S. Micronucleus assay of buccal mucosa cells in smokers with the history of smoking less and more than 10 years. *Indian J Pathol Microbiol*. 2012; 55(4): 433-8. PubMed PMID: 23455775.
16. Metgud R, Neelesh BT. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assay in the exfoliated buccal mucosal cells of smokers and nonsmokers: a pilot study. *J Cancer Res Ther*. 2018; 14(2): 372-6. PubMed PMID: 29516922.
17. Kirsch-Volders M, Bonassi S, Knasmueller S, et al. Commentary: critical questions, misconceptions and a road map for improving the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for in vivo

biomonitoring of human exposure to genotoxic chemicals-a HUMN project perspective. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2014; 759: 49-58. PubMed PMID: 24412600.

18. Goutzourelas N, Orfanou M, Charizanis I, Leon G, Spandidos DA, Kouretas D. GSH levels affect weight loss in individuals with metabolic

syndrome and obesity following dietary therapy. *Exp Ther Med.* 2018; 16(2): 635-42. PubMed PMID: 30116319.

19. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015; 30(1): 1126. PubMed PMID: 25646037.

#### AUTOR CORRESPONDENTE

---

Nadine Alessandra Campos  0000-0001-6120-9391  
e-mail: nadine.ac@hotmail.com



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.