

Elisa Carvalho de Siqueira

EFEITO DO USO DOS APARELHOS DE TELEFONE CELULAR SOBRE A
EXPRESSÃO DE CITOCINAS EM SALIVA PRODUZIDA PELAS GLÂNDULAS
SALIVARES PARÓTIDAS

Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte

2016

Elisa Carvalho de Siqueira

EFEITO DO USO DOS APARELHOS DE TELEFONE CELULAR SOBRE A
EXPRESSÃO DE CITOCINAS EM SALIVA PRODUZIDA PELAS GLÂNDULAS
SALIVARES PARÓTIDAS

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração em Patologia Bucal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Carolina Cavaliéri Gomes

Faculdade de Odontologia – UFMG

Belo Horizonte

2016

“Dedico este trabalho a meus pais que tanto estimulam e acreditam em mim. Ao Marcos, pelo incentivo e companheirismo. Aos amigos, familiares e colegas que foram base para isso acontecer.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades que me tem permitido.

Aos professores, Carolina Cavaliéri Gomes e Ricardo Santiago Gomez, pela dedicação e pela bagagem científica transmitida para o desenvolvimento deste projeto e apoio para a elaboração deste trabalho. Muito obrigada.

Aos Professores Renan Pedra Souza e Marcus Vinícius Gomez, pela colaboração.

Aos amigos do Mestrado, do Laboratório de Biologia Molecular e do Laboratório de Patologia, pela convivência durante toda minha formação. Ao Fabrício e Samuel por terem contribuído, de forma especial, com minha pesquisa. A todos participantes voluntários deste trabalho, que permitiram o desenvolvimento de todo meu projeto.

Aos fomentos FAPEMIG, CAPES, CNPq e L'Oréal que apoiaram financeiramente todo o percurso.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Ao Marcos, que de forma especial e carinhosa, há anos me acompanha.

A todos os amigos e familiares que sempre torcem por mim.

Obrigada a todos que estiveram comigo neste momento!

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”. (George Bernard Shaw)

RESUMO

Há controvérsia sobre os efeitos e impactos da radiação não ionizante emitida por telefones celulares sobre os mecanismos fisiológicos. Resultados conflitantes já foram relatados sobre a associação entre o uso de telefone celular e desenvolvimento de tumores em parótida. A inflamação crônica está associada com um risco aumentado de câncer, tal como pode ser visto na colite ulcerativa. Para avaliar o possível efeito do uso do telefone celular na glândula salivar parótida, o perfil de expressão de citocinas foi determinado na saliva produzida pelas glândulas parótidas em voluntários saudáveis e, correlacionada com o perfil de uso do telefone celular. Foram avaliados 83 indivíduos saudáveis, a partir de saliva produzida por essas glândulas, comparando a saliva da glândula relatada pelo próprio indivíduo como a mais exposta à radiação do telefone celular (ipsilateral) com a saliva produzida pela parótida contralateral. Os seguintes parâmetros salivares foram determinados: fluxo salivar, concentração de proteína total, níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ e TNF- α por ELISA. Após a correção para múltiplos testes, houve uma diminuição nos níveis salivares de IL-10 e aumento nos níveis de IL-1 β no lado ipsilateral em comparação com o lado contralateral ($p < 0,05$). Os indivíduos que relataram usar celular por mais de 10 anos apresentaram maiores diferenças entre os níveis de IL-10 no lado ipsilateral comparado com contralateral ($p = 0,0012$). Não foi observada diferença em qualquer um dos parâmetros testados em relação ao uso mensal de telefone celular em minutos. Dessa maneira, conclui-se que a exposição das glândulas parótidas ao telefone celular pode alterar os níveis salivares de IL-10 e IL-1 β . Tais achados sugerem um perfil pró-inflamatório em parótidas naturalmente expostas a telefones celulares, que pode estar associado não só à radiação emitida pelo aparelho, mas ao aquecimento provocado pela radiação e pela bateria dos celulares durante o uso.

Palavras-chave: radiação não ionizante, interleucinas, IL-10, IL-1 beta, telefone celular, alteração molecular, tumor, inflamação.

ABSTRACT

There is controversy on the effects and impact of the non-ionizing radiation emitted by cell phones on physiological mechanisms. Conflicting results were reported on the association between cell phone use and parotid tumor development. Chronic inflammation is associated with an increased risk for cancer, such as seen in ulcerative colitis. To evaluate the effect that cell phone use has on the parotid gland, cytokine expression profile was determined in the saliva produced by the parotid glands in healthy volunteers, and correlated with self-reported cell phone use and laterality. The following parameters were determined, in 83 Brazilian individuals in saliva produced by the parotid glands comparing the saliva from the gland exposed to cell phone radiation (ipsilateral) to that from the contralateral parotid: salivary flow, total protein concentration, IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α by ELISA. After multiple testing correction, decreased IL-10 and increased IL-1 β salivary levels in the ipsilateral side compared with the contralateral side ($p < 0,05$) were detected. Subjects who used cell phones for more than 10 years presented higher differences between IL-10 levels in ipsilateral versus contralateral parotids ($p = 0,0012$). No difference was observed in any of the tested parameters in correlation with cell phone monthly usage in minutes. We conclude that exposure of parotid glands to cell phones can alter salivary IL-10 and IL-1 β levels. These findings suggest a pro-inflammatory profile on parotid naturally exposed to cell phones, which can be associated not only to the radiation emitted by the device but with the warming caused by radiation and the battery of the cell during use.

Keywords: non-ionizing radiation, interleukins, IL-10, IL-1 beta, mobile phone, molecular alteration, tumor, inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 - FLUXO SALIVAR, CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL, NÍVEIS DE IL-6, TNF- α , IL-10 E IL-1 β NAS AMOSTRAS DE SALIVA AVALIADAS EM PARÓTIDAS NOS LADOS IPSILATERAL E CONTRALATERAL.....36
- FIGURA 2 - DIFERENÇA NOS NÍVEIS SALIVARES ENTRE O LADO IPSILATERAL E CONTRALATERAL PARA FLUXO SALIVAR, CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL, NÍVEIS DE IL-6, TNF-A, IL-10 E IL-1B NAS AMOSTRAS DE SALIVA AVALIADAS.....37
- FIGURA 3 - FLUXO SALIVAR, CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL, NÍVEIS DE IL-6, TNF- α , IL-10 E IL-1 β NAS AMOSTRAS DE SALIVA AVALIADAS EM PARÓTIDAS NOS LADOS IPSILATERAL E CONTRALATERAL DICOTOMIZADA, DE ACORDO COM O TEMPO DE USO DO TELEFONE CELULAR, EM ANOS.....38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES E PERFIL DE USO DO APARELHO CELULAR	34
TABELA 2 – RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS PARÂMETROS AVALIADOS.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD teste – Teste de normalidade Anderson-Darling

AP-1 (*activator protein 1*) – Proteína ativadora 1

Células NK – Células *natural killer*

COEP – Comitê de Ética em Pesquisa

COX-2 – Ciclooxigenase tipo 2

DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) – Ácido desoxiribonucléico

EDTA (*Ethylenediamine Tetraacetic Acid*) – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA – (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) - Ensaio imunoenzimático

ERK (*Extracellular signal-regulated kinases*) – Quinases reguladas por sinais extracelulares

EUA/USA – Estados Unidos da América/*United States of America*

FRAP (*Ferric reducing antioxidante power*) – Poder antioxidante da redução do ferro

gp130 - Glicoproteína 130

GSH – Glutationa reduzida

HSPs (*Heat-shock Proteins*) – Proteínas do choque térmico

JAK – *Janus kinases*

IARC (*International Agency for Research on Cancer*) – Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer

IFN - Interferon

Ig – Imunoglobulina

IL - Interleucina

MAPK (*Mitogen-activated protein kinases*) – Proteínas quinases ativadas por mitógenos

mg – Miligramas

MHz – Megahertz

ml – Mililitros

mM – Milimolar

MMP – Metaloproteinases de matriz

MyD88 – Fator de diferenciação mielóide 88

NF-κB - Fator de transcrição fator nuclear kappa B

p21 – Proteína 21

p38 – Proteína 38

p53 – Proteína 53

PBS – Tampão fosfato-salino

pg – Picograma

PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*) - Fosfatidilinositol-3-cinase

ROS (*Reactive oxygen species*) – Espécies Reativas de Oxigênio

SOCS (*Suppressor of cytokine signaling*) – sinalizador de supressor de citocina

STAT (*Signal transducer and activator of transcription*) - Transdutor de sinal e ativador de transcrição

TLR – *Toll like receptor* – Receptores do tipo *Toll like*

TNF (*Tumor Necrosis Factor*) – Fator de necrose tumoral

TNFR – Receptor de fator de necrose tumoral

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 BREVE HISTÓRICO DO APARELHO CELULAR	16
2.3 APARELHO CELULAR E DANOS À SAÚDE.....	18
2.5 BIOMARCADORES - CITOCINAS	21
2.5.1 IL-1β	23
2.5.2 IL-6	23
2.5.3 TNF- α	23
2.5.4 IL-10	25
2.5.5 IFN- γ	26
3 JUSTIFICATIVA	27
4 OBJETIVOS	28
4.1 OBJETIVO GERAL	28
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	28
5 MATERIAIS E MÉTODOS	29
5.1 ASPECTOS ÉTICOS	29
5.2 RECRUTAMENTO DE INDIVÍDUOS	29
5.3 O QUESTIONÁRIO	29
5.4 COLETA E ARMAZENAMENTO DA SALIVA	30
5.5 DOSAGEM DE PROTEÍNA TOTAL	31
5.6 REAÇÕES DE ELISA (<i>ENZYME LINKED IMMUNO SORBENT ASSAY</i>).....	31
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
6 RESULTADOS	33
6.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	34
6.2 RESULTADOS MOLECULARES	35
7 DISCUSSÃO	39
8 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

APÊNDICE A - BANCO DE DADOS	53
CATEGORIZAÇÕES	53
BANCO DE DADOS	55
ANEXO I - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA - Nº ETIC 0170.0.203.000-10 COEP-UFMG.....	63
ANEXO II - TERMO DE ESCLARECIMENTO/CONSENTIMENTO DESTINADO AOS PARTICIPANTES DO PROJETO	64
ANEXO II – QUESTIONÁRIO PARA ANÁLISE DO PERFIL DOS USUÁRIOS DE TELEFONE CELULAR	66

1 INTRODUÇÃO

Com o avanço da tecnologia, o uso do aparelho celular tem sido altamente ampliado pela população. Atualmente, tem-se aproximadamente 7 bilhões de usuários em todo o mundo e, somente no Brasil, a cada 100 habitantes, 138 celulares estão ativados (WHO, 2014; ANATEL, 2015). Embora haja resultados conflitantes sobre o efeito tumorigênico da radiação não ionizante (BAAN *et al.* 2011; CARDIS *et al.* 2007; VRIJHEID *et al.* 2006), a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classificou a radiofrequência eletromagnética como possível carcinogênico humano (Grupo 2B) (Internacional Agency for Reseach on Cancer, 2011). Sabe-se que o uso desses aparelhos causa um aquecimento local devido a uma radiação não ionizante emitida por eles (BHARGAVA; MOTWANI; PATNI, 2012). Tal radiação pode ser considerada segura uma vez que não causa dano ao DNA da região em contato com o telefone. Mas, após exposições excessivas a essa radiação, o corpo pode não ser capaz de dissipar o calor emitido e, então, apresentar alterações inflamatórias. As regiões mais prejudicadas são as do pavilhão auditivo, onde se encontram as glândulas parótidas, e a região cerebral. Dessa forma, a radiação penetra esses tecidos, produzindo calor (TAURISANO; VORST, 2000). Além disso, a bateria do telefone também pode contribuir para o aquecimento dos tecidos adjacentes (pele da orelha e glândula parótida) durante o uso do telefone celular (ANDERSON; ROWLEY, 2007).

Diante desse contexto, é possível pensar em uma associação entre uso de aparelho celular e tumores parotídeos e cerebrais, embora existam resultados conflitantes de estudos epidemiológicos que estudam a associação do uso do telefone celular com a tumorigênese em parótida (DUAN; ZHANG; BU, 2011; HARDELL *et al.* 2004; LÖNN *et al.* 2006; SADETZKI *et al.* 2008). Existem relatos de que o uso do telefone celular está associado com o aumento do fluxo salivar, da concentração de proteína total salivar, do fluxo sanguíneo e do volume das glândulas parótidas expostas (BHARGAVA; MOTWANI; PATNI, 2012; GOLDWEIN; AFRAMIAN, 2010). Em um estudo anterior, do nosso grupo de pesquisa, não houve associação entre o uso de telefone celular e alterações no fluxo salivar, concentração de proteína total, ou níveis salivares de proteínas 53 e 21(p53 e p21), espécies reativas de oxigênio (ROS), glutathiona reduzida (GSH), proteína de choque

térmico 70 (HSP70), proteína de choque térmico 27 (HSP27) ou imunoglobulina A (IgA) em saliva estritamente parotídea, comparando lado mais exposto ao telefone celular (ipsilateral) com o lado menos exposto (contralateral) (DE SOUZA *et al.* 2014).

Sabendo que um aquecimento tecidual pode gerar uma reação inflamatória e que alterações na fisiologia das glândulas parótidas já foram descritas (GOLDEWEIN; AFRAMIAN, 2009; BHARGAVA; MOTWANI; PATNI, 2012), investigamos mediadores da inflamação presentes na saliva estritamente parotídea, comparando cada amostra de saliva individualmente do lado em que é relatado pelo indivíduo como ipsilateral durante o uso do aparelho celular com a saliva originária da glândula parótida do lado oposto (contralateral).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BREVE HISTÓRICO DO APARELHO CELULAR

As primeiras ondas eletromagnéticas foram propostas por James Maxwell em 1864. Com o intuito de transmitir informações entre dois pontos distantes, Heinrich Hertz usou esse tipo de onda, em 1887 e, em 1895, Guglielmo Marconi fez a transmissão de voz por meio de ondas eletromagnéticas e essa transmissão ficou conhecida como transmissão via rádio (PAULINO, 2001). Por volta de 1900, a telefonia móvel era usada a fim de permitir contato entre navios e bases em solo. No século 20, nos Estados Unidos (EUA), o sistema foi aprimorado, diminuindo de tamanho, o que permitia então, contato entre aviões de guerra, por meio de radiofones, e a terra, e também, entre carros policiais e as respectivas bases. No período da Segunda Guerra Mundial, 1946, o sistema foi aprimorado e surgiram os primeiros telefones móveis comercializados nos EUA, pesando por volta de 6 quilogramas. Devido a uma frequência limitada da tecnologia, não era possível realizar ligações ininterruptas (AGAR, 2003; DUNNEWIJK; HULTÉN, 2007). Foi então, nos anos 70, que Martin Cooper, juntamente com a Motorola, desenvolveu um aparelho celular móvel, de aproximadamente 1 quilograma, que unia a compactação dos circuitos eletrônicos com o desenvolvimento de baterias de pequeno porte que, ainda, possuíam grande capacidade de carga, permitindo maior tempo de uso (PAULINO, 2001). Esses primeiros aparelhos foram distribuídos em Chicago para teste e, após reajustes, foram disponibilizados para venda com um custo viável. Surgia então, o primeiro serviço de telefonia móvel, nos EUA. (AGAR, 2003; DUNNEWIJK; HULTÉN, 2007). Desde então, o aparelho celular vem sofrendo mudanças visando melhor funcionamento. (DUNNEWIJK; HULTÉN, 2007).

2.2 FUNCIONAMENTO DO APARELHO CELULAR

O uso do aparelho celular é baseado em ondas de radiofrequência que é um tipo de onda eletromagnética, formada a partir de um campo magnético e um elétrico, dispostos perpendicularmente. É uma tecnologia que utiliza rádios

transmissores e receptores, operando na faixa de micro-ondas (PAULINO, 2001). Devido à velocidade de propagação, velocidade da luz, não são visíveis a olho nu (AHLBOM *et al.*, 1998; FOSTER, 2000; MOULDER, 2000). Um aparelho celular, ao mesmo tempo que é um rádio transmissor age também como um receptor que comunica com as estações rádio base. Essa base, por sua vez, comunica-se com uma central de comutação e controle, que permite contato entre o usuário e as demais operadoras de celulares e fixas, e então, a ligação se completa. Tais mecanismos só são possíveis a partir da emissão de onda de radiofrequência. (PAULINO, 2001; ICNRP, 1998; FOSTER; MOULDER, 2000).

O nome celular vem de célula, termo que não pertence ao campo semântico da biologia, mas que se refere a regiões de uma mesma faixa de frequência que pode ser utilizada por vários usuários ao mesmo tempo. É uma estrutura fixa. Portanto, à medida que o usuário se movimenta, o aparelho passa a fazer parte de uma outra célula. Cada célula possui uma estação rádio base (antena) que transmite o sinal para central de controle e comutação, fechando o circuito e completando a ligação. A formação dessas células se dá a partir da densidade populacional, locais mais densos abrigam células menores em tamanho, os menos populosos possuem as células maiores. Uma célula de 26 quilômetros quadrados, por exemplo, suporta 168 pessoas conversando ao mesmo tempo. Infere-se, portanto que uma cidade possui diversas células, de diferentes tamanhos (PAULINO, 2001; MOULDER, 2000).

A frequência da onda emitida por esse tipo de tecnologia é classificada como radiação não ionizante já que a energia associada ao fóton não é capaz de remover elétrons da última camada dos átomos em tecidos vivos, como a radiação ionizante é capaz, resultando em danos ao DNA (VELLANO-NETO, 1994; KUNSH, 1996). Os efeitos biológicos relacionados a essa radiofrequência, nesse caso, são devido ao aquecimento. Todavia, mecanismos não relativos ao aquecimento também já têm sido demonstrados em tecidos biológicos (TAURISANO; VORST, 2000).

2.3 APARELHO CELULAR E DANOS À SAÚDE

Com o aumento do uso de tecnologias baseadas em radiofrequência, como aparelho celular, o estudo dos riscos para saúde dessa tecnologia têm também aumentado. Pesquisas revelam que exposição a certas potências, durante minutos ou horas geram alterações fisiopatológicas em animais (GHANBARI *et al.*, 2013; ABOUL EZZ *et al.*, 2013). Isso pode ser relacionado ao aumento de temperatura e, dependendo do grau de alteração, o processo pode ser reversível ou irreversível (TAURISANO; VORST, 2000; PANAGOPOULOS; JOHANSSON; CARLO, 2013).

Alterações cerebrais, renais e testiculares, em animais, decorrentes da exposição a um campo eletromagnético, também têm sido relatadas (CARPENTER, 2013; HAGHANI; SHABANI; MOAZZAMI, 2013; KOCA *et al.*, 2013; KESARI *et al.*, 2013). Quanto à bexiga, Koca e colaboradores (2014) revelam não terem percebido essa relação, o que é também condizente com outro estudo que não observou alterações na qualidade e morfologia de espermatozoides de animais expostos ao campo eletromagnético de radiofrequência (TROŠIĆ *et al.*, 2013). Associações entre radiação emitida por aparelho celular e danos à saúde humana, tanto em efeitos térmicos quanto em efeitos não térmicos cumulativos da estação rádio base e do próprio uso do aparelho, foram descritas anteriormente (BEHARI, 2010). Os efeitos térmicos em usuários de telefone celular levam a uma vasodilatação do local em contato (PAREDI *et al.*, 2001). É descrito, em *Drosophila*, que entre as ligações de telefone celular realizadas, deve-se ter um longo período de descanso (ou seja, suspender o uso) para que o organismo consiga recuperar e superar os efeitos da radiação, a partir da dissipação da energia acumulada (CHAVDOULA; PANAGOPOULOS; MARGARITIS, 2010). Em 2014, um grupo de pesquisadores da Turquia avaliou radiofrequência emitida nas glândulas parótidas de camundongos, a partir de parâmetros histopatológicos. Camundongos expostos por mais tempo apresentaram maiores alterações histopatológicas (como variabilidade nuclear e celular e metaplasia ductal), comparados com o grupo menos exposto (AYDOGAN *et al.*, 2015).

Quanto à presença de neoplasias, existem evidências de que não foi observada nenhuma associação entre radiação emitida por aparelho celular e

tumores cerebrais (JOKELA; AUVINEN; HÄMÄLÄINEN, 2011) enquanto outros estudos relatam tal associação (HARDELL *et al.*, 2004; CARDIS *et al.*, 2007). Além disso, uma revisão de literatura proposta por Poulsen (2013) afirma que existem poucas evidências para dizer que existe um risco aumentado de câncer em usuários de telefone móvel. Diante de um presente com alto índice de uso de aparelho de telefone e pouco conhecimento quanto aos efeitos, a longo prazo, dessa tecnologia, Szmigielski (2013) e Rosenberg (2013) sugerem evitar o uso indiscriminado. Ligações curtas devem ser preferidas e, ainda, qualquer forma de uso que evite contato direto do aparelho com organismo deve ser a primeira escolha (como fones de ouvido, ligações por viva-voz e *bluetooth*) tanto para adultos quanto para crianças. Gandhi e colaboradores (2014) fizeram um estudo que analisou moradores próximos de estações de rádio base de telefonia (raio de aproximadamente 200 metros da estação) e encontraram que esses moradores, comparados com os controles, possuem alterações nos parâmetros genéticos. No mesmo estudo, o uso diário do telefone móvel, o local de residência e a densidade de potência foram relatados como preditores significativos de danos genéticos, baseados em alterações nucleares como a presença de células basais picnóticas, micronúcleos e *nuclear bud* (GANDHI *et al.*, 2014).

Apesar de um sistema imunológico apto a defender o organismo contra câncer e infecções, poucas investigações são feitas sobre os possíveis efeitos da radiofrequência sobre as células imunológicas humanas. Um estudo avaliou a produção intracelular de interleucina 2 (IL-2), interferon gama (IFN- γ), interleucina 1 (IL-1) e Fator de Necrose Tumoral (TNF) em monócitos, a partir de um anticorpo monoclonal, em amostras de sangue. Esse estudo não encontrou significância entre exposição à radiofrequência e reações adversas ao sistema imunológico (TUSCHL; NOVAK; MOLLA-DJAFARI, 2006).

Em 2011, a IARC classificou ondas eletromagnéticas de radiofrequência como um potencial carcinogênico para humanos, sendo incluídos no grupo 2B (IARC, 2011). Tal classificação tem aumentado ainda mais os estudos dessas tecnologias que emitem esse tipo de onda. Para melhor compreensão dos possíveis efeitos causados pelo uso de aparelho em humanos, os estudos que associam o uso aos riscos à saúde humana devem ser feitos *in vivo*.

2.4 USO DO APARELHO CELULAR E GLÂNDULA PARÓTIDA

Estudos epidemiológicos prévios investigaram a associação do uso do telefone celular e o desenvolvimento de tumores nas glândulas parótidas (AUVINEM *et al.*, 2002; HARDELL *et al.*, 2004; SCHÜZ *et al.*, 2006; LÖNN *et al.*, 2006, SADETZKI *et al.*, 2008; DE VOCHT, 2011). Análises retrospectivas, em diferentes países, que visaram avaliar a frequência de uso do aparelho celular e relacionar com presença de neoplasia maligna de parótida concluíram que não se tem associação entre o uso do telefone celular e o desenvolvimento de neoplasias em glândulas parótidas (ZHANG *et al.*, 2003; LÖNN *et al.*, 2006). A associação entre tumores, cerebrais ou de glândulas parótidas e o uso de telefones celulares é controversa. Alguns estudos encontraram tal relação como positiva (HARDELL *et al.*, 2004; AUVINEM *et al.*, 2002) enquanto outros, em Israel, encontraram uma associação apenas com a exposição intensa e o uso ipsilateral (mesmo lado do tumor) do aparelho celular para desenvolvimento de neoplasias em glândulas parótidas (SADETZKI *et al.*, 2008). Usando a mesma metodologia de Sadetzki (2008), outros grupos europeus não encontraram associação entre o aumento de incidência de tumores de parótida e a exposição aos telefones celulares nos países analisados (DE VOCHT, 2011; SHU; AHLBOM; FEYCHTING, 2012).

Embora a abordagem entre capacidade de causar dano à saúde pela radiofrequência emitida pelos aparelhos celulares ainda seja discutível, sabe-se que o celular emite calor, causando aumento significativo da temperatura de superfície na região da orelha (TAURISANO; VORST, 2000). Um estudo avaliou o aumento de temperatura na região pré-auricular a partir do uso do telefone celular por seis minutos e concluiu que o aquecimento local decorrente da exposição da energia de radiofrequência contribui apenas como uma pequena parcela do aumento de temperatura. A maior parte do aquecimento, variando de 2,3°C a 4,5°C, é devido à condução de calor pelo próprio aparelho, principalmente, pela bateria (ANDERSON; ROWLEY, 2007). Alterações como aumento no fluxo salivar e na velocidade do fluxo sanguíneo, diminuição da concentração de proteína total na saliva no lado dominante de uso e, aumento no volume das glândulas parótidas já foram descritas em associação com o uso de celular (GOLDEWEIN; AFRAMIAN, 2010; BHARGAVA; MOTWANI; PATNI, 2012).

Diante desses efeitos já descritos, estudos moleculares têm sido feitos a fim de identificar os mecanismos de ação relacionados ao uso do aparelho celular. Hashemipour e colaboradores (2014) fizeram um estudo que avaliou os níveis de concentração de proteína total, amilase, lipase, IgA, lisozima, lactoferrina, peroxidase e proteína C reativa de saliva coletada estritamente da parótida, de forma simultânea, do lado mais exposto ao telefone celular e o menos exposto. Como achados desse estudo, observou-se um aumento no fluxo salivar e na concentração de proteína total da saliva do lado mais exposto.

Um outro estudo de base molecular foi desenvolvido por De Souza e colaboradores (2014) visando avaliar proteínas do estresse celular, concentração de proteína total e fluxo de saliva parotídea do lado mais e menos exposto ao aparelho celular. Esse trabalho não encontrou nenhuma diferença entre os parâmetros estudados na saliva da glândula parótida ipsilateral e contralateral. Além desses dois estudos, um grupo iraniano avaliou, em grupos com diferentes padrões de uso diário de celular (menos de 20 minutos de uso, de 20 a 60 minutos de uso e mais de 60 minutos de uso), o efeito desse aparelho. Nessa pesquisa, os marcadores IgA e redução do ferro a partir da FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) foram avaliados em saliva total não estimulada. Os pacientes que mais usam diariamente apresentaram menor capacidade antioxidante e menores níveis de IgA. Dessa maneira, os autores sugerem que essas alterações podem aumentar o risco de doenças inflamatórias ou câncer de boca (ARBABI-KALATI *et al.*, 2014).

Diante desse contexto, estudos moleculares de cunho exploratório devem ser desenvolvidos a fim de investigar os possíveis efeitos causados pelo telefone celular nas glândulas parótidas.

2.5 BIOMARCADORES - CITOCINAS

O processo inflamatório é controlado por mediadores extracelulares incluindo citocinas, fatores de crescimento, eicosanóides e proteínas do complemento (TURNER *et al.*, 2014). As citocinas são pequenas proteínas que atuam na interação e comunicação celular, seja de forma autócrina, parácrina ou endócrina. Elas são secretadas, principalmente por linfócitos T *helper* e macrófagos. Uma mesma célula

pode secretar diferentes citocinas ou uma mesma citocina pode ser secretada por diferentes células (ZHANG; AN, 2007). Devido a essa ação pleiotrópica das citocinas, tem-se dificuldade na identificação das funções de cada uma. Dessa maneira, muitas vezes, essas pequenas proteínas são tratadas como uma rede de ações promovidas por mais de uma citocina. (DOCKRELL, 1993; SCHAUE; KACHIKWU; MCBRIDE, 2012). Além disso, uma citocina específica expressa de forma alterada muitas vezes não está relacionada a alguma lesão (SCHAUE; KACHIKWU; MCBRIDE, 2012). As citocinas possuem atividades estimulatórias ou inibitórias e, ainda, podem agir de forma sinérgica ou de forma antagônica com outras citocinas (MATSUMOTO; KANMATSUSE, 2000).

Uma análise dos efeitos fisiológicos e patológicos da expressão regulada e desregulada de citocinas tem mostrado que esses mediadores atuam em fenômenos biológicos, tais como inflamação, cicatrização e reparo de feridas, organogênese e oncogênese (FOSTER, 2001). A ativação das vias pelas citocinas se dá a partir da ligação da citocina com o domínio extracelular do receptor correspondente, resultando na geração de sinais intracelulares (FOSTER, 2001).

Citocinas pró-inflamatórias são produzidas predominantemente por macrófagos ativados e estão envolvidas no aumento de reações inflamatórias (ZHANG; AN, 2007). Exemplos dessas citocinas são IL-1 β , interleucina 6 (IL-6), TNF- α , IFN- γ , dentre outras.

As citocinas anti-inflamatórias são moléculas imunorreguladoras que controlam a resposta desencadeada por uma citocina pró-inflamatória. Limitam as ações pró-inflamatórias que gerariam possíveis danos ao tecido e, assim, visam manter ou restabelecer a homeostase (IYER; CHENG, 2012). Elas regulam a resposta imune humana devido à ação em conjunto com inibidores específicos de citocinas e receptores solúveis de citocinas (ZHANG; AN, 2007). Um exemplo clássico para essa classe de citocinas é a interleucina 10 (IL-10): uma interleucina secretada por células T, que inibe a produção de TNF- α , IL-6 e IL-1 e também a ação de mononucleares, como macrófagos (TURNER et al., 2014). Além disso, atua superexpressando agentes endógenos anticitocinas e reduzindo o número de receptores para citocinas pró-inflamatórias (ZHANG; AN, 2007). Dessa maneira, controla a produção e função das citocinas pró-inflamatórias em diferentes níveis.

2.5.1 IL-1 β

A IL-1 β é uma citocina que pertence ao grupo da superfamília IL-1 (DINARELLO, 2009). É secretada por monócitos, macrófagos, células B, células dendríticas, fibroblastos e células endoteliais (TURNER et al., 2014) durante dano celular, infecção ou inflamação, não sendo, então, uma citocina constitutiva (ZHANG, 2007).

A IL-1 β atua como um agente endógeno pirogênico e pró-inflamatório (DUFF; DURUM, 1983). A sua atuação se dá a partir da síntese de ciclooxigenase tipo 2 (COX-2), resultando, em febre, limiar de dor reduzida, vasodilatação e hipotensão ou por sua capacidade de aumentar a expressão de moléculas de adesão intercelular nas células mesenquimais e endoteliais, promovendo a infiltração de células inflamatórias da circulação para o espaço extravascular (DINARELLO, 2009). Além disso, IL-1 β é também um fator angiogênico e desempenha um papel em metástases de tumores e na formação de vasos sanguíneos (VORONOV et al., 2003).

A ligação de IL-1 β com seu receptor, além de estimular sua própria síntese, também pode ativar a via MAPK (proteínas quinases ativadas por mitógenos) culminando na síntese de outras citocinas pró-inflamatórias ou a via do fator de transcrição fator nuclear kappa B (NF- κ B) induzindo a transcrição de genes pró-inflamatórios (TURNER et al., 2014).

2.5.2 IL-6

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica complexa que faz parte da superfamília IL-6 (SCHAUE; KACHIKWU; MCBRIDE, 2012). Atua como uma interleucina anti ou pró-inflamatória, dependendo do contexto em que está inserida, mas é comumente pró-inflamatória (ZHANG; AN, 2007). É produzida por uma variedade de diferentes tipos de células como células T e B, monócitos, fibroblastos, queratinócitos, células endoteliais e várias células tumorais (KISHIMOTO, 1989). Possui complexos mecanismos de ação que incluem efeitos específicos em cada tipo de célula. São

eles: promover produção de insulina (pâncreas), induzir glicogenólise e lipólise (músculos esqueléticos), ativar macrófagos possivelmente envolvidos na termogênese (tecido adiposo branco e marrom), inibir gliconeogênese (fígado), aumentar gasto de energia (sistema nervoso central), além de estar envolvido na tumorigênese (MAUER; DENSON; BRÜNING, 2015). Além disso, tem como função estimular a secreção de IgG e atuar na diferenciação de plasmócitos (TURNER et al., 2014). Tais ações fazem parte do processo fisiológico e, algumas vezes encontram-se desreguladas nos processos patológicos (MAUER; DENSON; BRÜNING, 2015), atuando predominantemente em células B mas também em células T. Diante desse amplo espectro de ações, pode ser ativada por diferentes mecanismos como presença de lipopolissacarídeos, IL-1, TNF, glicocorticoides e vírus (TURNER et al., 2014).

Como já dito, IL-6 age em diferentes tecidos e células, promovendo múltiplos sinais. Esses sinais podem ser divididos em 3 categorias: indução da diferenciação celular ou da expressão gênica específica, ou estimulação do crescimento celular, ou inibição do crescimento celular. A via de sinalização da IL-6 inicia quando o ligante interage com o receptor IL-6R ativando transdução de sinais via gp130 (glicoproteína 130), que recruta JAK (*janus kinases*) que fosforila o receptor e a própria JAK. Essa fosforilação ativa STAT3 (transdutor de sinal e ativador de transcrição do tipo 3) por fosforilação e dimerização o qual será transportado para o núcleo, promovendo transcrição de genes pró-inflamatórios e moléculas de adesão intracelular (TURNER et al., 2014).

2.5.3 TNF- α

O TNF- α é uma citocina da superfamília TNF, secretada por macrófagos, linfócitos, células epiteliais e endoteliais (SCHAUE; KACHIKWU; MCBRIDE, 2012; RAMSEYER; GARVIN, 2013). Induz a ativação da produção de citocinas, ativação ou expressão de moléculas de adesão e estimulação do crescimento (TURNER et al., 2014), atuando em diferentes funções como inflamação, desenvolvimento linfóide, apoptose, embriogênese e hematopoiese (VASSALLI, 1992; CASTILLO et al., 2012).

Essa citocina atua em diferentes vias de sinalização através de dois receptores de superfície celular: receptores do fator de necrose tumoral (TNFR1 e TNFR2) (BOTCHKINA et al., 1997). Acredita-se que TNFR1 atua em efeitos citotóxicos do TNF- α e que TNFR2 atua em efeitos protetores do TNF- α (FELDMANN, 2008). Os efeitos citotóxicos são alcançados a partir da ativação do NF- κ B e proteína ativadora-1 (AP-1), que controla a expressão de genes pró-inflamatórios; ou da ativação da via das caspases, culminando na apoptose; ou da ativação da via da enzima fosfatidilinositol-3-kinase (PI3K), que está associada à sobrevivência e à proliferação celular. Já os efeitos protetores são baseados no reparo tecidual e angiogênese, por promover ativação, migração e proliferação celular (AGGARWAL, 2003; TRACEY et al., 2008). Tais vias também são moduladas por IFN- γ (VASSALLI, 1992). Em casos de falha do TNFR1, TNFR2 pode atuar na indução da apoptose (TURNER et al., 2014).

2.5.4 IL-10

A IL-10 é membro da superfamília IL-10 e é secretada por monócitos, macrófagos, células T e B, células NK (células *natural killer*), mastócitos e queratinócitos (SCHAUE; KACHIKWU; MCBRIDE, 2012). A IL-10 é um agente anti-inflamatório, que inibe a produção de citocinas e de células mononucleares (TURNER et al., 2014). Essa citocina é um potente anti-inflamatório que atua prevenindo doenças inflamatórias, incluindo doenças autoimunes (SABAT et al., 2010).

A síntese e a secreção se dão a partir da indução, comumente de macrófagos, em resposta à interação ligante e receptores TLR e, em seguida, em ação conjunta com MyD88 (fator de diferenciação mielóide 88). Essa ligação sinaliza a cascata da via p38 (protein 38) e ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) culminando na produção tanto de citocinas pró-inflamatórias quanto de IL-10 (IYER; CHENG, 2012).

As atividades pleiotrópicas da IL-10 são mediadas pela interação entre IL-10 e seus receptores, IL-10R1 e IL-10R2, que atuam formando um complexo composto

por 2 subunidades de cada tipo (REINEKE et al., 1998; MOSSER; ZANG, 2008). Uma vez reconhecida essa ligação, sinais intracelulares são desencadeados de forma a ativar a via JAK/STAT, que fará alterações no perfil de expressão de genes imunomoduladores (WILLS-KARP et al., 2010). Essa regulação inibe a produção de mediadores pró-inflamatórios e diminui a apresentação de antígenos e o processo de fagocitose (IYER; CHENG, 2012). Um dos mecanismos que diminui a expressão de mediadores pró-inflamatórios é a presença de SOCS-3 (*Suppressor of Cytokine Signaling-3*) que é um membro da família de inibidores da via JAK/STAT (DONNELLY; DICKENSHEETS; FINBLOOM, 1999). Dessa maneira, a habilidade de IL-10 em inibir rapidamente a expressão gênica de monócitos se dá, em geral, pela rápida indução da síntese dessa molécula (RAYMOND et al., 1999).

2.5.5 IFN- γ

IFN- γ é também uma citocina produzida por células T e células NK (TURNER et al., 2014). Exerce funções de ativar macrófagos e potencializar a função de neutrófilos e monócitos, atuar na inflamação, defender o hospedeiro contra patógenos intracelulares e atuar na progressão tumoral (VILCEK; FELDMANN, 2004; HU; IVASHKIV, 2009). É um importante mediador endógeno da imunidade e inflamação. Pode atuar tanto aumentando quanto suprimindo a autoimunidade, o que permite regular o equilíbrio entre a depuração de patógenos invasores e limitar os danos colaterais para o organismo. (HU; IVASHKIV, 2009)

Sinais produzidos por IFN- γ são transmitidos a partir da interação heterodimérica entre receptor 1 e 2 para IFN- γ (IFN γ R1 e IFN γ R2) por meio da via JAK/STAT. Tal via ativa a transcrição de genes induzidos por essa citocina como genes codificadores de proteínas anti-virais, receptores fagocíticos, quimiocinas, citocinas e moléculas apresentadoras de antígenos (HU; IVASHKIV, 2009). Devido a várias atividades desempenhadas por IFN- γ , a ativação direta de STAT1 pode não ser explicada por ação dessa própria citocina. Acredita-se que por ser uma molécula mediada por regulação de outras citocinas juntamente com outros fatores inflamatórios, a ativação dessa via pode ser de responsabilidade de outras moléculas e não pelo próprio IFN- γ (HU; IVASHKIV, 2009).

3 JUSTIFICATIVA

Diante de um contexto em que se tem o uso crescente do aparelho celular, há uma preocupação quanto aos danos que o uso desta tecnologia pode trazer para a saúde humana. Tal preocupação é sustentada pelo fato de alguns estudos epidemiológicos sugerirem que a exposição à radiação está associada ao desenvolvimento de neoplasias de cabeça e pescoço enquanto outros refutam essa associação. Os dados sobre esses danos que o celular causa na saúde humana são ainda conflituosos. Assim, é fundamental que estudos venham a elucidar as alterações moleculares iniciais causadas localmente pelo uso dos aparelhos celulares.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os possíveis efeitos inflamatórios do uso do aparelho celular sobre as glândulas parótidas, a partir da análise de saliva estritamente parotídea.

4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar o efeito do uso dos aparelhos de telefone celular sobre os níveis salivares de IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ e TNF- α , concentração de proteína total na saliva, além do fluxo salivar, das glândulas parótidas ipsilaterais, comparado com as glândulas parótidas contralaterais

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa segue as normas exigidas pela legislação brasileira, conforme resoluções CNS nº 196/96 e 304/00 do Conselho Nacional de Saúde, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos. O projeto intitulado “Efeito da radiação emitida pelos aparelhos de telefone celular nas glândulas parótidas” foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG, no Parecer ETIC 0170.0.203.000-10 (ANEXO I). Os voluntários que concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO II) e, em seguida, responderam a um questionário exploratório (ANEXO III).

5.2 RECRUTAMENTO DE INDIVÍDUOS

O estudo foi realizado com uma amostra de conveniência que envolvia acadêmicos do curso de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Previamente, foram excluídos os voluntários que declararam não utilizar telefone celular ou que utilizam ambos os lados, tanto direito quanto esquerdo, sem um lado preferencial de uso. Indivíduos que faziam uso de mecanismos não tradicionais para atender às chamadas, como fones de ouvido, viva-voz e *bluetooth*, não foram incluídos na pesquisa. Outros critérios de exclusão utilizados foram a presença de doenças crônicas como diabetes e anemia, uso de medicamentos, relatos de trauma em face, gravidez, além de uso crônico de álcool, drogas e/ou tabagismo (GOLDEWEIN; AFRAMIAN, 2009). Os voluntários selecionados responderam a um questionário confeccionado que caracteriza o perfil dos usuários quanto ao uso do aparelho celular (ANEXO III).

5.3 O QUESTIONÁRIO

O questionário incluiu dados como sexo, idade, questões relativas ao uso do celular como lado preferencial de uso do aparelho, tempo de uso mensal para ligações, tempo decorrido em que se faz uso dessa tecnologia e como são feitas essas ligações (de curta ou longa duração, muitas ou poucas por dia). O tempo em minutos do uso do celular por mês foi categorizado em até 60 minutos, de 60 a 90 minutos, de 90 a 120 minutos, de 120 a 200 minutos, mais de 200 minutos, como já relatado anteriormente (DE SOUZA *et al.* 2014). Para cada indivíduo em estudo, considerou-se a glândula parótida que ele relatava como a mais frequentemente exposta ao celular (lado preferencial de uso) como lado ipsilateral e o outro lado menos exposto como contralateral. Esse último é tido como controle do efeito produzido pelo celular nessas glândulas. Além dessas questões, foi feito o seguinte questionamento: “Você acredita que o uso do celular causa prejuízos à saúde?”.

O tamanho amostral foi determinado por um cálculo estatístico que incluiu a porcentagem de pessoas afetadas pelo uso do telefone celular como 80% (HASHEMIPOUR *et al.*, 2014), o erro do tipo I (α) fixado em 10%, nível de significância 95%, poder do teste de 85% e considerando 10% para possíveis perdas. Para essas condições, o número ideal de indivíduos a serem analisados foi 69.

5.4 COLETA E ARMAZENAMENTO DA SALIVA

Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, a coleta salivar foi feita com um coletor estéril apropriado, desenvolvido e patenteado por membros do Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Odontologia da UFMG (Número da patente BR1020140324530, Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Brasil). Com esse mecanismo, a coleta foi feita de forma simultânea nas duas parótidas (direita e esquerda), a partir de um compressor a vácuo. Durante toda a coleta, a saliva foi armazenada em tubo falcon, um para cada parótida, e mantido em uma caixa com gelo. Os participantes foram instruídos a não escovar os dentes, não comer e não beber por pelo menos uma hora antes da coleta (GOLDEWEIN; AFRAMIAN, 2009). A coleta foi realizada pela manhã, com todos os voluntários, durante 10 minutos, e entre intervalos de 2 minutos, estimulada com

swab embebido no ácido cítrico 2% visando aumentar fluxo salivar. Após a coleta, a saliva foi quantificada em mL por 10 minutos. Em seguida, foi adicionada à saliva, solução de inibição de protease [PBS - tampão fosfato-salino (0,4 mM de NaCl e 10 mM de NaPO₄), inibidores de proteases (0,1 mM de Fluoreto de Fenil metil sulfonil, 0,1 mM de cloreto de benzetônio, 10 mM de EDTA e 0,01 mg/mL de aprotinina A) e 0,05% de Tween-20] em proporção de 1:1. A solução foi homogeneizada, aliqüotada e armazenada em freezer -20°C até posterior análise (DE SOUZA *et al.*, 2014). Todos os ensaios (dosagem de proteína total e reações de imunoensaio) foram realizados em duas placas de modo que todas as amostras fossem analisadas. As amostras foram subdivididas em dois grupos, analisados em tempos diferentes, sendo que o primeiro incluiu as amostras de 1 a 40, que foram analisadas no espectrofotômetro *VICTOR™ X4 Multilabel Plate Reader* (PerkinElmer, Waltham, USA) e o segundo grupo, as amostras de 41 a 83, que foram analisadas no espectrofotômetro *Epoch™ Microplate Spectrophotometer* (BioTek, Winooski, USA). Para cada indivíduo, as amostras de ambos as parótidas foram avaliadas no mesmo experimento. Após a utilização, todas as amostras foram descartadas.

5.5 DOSAGEM DE PROTEÍNA TOTAL

Foi feita a dosagem de proteína total presente na saliva de cada indivíduo e de cada lado a partir do Método de Bradford (BRADFORD, 1976), por meio do reagente de Bradford (Sigma, Saint Louis, MO, USA) e curva padrão de albumina (Fermentas Life Sciences, Vilnius, Lithuania), de acordo com o protocolo do fabricante. Os valores totais obtidos foram usados para corrigir os valores de cada amostra em cada ensaio, estabelecendo as concentrações em mg/ml para cada amostra.

5.6 REAÇÕES DE ELISA (*ENZYME LINKED IMMUNO SORBENT ASSAY*)

A saliva armazenada a -20°C foi quantificada para os níveis salivares de IL-1 β (Kit number: ADI-900-130, Enzo Life Sciences Assay Designs Inc., USA), IL-6 (Kit number: ADI-900-033, Enzo Life Sciences Assay Designs Inc., USA), IL-10 (Kit

number: ADI-900-036, Enzo Life Sciences Assay Designs Inc., USA), IFN- γ (Kit number: ADI-900-136, Enzo Life Sciences Assay Designs Inc., USA) e TNF- α (Kit number: ADI-900-099, Enzo Life Sciences Assay Designs Inc., USA), de acordo com as instruções do fabricante. Os kits comerciais utilizados têm como base as reações do tipo ELISA. Tais ensaios são quantitativos, baseados em reações do tipo antígeno-anticorpo, em que é utilizada uma enzima e um substrato específico o que permite mudança de cor em presença do antígeno em estudo (nesse caso, as citocinas). De acordo com a intensidade da cor obtida em cada amostra e da absorbância, ao comparar com o padrão, pode-se quantificar o antígeno, até mesmo, em baixas concentrações (HORNBECK, 2001). Após a realização desses ensaios imunoenzimáticos, os valores obtidos por espectrofotometria foram corrigidos pela concentração de proteína total encontrada, chegando, então, a uma concentração, mg/ml, para cada parâmetro de cada indivíduo.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os parâmetros obtidos do lado ipsilateral de cada indivíduo foi comparado com o lado contralateral, originado do mesmo indivíduo. Ou seja, o controle para cada caso é do mesmo indivíduo, sendo então uma análise pareada. Cada amostra foi codificada e a análise foi feita de forma cega.

Todos os dados obtidos durante a pesquisa foram armazenados em um banco de dados. A análise estatística desses dados e a confecção dos gráficos foram feitas usando Minitab 16 (Minitab Inc, USA).

O teste Anderson-Darling (teste AD) foi realizado para avaliação da normalidade dos dados e assumida a normalidade quando se tinha $p > 0,05$. O teste de Wilcoxon bicaudal (estatísticas de Wilcoxon) foi usado quando os dados não apresentavam distribuição normal. *Outliers* foram utilizados em toda a análise estatística uma vez que o teste de escolha foi um teste não-paramétrico. O nível de significância foi estabelecido em 0,05. Diante da realização de múltiplos testes, foi feita a correção de Benjamini-Hochberg para evitar taxas de falsas descobertas, nos casos em que $p < 0,05$. Dados pareados foram apresentados de acordo com a proposta de Weissgerber (2015). O teste Mann-Whitney foi realizado para avaliar as

diferenças entre os níveis encontrados no lado ipsilateral e contralateral comparado com análises dicotomizadas: para o uso do aparelho celular em anos (até 10 anos e mais de 10 anos) e uso mensal (até 200 minutos e mais de 200 minutos). Para essas análises, o nível de significância estabelecido foi em 0,05.

Devido ao fato dos imunoenaios enzimáticos terem sido feitos em diferentes tempos e em dois espectrofotômetros diferentes, foi investigado a possibilidade do efeito fornalha (*efeito de batch*) mas isso não foi observado uma vez que tais diferenças se mantiveram nas duas placas de ensaios.

6 RESULTADOS

6.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Levando-se em consideração os fatores de exclusão e inclusão definidos, 83 indivíduos foram incluídos no estudo. Uma das 83 amostras apresentou valores extremos (*extreme outlier*) para três parâmetros estudados e, então, foi excluída das análises. Dessa maneira, a análise dos resultados foi realizada com 82 indivíduos. A maioria era do sexo feminino (n=55 – 61,7%) com média de idade de 22,5 ± 3,65 anos (18-35 anos). Além disso, a maioria dos participantes relatou usar o aparelho celular preferencialmente do lado direito (91,5%) e, ainda, 57,3% relataram usar por um período menor que dez anos. 41,5% dos participantes utilizavam mais que 200 minutos mensais. Além disso, 52,4% relataram não acreditar que o aparelho celular cause algum dano à saúde. Outras informações obtidas a partir do questionário podem ser encontradas na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização dos participantes e perfil de uso do aparelho celular

Idade média ± desvio padrão (min-max)	22,5 ± 3,65 (18-35)
Sexo % (n)	
Masculino	32,9% (n=27)
Feminino	67,1% (n=55)
Uso mensal do aparelho celular % (n)	
Até 200 minutos	58,5% (n=48)
Mais de 200 minutos	41,5% (n=34)
Período de uso do aparelho celular em anos % (n)	
Até 10 anos	57,3% (n=47)
Mais de 10 anos	42,7% (n=35)
Lado preferencial de uso % (n)	
Direito	91,5% (n=75)
Esquerdo	8,5% (n=7)
Percepção dos indivíduos quanto aos danos à saúde	
Sim	47,6% (n=39)
Não	52,4% (n=43)

6.2 RESULTADOS MOLECULARES

Primeiramente, os parâmetros foram avaliados quanto ao tipo de distribuição da amostra, a partir do teste estatístico Anderson-Darling (teste AD) para avaliar a normalidade. De posse dos resultados, as amostras foram consideradas não paramétricas. A Figura 1 apresenta os valores brutos de fluxo salivar, concentração de proteína total, níveis de IL-6, TNF- α , IL-10 e IL-1 β nas amostras de saliva avaliadas em parótidas nos lados ipsilateral e contralateral, para cada indivíduo avaliado. Os níveis de IFN- γ não puderam ser detectados e, dessa maneira, esse parâmetro não foi analisado. Não foi encontrado diferença em fluxo salivar, níveis salivares de IL-6 e TNF- α entre lado ipsilateral e contralateral (Figura 1, Figura 2 e Tabela 2). Aumento nos níveis salivares de IL-1 β ($p=0,010$) e concentração de proteína total ($p=0,048$), bem como a diminuição dos níveis salivares de IL-10 ($p=0,004$) no lado ipsilateral foram observados em comparação com o contralateral (Figura 1, Figura 2 e Tabela 2). Devido às múltiplas análises realizadas, foi feita uma correção para múltiplos testes (Benjamini-Hochberg) e os níveis salivares de IL-1 β e IL-10 mantiveram se estatisticamente significantes, a partir do nível de significância corrigido (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da análise estatística dos parâmetros avaliados.

Parâmetros	Ipsilateral		Contralateral		n ¹	Teste de Wilcoxon		Nível de significância corrigido (α)
	Teste AD	P	Teste AD	P		Valor do teste	P	
Fluxo salivar	2,32	<0,01	1,89	<0,01	78	1524,00	0,936	-
Concentração de proteína total	0,75	0,05	0,36	0,45	82	2129,00	0,048	0.025
IL-1β	18,55	<0,01	23,14	<0,01	24	241,00	0,010	0.017
IL-10	3,29	<0,01	2,43	<0,01	68	697,00	0,004	0.008
IL-6	2,96	<0,01	5,10	<0,01	79	1427,00	0,456	-
TNF-α	9,31	<0,01	8,16	<0,01	57	772,00	0,668	-

Teste AD: Teste de normalidade Anderson-Darling. n¹: o número total de amostras no lado ipsilateral e contralateral que são diferentes de zero e que foi incluído no teste estatístico de Wilcoxon (WILCOXON, 1945). Houve diferenças nos níveis salivares de IL-1 β e IL-10 entre lado ipsilateral e contralateral, depois da correção de múltiplos testes.

O teste Mann-Whitney foi feito usando diferenças entre os níveis encontrados no lado ipsilateral e contralateral de acordo com uma análise dicotomizada do uso do aparelho celular em anos: até 10 anos e mais de 10 anos. Não houve efeito na diferença entre os dois grupos (ipsilateral e contralateral) para fluxo salivar, ($p=0,4069$), proteína total ($p=0,1197$), IL-6 ($p=0,4529$), TNF- α ($p=0,8506$) e IL-1 β ($p=0,999$). Contudo, indivíduos que relataram fazer uso por mais de 10 anos, apresentaram diferença significativa entre o lado ipsilateral e contralateral para níveis de IL-10 ($p=0,0012$) (Figura 3). A mesma análise foi feita para avaliar possíveis diferenças entre os parâmetros dos lados ipsilateral e contralateral quanto ao uso mensal do aparelho celular, de forma dicotomizada: até 200 minutos e menos que 200 minutos. Nenhuma associação foi encontrada entre uso mensal do aparelho celular e fluxo salivar ($p=0,7651$), concentração de proteína total ($p=0,2413$), IL-6 ($p=0,9248$), TNF- α ($p=0,4693$), IL-10 ($p=0,7636$) e IL-1 β ($p=0,9805$). Todos os dados coletados a partir dos questionários e dos ensaios estão disponíveis no APÊNDICE A.

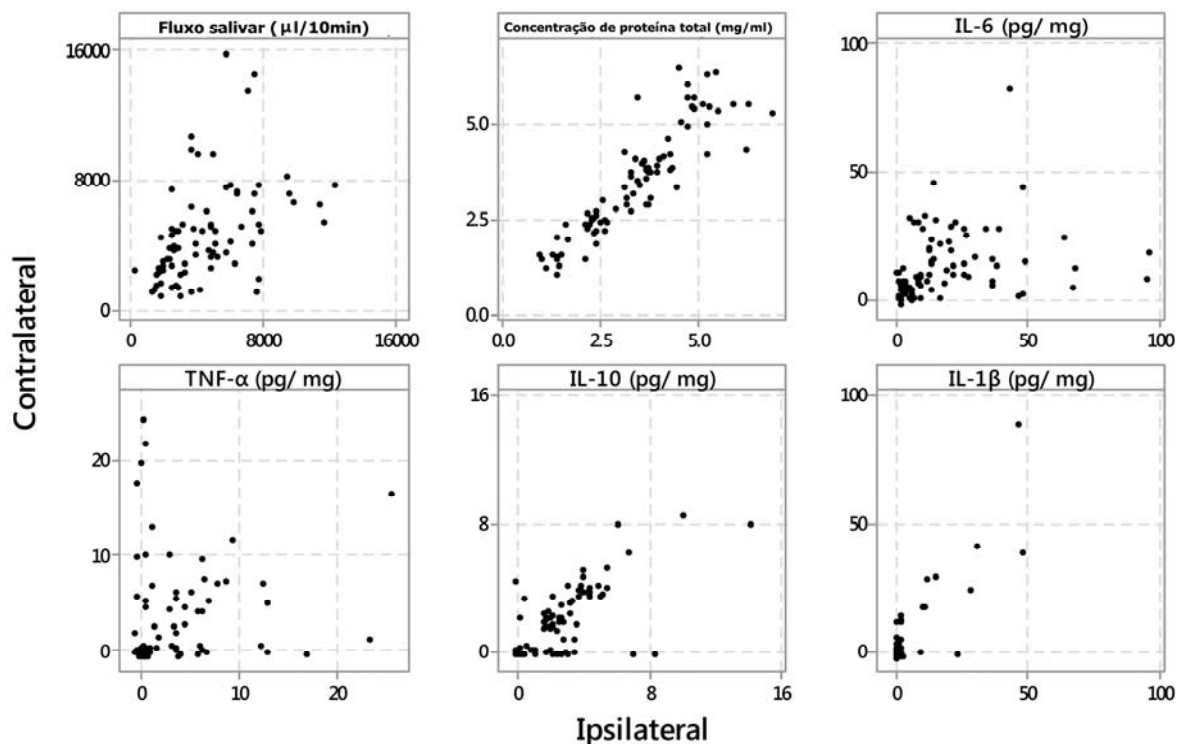


Figura 1. Fluxo salivar, concentração de proteína total, níveis de IL-6, TNF- α , IL-10 e IL-1 β nas amostras de saliva avaliadas em parótidas nos lados ipsilateral e contralateral. Não houve diferença estatisticamente significativa em fluxo salivar ($p=0,936$), concentração de proteína total ($p=0,048$), níveis de IL-6 ($p=0,456$) e TNF-

α ($p=0,668$) entre os lados ipsilateral e contralateral. Foi encontrado um aumento nos níveis salivares de IL-1 β ($p=0,010$) e uma diminuição nos níveis de IL-10 ($p=0,004$) no lado ipsilateral comparado com o lado contralateral.

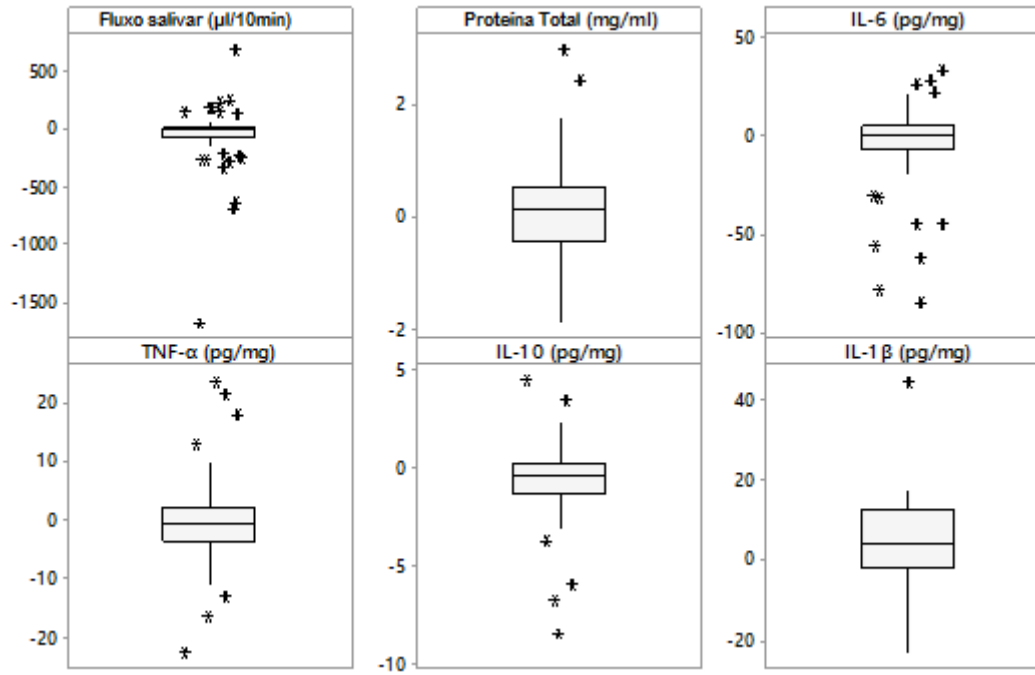


Figura 2. Diferença nos níveis salivares entre o lado ipsilateral e contralateral para fluxo salivar, concentração de proteína total, níveis de IL-6, TNF- α , IL-10 e IL-1 β nas amostras de saliva avaliadas. Mediana acima de zero para as diferenças nos níveis de proteína total e IL-1 β e mediana abaixo de zero para níveis de IL-10.

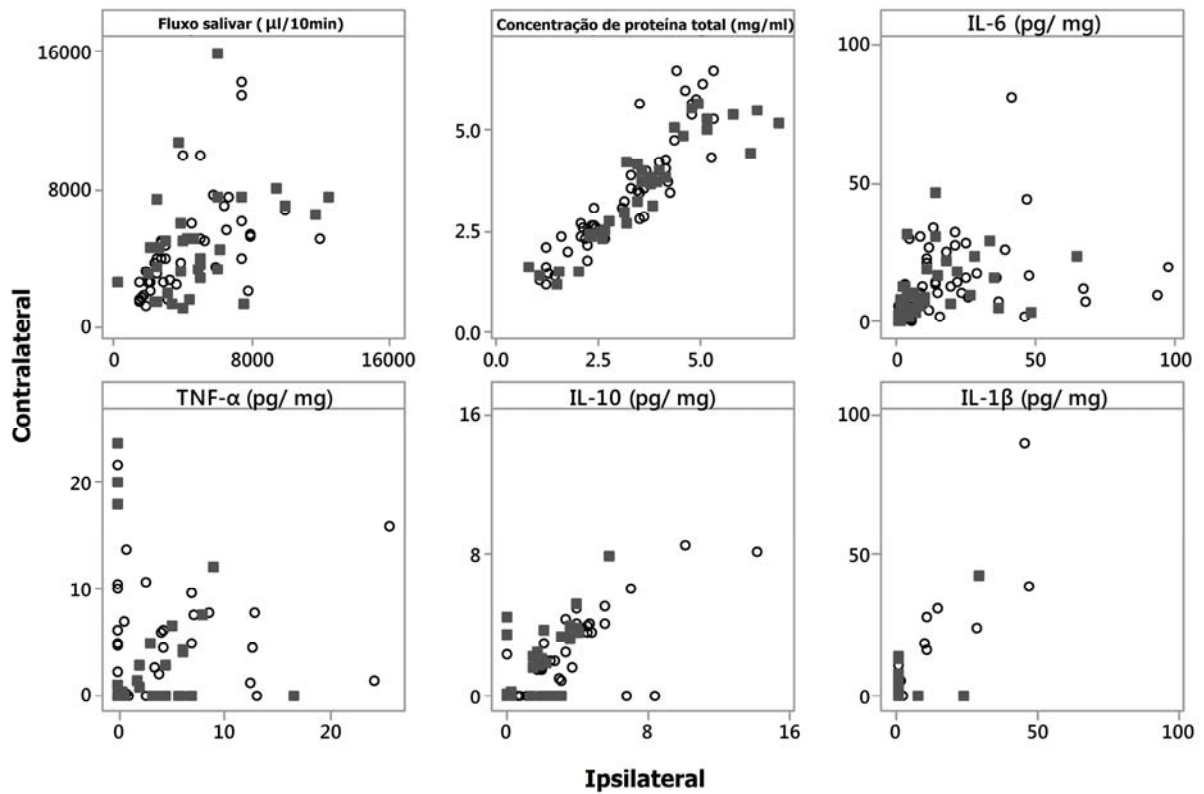


Figura 3. Fluxo salivar, concentração de proteína total, níveis de IL-6, TNF- α , IL-10 e IL-1 β nas amostras de saliva avaliadas em parótidas nos lados ipsilateral e contralateral dicotomizada, de acordo com o tempo de uso do telefone celular, em anos. Não houve diferença estatística para fluxo salivar ($p=0,4069$), concentração de proteína total ($p=0,1197$), níveis de IL-6 ($p=0,4529$), TNF- α ($p=0,8506$) e IL-1 β ($p=0,999$). Indivíduos que usam telefone celular por mais de 10 anos apresentaram uma diminuição dos níveis de IL-10 no lado ipsilateral ($p=0,0012$). Círculos: uso por até 10 anos; Quadrado: uso por mais de 10 anos.

7 DISCUSSÃO

Estima-se que existam 7 bilhões de usuários de telefones celulares em todo o mundo (IARC, 2014) e, no Brasil, existam 139 telefones celulares ativos por 100 habitantes (ANATEL, 2014). O uso crescente e difundido de telefones celulares e outros dispositivos de radiações não ionizantes têm levantado preocupações sobre a sua segurança e os possíveis efeitos sobre a saúde humana. Os efeitos relatados quanto ao uso do telefone celular nas glândulas parótidas são inconsistentes, em que se tem alguns estudos sugerindo um aumento da incidência de tumores benignos e malignos de parótida associados ao uso de telefones celulares (HARDELL *et al.*, 2004; LÖNN *et al.*, 2006; SADETZKI *et al.*, 2008; DUAN; ZHANG; BU, 2011) e outros que não conseguiram demonstrar tal associação (HARDELL *et al.* 2004; LÖNN *et al.* 2006).

Com base em estudos epidemiológicos não há evidência consistente que suporte a associação entre o aumento do risco de desenvolvimento de tumores cerebrais e da região de cabeça e pescoço e o uso de telefones celulares (SCENIHR, 2015). Isso pode justificar a resposta dada à pergunta feita aos indivíduos a respeito dos possíveis danos causados pelo aparelho celular à saúde. Os dois grupos (sim e não) tiveram número semelhante de respostas.

No presente estudo, de acordo com as informações auto relatadas sobre o uso do telefone celular, houve associação do lado preferencial de uso do celular com alterações na expressão de citocinas salivares produzidas pela glândula parótida. Assim sendo, a exposição ao telefone celular foi associada a um aumento do nível de IL-1 β (uma citocina pró-inflamatória) e a diminuição dos níveis de IL-10 (citocina anti-inflamatória) na saliva da glândula parótida mais exposta (lado preferencial de uso relatado pelo indivíduo). As diferenças nos níveis de IL-10 ipsilateral e contralateral foram mais pronunciadas em indivíduos cujo uso de celulares foi por longo tempo (relatados como mais de 10 anos) do que naqueles que relataram usar por menos de 10 anos. Esses achados podem ser interpretados como resultado de um efeito cumulativo ou crônico do uso dessa tecnologia. Essa relação de níveis inversos de IL-1 β e IL-10 já foi demonstrada anteriormente em sangue. Pacientes obesos ou com sobrepeso apresentam declínio de IL-10 e aumento de IL-1 β sanguíneo, sugerindo então, que IL-10 pode contribuir para a presença de maiores

taxas de IL-1 β . Dessa maneira, sugere-se um ambiente pró-inflamatório em associação com obesidade e sobrepeso (CHANG *et al.*, 2013). Curiosamente, a radiação ionizante pode afetar a saúde humana especificamente na iniciação e progressão do tumor principalmente por causar mutações, mas também pode exercer efeitos deletérios através da promoção da resposta inflamatória à lesão induzida por radiação inicial (MUKHERJEE *et al.*, 2014). Tal efeito nunca foi mostrado ou discutido para radiação não ionizante.

Já é descrito que a presença da inflamação crônica em um determinado tecido pode predispor iniciação e desenvolvimento tumoral uma vez que podem induzir danos irreversíveis ao DNA (RAI *et al.*, 2010; BARCELLOS-HOFF *et al.*, 2014; HISAMATSU *et al.*, 2013). Além disso, determinados níveis de IL-10 podem ser associados a tumorigênese e piores prognósticos (LANDSKRON *et al.*, 2014). Uma inflamação persistente pode ser um mecanismo de desenvolvimento de doenças inflamatórias tendo, então, um papel importante na carcinogênese (MEDZHITOV, 2010). Respostas inflamatórias são necessárias para o desenvolvimento do câncer (MONTOVANI *et al.*, 2008). Acredita-se que a ligação entre inflamação e câncer seja devido à inflamações crônicas, oriundas de irritações a longo prazo, que geram alterações no epitélio próximo, tornando-o displásico, até a evolução à carcinoma (RAKOFF-NAHOUM, 2006). Isso pode ser explicado pelo fato de diversos mediadores inflamatórios serem capazes de estimular a proliferação celular de células já mutadas como também, alterar o DNA de células normais, ou seja, além de iniciar, é capaz de promover a proliferação das células danificadas (BALKWILL, MONTOVANI; 2001). Além disso, a quantidade de genes inflamatórios expressos em um ambiente relacionam negativamente com o estágio do câncer e, conseqüentemente, o prognóstico da doença (GALON *et al.*, 2006). Nesse caso, não está claro se as diferenças observadas nos perfis de citocinas aqui descritos podem de alguma forma ter impacto sobre tumorigêneses da parótida. Portanto são necessários estudos de coorte com longo prazo de acompanhamento de usuários com alto perfil de consumo para avaliar essa possível associação. Seria prematuro chegarmos a qualquer conclusão de carcinogênese com base nos dados obtidos.

As alterações observadas no perfil das citocinas inflamatórias são atribuídas aos efeitos de aquecimento. Altas temperaturas podem alterar os níveis de expressão de citocinas (Interleucina 12, TNF- α e de GM-CSF - fator estimulador de

colônias de granulócitos e macrófagos) e proteínas de choque térmico em animais (PAWAR *et al.* 2014). Nos seres humanos, um ambiente com altas temperaturas, como sauna, pode alterar a expressão de IL-1 β e os níveis de TNF- α na saliva (DUGUE *et al.* 1996). Além disso, o estresse psicofísico também pode afetar a presença de citocinas salivares (ILARDO *et al.* 2001;. ZEFFERINO *et al.*, 2006; SLAVISH *et al.*, 2015).

Entre as limitações deste tipo de pesquisa está o fato de o pesquisador não ter acesso a fragmentos de glândulas salivares saudáveis. Por isso, de acordo com Kaufman e Lamster (2012) usa-se como material de análise a saliva, que se apresenta como um potencial diagnóstico valioso, já que reflete a condição fisiológica da glândula que a secreta (MALAMUD; RODRIGUEZ-CHAVEZ, 2011; AL KAWAS; RAHIM; FERGUSON, 2012). Além disso, é difícil reproduzir o micro ambiente humano em casos de cultura de células e/ou em experimentação animal. Sabe-se que um resultado mais fidedigno poderia ser alcançado através do estudo de fragmentos de parótida. Todavia, essa prática não é viável, pois esse procedimento é invasivo e seria antiético adotá-lo em caso de pesquisa. Outras limitações do nosso estudo incluem a idade jovem dos participantes, o tempo de uso do telefone celular, de forma geral curto, tanto em minutos mensais quanto em anos. Além disso, é preciso destacar que os dados colhidos estão sujeitos a viés de memória.

Enfim, este é um dos poucos trabalhos relativos aos efeitos do uso do telefone celular na parótida de cunho molecular que revelou alterações precoces. O próprio tema abordado é controverso, já que existem estudos que associam o uso do celular a lesões em parótida, e outros que não comprovam tal relação. Nesse contexto, ressalta-se a importância de se desenvolver mais trabalhos, como este de base molecular, que buscam desvendar a biologia nos tecidos submetidos a esse tipo de tecnologia.

8 CONCLUSÃO

O uso do telefone celular não altera o fluxo salivar ou os níveis de expressão de IL-6 e TNF- α na saliva da glândula parótida. No entanto, há diferenças nos níveis salivares de IL-1 β e IL-10 no lado ipsilateral, em comparação com o lado contralateral. O aumento dos níveis de IL-1 β e redução IL-10 no lado ipsilateral se configuram como um perfil pró-inflamatório na parótida naturalmente exposta a telefones celulares. As causas dessas diferenças e qualquer possível significado biológico e impacto na saúde humana ainda precisam ser definidos e esclarecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUL EZZ, H.S.; et al. The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 Jul; 17(13):1782-8.

AGAR, J. *Constant Touch: a Global History of the Mobile Phone*. Cambridge: Icon Books, 2003.

AGGARWAL, B.B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol*. 2003; 3(9):745-56.

ANATEL. Agência Nacional de Telecomunicações. *Estatísticas de celulares no Brasil*. Brasil, 2015

AHLBOM, A.; et al. Guidelines for Limiting Exposure to Time-Varying Electric, Magnetic and Electromagnetic Fields (up to 300 GHz). *Health Phys*. 1998; 74(4): 494-522.

AL KAWAS, S.; RAHIM, Z.H.; FERGUSON, D.B. Potential uses of human salivary protein and peptide analysis in the diagnosis of disease. *Arch Oral Biol*. 2012 Jan;57(1):1-9.

ANDERSON, V.; ROWLEY, J. Measurements of skin surface temperature during mobile phone use. *Bioelectromagnetics*. 2007; 28:159-62.

ARBABI-KALATI, F.; et al. Effect of Mobile Phone Usage Time on Total Antioxidant Capacity of Saliva and Salivary Immunoglobulin A. *Iran J Public Health*. 2014; 43(4): 480–4.

ARELLANO-GARCIA, M.E.; et al. Interferon- γ induces immunoproteasomes and the presentation of MHC I-associated peptides on human salivary gland cells. *Plos One*. 2014; 7;9(8):e102878.

AUVINEM, A.; et al. Brain tumors and salivary gland cancers among cellular telephone users. *Epidemiology*. 2002; 13(3):356-9.

AYDOGAN, F.; et al. The effect of 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G mobile phone on the parotid gland of rats. *Am J Otolaryngol*. 2015; 36(1):39-46.

AZIZ, S.; et al. Salivary immunosuppressive cytokines IL-10 and IL-13 are significantly elevated in oral squamous cell carcinoma patients. *Cancer Invest.* 2015; 33(7):318-28.

BAAN, R.; et al. Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields. *Lancet Oncol.* 2011; 12(7):624-6.

BALKWILL F, MANTOVANI A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet.* 2001;17; 357(9255):539-45.

BARCELLOS-HOFF, M.H.; et al. Review of System Biology and Radiation Carcinogenesis. Systems biology perspectives on the carcinogenic potential of radiation. *J Radiat Res.* 2014; 55(Suppl 1): i145–i54.

BEHARI, J. Biological responses of mobile phone frequency exposure. *Indian J Exp Biol.* 2010; 48(10):959-81.

BHARGAVA, S.; MOTWANI, M.B.; PATNI, V.M. Effect handheld mobile phone use on parotid gland salivary flow rate and volume. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012; 114(2):200-6.

BOTCHKINA, G.I.; et al. Expression of TNF and TNF receptors (p55 and p75) in the rat brain after focal cerebral ischemia. *Mol Med.* 1997; 3(11):765-81.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72:248-54.

CARDIS, E.; et al. The INTERPHONE study: design, epidemiological methods, and description of the study population. *Eur J Epidemiol.* 2007; 22(9):647-64.

CARPENTER, D.O. Human disease resulting from exposure to electromagnetic fields. *Rev Environ Health.* 2013; 28(4):159-72.

CASTILLO, A.; et al. Tumor necrosis factor- α receptor type 1, not type 2, mediates its acute responses in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012; 302(12):F1650-F7.

CHANG, J.S.; et al. Association between interleukin 1 β and interleukin 10 concentrations: a cross-sectional study in young adolescents in Taiwan. *BMC Pediatr.* 2013; 13:123.

CHAVDOULA, E.D.; PANAGOPOULOS, D.J.; MARGARITIS L.H. Comparison of biological effects between continuous and intermittent exposure to GSM-900-MHz mobile phoneradiation: Detection of apoptotic cell-death features. *Mutat Res.* 2010; 700(1-2):51-61.

DE SOUZA, F.T.; et al. Cell phone use and parotid salivary gland alterations: no molecular evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23(7):1428-31.

DE SOUZA, F.T.; et al. The association of openness personality trait with stress-related salivary biomarkers in burning mouth syndrome. *Neuroimmunomodulation* 2015; 22(4):250-5.

DINARELLO, C.A. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27:519-50.

DOCKRELL, H.M. The Cytokine Handbook. *Immunology.* 1993; 78(2):339.

DONNELLY, R.P.; DICKENSHEETS, H.; FINBLOOM, D.S. The Interleukin-10 Signal Transduction Pathway and Regulation of Gene Expression in Mononuclear Phagocytes. *J Interferon Cytokine Res.* 1999; 19(6):563-73.

DUAN, Y.; ZHANG, H.Z.; BU, R.F. Correlation between cellular phone use and epithelial parotid gland malignancies. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011; 40(9):966-72.

DUFF, G.W.; DURUM, S.K. The pyrogenic and mitogenic actions of interleukin-1 are related. *Nature.* 1983; 304(5925):449-51

DUGUE, B.; et al. Cytokines in saliva. Basal concentrations and the effect of high ambient heat (sauna). *Stress Med* 1996; 12(3):193-7.

DUNNEWIJK, T.; HULTÉN, S. A brief history of mobile communication in Europe. *Telematics and Informatics.* 2007; 24(3):164-79.

FELDMANN, M. Many cytokines are very useful therapeutic targets in disease. *J Clin Invest.* 2008; 118(11):3533-6.

FOSTER, J.R. The functions of cytokines and their uses in toxicology. *Int J Exp Pathol.* 2001; 82(3):171-192.

FOSTER, K.R.; MOULDER, J.E. Are mobile phones safe? *IEEE Spectrum.* 2000; 23-8.

GANDHI, G.; et al. DNA and Chromosomal Damage in Residents Near a Mobile Phone Base Station. *Int J Hum Genet.* 2014; 14(3,4):107-18.

GALON J, COSTES A, SANCHEZ-CABO F, KIRILOVSKY A, MLECNIK B, LAGORCE-PAGÈS C, TOSOLINI M, CAMUS M, BERGER A, WIND P, ZINZINDOHOUE F, BRUNEVAL P, CUGNENC PH, TRAJANOSKI Z, FRIDMAN WH, PAGÈS F. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006;313:1960–1964.

GHANBARI, M.; et al. The Effects of Cell Phone Waves (900 MHz-GSM Band) on Sperm Parameters and Total Antioxidant Capacity in Rats. *Int J Fertil Steril.* 2013; 7(1):21-8.

GOLDEWEIN, O.; AFRAMIAN, D.J. The influence of handheld mobile phones on human parotid gland secretion. *Oral Dis.* 2010; 16(2):146-50.

HAGHANI, M.; SHABANI, M.; MOAZZAMI, K. Maternal mobile phone exposure adversely affects the electrophysiological properties of Purkinje neurons in rat offspring. *Neuroscience.* 2013; 250:588-98.

HARDELL, L.; et al. No association between the use of cellular or cordless telephones and salivary gland tumours. *Occup Environ Med.* 2004; 61(8):675-9.

HASHEMIPOUR, M.S.; et al. Effect of mobile phone use on salivary concentrations of protein, amylase, lipase, immunoglobulin A, lysozyme, lactoferrin, peroxidase and C-reactive protein of the parotid gland. *J. Laryngol. Otol.* 2014; 128(5), 454-62.

HISAMATSU, T.; et al. Immune aspects of the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Pharmacol Ther.* 2013; 137(3):283-97.

HORNBECK, P.; Enzyme-linked immunosorbent assays. *Curr Protoc Immunol.* 2015; 110:2.1.1-2.1.23.

HU, X.; IVASHKIV, L.B. Cross-regulation of Signaling and Immune Responses by IFN- γ and STAT1. *Immunity.* 2009; 31(4):539-550.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC classifies radiofrequency electromagnetic fields as possibly carcinogenic to humans. Lyon, França, 2011.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 102, Non-Ionizing radiation, Part II: Radiofrequency Electromagnetic Fields [includes mobile telephones]. Lyon, France, 2011.

ICNIRP, International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection: Guidelines for Limiting Exposure to Time-Varying Electric, Magnetic and Electromagnetic Fields (up to 300 GHz), 1998.

ILARDO, C.; et al. Effects of psycho-physical stress (competitive rafting) on saliva interleukin-1 beta. *Stress Health.* 2001; 17(1):9-15.

IYER, S.S.; CHENG, G. Role of Interleukin 10 Transcriptional Regulation in Inflammation and Autoimmune Disease. *Crit Rev Immunol.* 2012; 32(1):23-63.

JOKELA, K.; AUVINEN, A.; HÄMÄLÄINEN, H. Mobile phones radiate--risk to the health? *Duodecim.* 2011; 127(17):1788-96.

KAUR, J.; JACOBS, R. Proinflammatory cytokine levels in oral lichen planus, oral leukoplakia, and oral submucous fibrosis. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2015; 41(4):171-5.

KESARI, K.K.; et al. Biophysical evaluation of radiofrequency electromagnetic field effects on male reproductive pattern. *Cell Biochem Biophys.* 2013; 65(2):85-96.

KISHIMOTO, T. The biology of interleukin-6. *Blood.* 1989; 74(1):1-10.

KOCA, O.; et al. A new problem in inflammatory bladder diseases: Use of mobile phones! *Int Braz J Urol.* 2014; 40(4):520-25.

KOCA, O.; et al. Effects of intensive cell phone (Philips Genic 900) use on the rat kidney tissue. *Urol J.* 2013; 10(2):886-91.

KAUFMAN, E.; LAMSTER, I.B. The diagnostic applications of saliva-- a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002; 13(2):197–212.

KUNSH, B. The European Pre-Standard ENV 50166 “Human Exposure to Electromagnetic Fields” in Perspective, International Symposium on Electromagnetic Compatibility. Rome, Italy, 1996.

LANDSKRON, G.; et al. Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment. *Journal Immunol Res.* 2014; 149185:19.

LEÓN-ROMERO, L.C.; et al. Saliva components reestablish the basal production of IL-6 by mononuclear cells, 72 hours after nitinol archwire placement: a preliminary study. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2012; 11(2):191-5.

LIU, W.Z.; et al. Interferon- γ and interleukin-4 detected in serum and saliva from patients with oral lichen planus. *Int J Oral Sci.* 2014; 6(1):22-6.

LÖNN, S.; et al. Mobile phone use and risk of parotid gland tumor. *Am J Epidemiol.* 2006; 164(7):637-43.

MALAMUD, D.; RODRIGUEZ-CHAVEZ, I.R. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin North Am.* 2011; 55(1): 159–78.

MANTOVANI, A.; et al. Cancer related inflammation. *Nature.* 2008; 454:436–44

MATSUMOTO, K.; KANMATSUSE, K. Interleukin-18 and interleukin-12 synergize to stimulate the production of vascular permeability factor by T lymphocytes in normal subjects and in patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Nephron.* 2000; 85(2):127-33.

MAUER, J.; DENSON, J.L.; BRÜNING, J.C. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer. *Trends Immunol.* 2015; 36(2):92-101.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: New adventures of an old flame. *Cell.* 2010; 140(6):771–6.

MOSSER, D.M.; ZHANG, X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev.* 2008; 226:205-18.

MOULDER, J.E. The electric and magnetic fields research and public information dissemination (EMF-RAPID) program. *Radiat Res.* 2000; 153(5 Pt 2):613-6.

MUKHERJEE, D.; et al. Responses to ionizing radiation mediated by inflammatory mechanisms. *J Pathol.* 2014; 232(3):289-99.

PANAGOPOULOS, D.J.; JOHANSSON, O.; CARLO, G.L. Evaluation of specific absorption rate as a dosimetric quantity for electromagnetic fields bioeffects. *PLoS One.* 2013; 8(6):e62663.

PAREDI, P.; et al. Local vasodilator response to mobile phones. *Laryngoscope.* 2001; 111(1):159-62.

PAULINO, J.O.S. Radiações eletromagnéticas não ionizantes emitidas pelas antenas fixas de telefonia celular. Departamento de Engenharia Elétrica da UFMG. Mai 2001.

Pawar, H.P.; et al. Heat and cold stress enhances the expression of heat shock protein 70, heat shock transcription factor 1 and cytokines (IL-12, TNF- α and GM-CSF) in buffaloes. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2014; 3(2):307-17.

PIKARSKY, E.; et al. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature.* 2004; 431(7007):461-6.

POULSEN, A.H.; et al. Mobile phone use and the risk of skin cancer: a nationwide cohort study in Denmark. *Am J Epidemiol.* 2013; 178(2):190-7.

RAI, B.; et al. Possible action mechanism for curcumin in pre-cancerous lesions based on serum and salivary markers of oxidative stress. *J Oral Sci.* 2010; 52(2):251-6.

RAKOFF-NAHOUM S. Why Cancer and Inflammation? *Yale J Biol Med.* 2006;79(3-4):123-130.

RAMSEYER, V.D.; GARVIN, J.L. Tumor necrosis factor- α : regulation of renal function and blood pressure. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2015; 304(10):F1231-42.

- REINEKE, U.; et al. Mapping of the interleukin-10/interleukin-10 receptor combining site. *Protein Sci.* 1998; 7(4):951-60.
- ROCHA, F.S.; et al. Saliva versus peri-implant inflammation: quantification of IL-1 β in partially and totally edentulous patients. *J Oral Implantol.* 2014; 40(2):169-73.
- ROSENBERG, S. Cell phones and children: follow the precautionary road. *Pediatr Nurs.* 2013; 39(2):65-70.
- RUSSEL, A.; et al. Genomic profiling of C/EBP β 2 transformed mammary epithelial cells: a role for nuclear interleukin-1 β . *Cancer Biol Ther.* 2010; 10(5):509-19.
- SABAT, R.; et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010; 21(5):331-44.
- SADETZKI, S.; et al. Cellular phone use and risk of benign and malignant parotid gland tumors-a nationwide case-control study. *Am J Epidemiol.* 2008; 167(4):457-67.
- SALMINEN, A.; et al. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2014; 41(5):442-50.
- SANSONE, P.; et al. IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland. *J Clin Invest.* 2007; 117(12):3988-4002.
- SCENIHR. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Potential health effects of exposure to electromagnetic fields (EMF). Bruxelles, Bélgica, 2015.
- SCHAPHER, M.; WENDLER, O.; GRÖSCHL, M. Salivary cytokines in cell proliferation and cancer. *Clin Chim Acta.* 2011; 18;412(19-20):1740-8.
- SCHAUE, D.; KACHIKWU, E.L.; MCBRIDE, W.H. Cytokines in Radiobiological Responses: A Review. *Radiat res.* 2012; 178(6):505-23.
- SCHÜZ, J.; et al. Cellular Telephone Use and Cancer Risk: Update of a Nationwide Danish Cohort. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98(23): 1707-13.

SHU, X.; AHLBOM, A.; FEYCHTING, M. Incidence trends of malignant parotid gland tumors in Swedish and nordic adults 1970 to 2009. *Epidemiology*. 2012; 23(5):766-7.

SLAVISH, D.C.; et al. Salivary markers of inflammation in response to acute stress. *Brain Behav Immun*. 2015; 44:253-69.

SZMIGIELSK, I. S. Cancer risks related to low-level RF/MW exposures, including cell phones. *Electromagn Biol Med*. 2013; 32(3):273-80.

TAURISANO, A.M.D.; VORST, A.V. Experimental Thermographic Analysis of Thermal Effects Induced on a Human Head Exposed to 900-MHz Fields of Mobile Phones. *IEEE Transactions on microwave theory and techniques*. 2000; 48(11):2022-32.

TRACEY, D.; et al. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. *Pharmacol Ther* 2008; 117(2):244-79

TROŠIĆ, I.; et al. Histological and cytological examination of rat reproductive tissue after short-time intermittent radiofrequency exposure. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2013; 64(4):513-9.

TURNER, M.D.; et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signaling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1843(11):2563-82.

TUSCHL, H.; NOVAK, W.; MOLLA-DJAFARI, H. In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics*. 2006; 27(3):188-96.

VASSALLI, P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol*. 1992; 10:411-52.

VELLANO-NETO, V. Characterization of the Electromagnetic Emissions From Radio-Base Stations of the Celular Telephony System Regarding Safety, International Symposium on Electromagnetic Compatibility. São Paulo, Brasil, 1994.

VILCEK, J.; FELDMANN, M. Historical review: Cytokines as therapeutics and targets of therapeutics. *Trends Pharmacol Sci*. 2004; 25(4):201-9.

- DE VOCHT, F. Cell phones and parotid cancer trends in England. *Epidemiology*. 2011; 22(4):608-9.
- VORONOV, E.; et al. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(5):2645–50.
- VRIJHEID, M.; et al. Validation of Short Term Recall of Mobile Phone Use for the Interphone Study. *Occup Environ Med*. 2006; 63(4): 237–43.
- WEISSGERBER, T.L.; et al. Beyond Bar and Line Graphs: Time for a New Data Presentation Paradigm. *PLoS Biol* 2015; 13(4):e1002128 doi:10.1371/journal.pbio.100212 [published: 22 April 2015].
- WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin* 1945; 1(6):80-83.
- WILLEKE, P.; et al. Interleukin 1 β and tumour necrosis factor α secreting cells are increased in the peripheral blood of patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2003; 62(4),359–62.
- WILLS-KARP, M.; et al. New insights into innate immune mechanisms underlying allergenicity. *Mucosal Immunol*. 2010; 3(2):104-10.
- WHO. World Health Organization. Electromagnetic fields and public health: mobile phones. Geneva, Switzerland, 2014.
- ZEFFERINO, R.; et al. Salivary markers of work stress in an emergency team of urban police (1 degree step). *G Ital Med Lav Ergon*. 2006; 28(4):472-7.
- ZHANG, H.J.; et al. Heat-induced liver injury in old rats is associated with exaggerated oxidative stress and altered transcription factor activation. *FASEB J*. 2003; 17:2293-5.
- ZHANG, J.M.; AN, J. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin* 2007; 45(2):27-37.

APÊNDICE A - BANCO DE DADOS

CATEGORIZAÇÕES

Identificação: Sigla utilizada para identificação das amostras.

Amostra: ordem numérica das amostras avaliadas

Gênero:

- 1- Feminino
- 2- Masculino

Idade: em anos

Tempo de uso do telefone celular:

- 0 - menos de 1 ano
- 1- de 1 a cinco anos
- 2- de 5 a 10 anos
- 3- mais de 10 anos

Lado de uso do aparelho de telefone celular:

- 1- direito
- 2- esquerdo

Marca do aparelho de telefone celular:

1-motorola

2- samsung

3- nokia

4- blackberry

5-iphone

6- outros

Plano de telefonia:

1- conta

2- cartão

3- controle

Consumo mensal de telefone celular:

1- até 60 minutos

2- até 90 minutos

3- até 120 minutos

4- até 200 minutos

5- acima de 200 minutos

6-não sei

Características das ligações do telefone celular:

1- fala pouco ao celular

2- fala poucos minutos, porém várias ligações

3- fala muito ao celular na mesma ligação

Acredita que o celular cause danos à saúde:

0- não

1-sim

2-talvez

BANCO DE DADOS

Identificação; Idade; Sexo; tempo de uso do telefone celular (anos); lado preferencial de uso; marca de uso; plano de telefonia; uso mensal; tipo de ligações; telefone celular x saúde; volume (fluxo salivar em 10 minutos) ipsilateral; Volume (fluxo salivar em 10 minutos) contralateral; concentração de proteína total ipsilateral mg/ml; concentração de proteína total contralateral mg/ml; IL6 ipsi; IL6 ipsi corrigida; IL6 contra; IL6 contra corrigida; TNF ipsi; TNF ipsi corrigida; TNF contra; TNF contra corrigida; IL10 ipsi; IL10 ipsi corrigida; IL10 contra; IL10 contra corrigida; IL1 ipsi; IL1 ipsi corrigida; IL1 contra; IL1 contra corrigida

P97;23;1;3;1;5;1;1;1;0;3500;2500;3,84884;3,80939;36,1304;9,387348;11,7467;3,083617;0;0;1,68991;0,443617;14,4264;3,748246;7,80633;2,049234;0;0;0;0

P100;21;2;2;1;2;2;1;1;0;7600;5750;4,23704;4,15085;2,6027;0,614271;10,4805;2,524905;45;10,662632;10,6366;2,562511;0;0;2,8039;0,6755;13;3,066264;0;0

p108;19;2;2;1;1;1;5;2;0;4900;2800;3,20999;3,15616;0;0;12,751;4,040036;19;6,050486;13,3683;4,235622;0;0;8,31397;2,634204;0;0;6;1,905115

p112;26;1;3;2;2;2;5;3;1;2500;300;2,67222;3,19813;31,9571;11,959008;3,4642;1,083205;0;0;17,892;5,594519;12,138;4,542291;0;0;0;0;20;7,402684

p106;24;1;2;1;6;2;5;2;1;2500;1500;3,53727;3,62546;55,0317;15,557676;86,5644;23,876805;0;0;15,3598;4,236649;18,0143;5,092713;20,2225;5,577913;112;30,830846;51;14,315842

p105;21;1;3;1;6;1;5;3;0;6000;3950;3,13471;3,84881;47,375;15,113041;132,701;34,478449;24;7,498333;30,1734;7,83967;0,5178;0,165176;0;0;0;0;0

p95;21;2;2;1;2;2;2;0;3300;4940;3,50217;3,48953;55,7765;15,926269;162,62;46,602264;21;6,016641;14,2084;4,071723;0;0;10,7246;3,073365;0;0;0;0

p90;22;1;3;1;5;1;2;2;1;10700;3750;4,12903;3,45295;18,3923;4,454388;123,022;35,628086;17;4,00048;20,9676;6,072373;1,1922;0,288724;0,74601;0,216051;0;0;0;0

p84;28;1;3;1;5;1;4;3;1;1460;2350;4,00004;3,57896;121,56;30,389696;47,5532;13,286877;0;0;16,1488;4,512149;0;0;0;0;0;0;0

P66;21;1;2;1;1;2;5;2;0;1700;1690;3,44091;4,27952;73,4985;21,360193;42,62;9,959061;26;7,637631;30,1449;7,043991;3,4198;0,993877;12,6486;2,955612;0;0;0;0,035294

p89;20;1;2;1;6;2;5;1;0;5100;12070;2,8737;3,6488;7,1983;2,504875;17,2786;4,73542;22;7,797787;31,1077;8,52546;6,7139;2,336336;0;0;0;0;0

p88;22;1;2;1;5;1;3;2;1;1350;1450;3,09534;2,3781;52,6396;17,00608;66,7333;28,061604;30;9,574005;16,2388;6,828477;0;0;0;0;0;0;0

p87;20;1;3;1;5;1;2;2;1;1270;7580;1,50538;1,54717;70,0353;46,523336;20,3966;13,183167;0;0;25,4338;16,438918;12,099;8,037173;9,0029;5,818947;13;8,162645;0;0

P82;22;1;2;2;2;3;1;2;1;1460;1450;1,28639;1,05177;56,1646;43,660632;48,4423;46,057883;21;16,136475;26,763;25,445677;10,5371;8,191217;14,8845;14,151858;0;0;0;0

P43;24;1;3;1;1;1;5;2;1;4600;2600;1,19575;1,4627;27,8159;23,262304;93,5571;63,96192;29;23,881831;0;0;4,2348;3,541501;0;0;0;0;0

p86;22;2;2;1;1;3;5;3;0;3950;2500;1,60109;1,22402;10,3485;6,463409;44,402;36,275551;22;13,691985;0,84964;0,694137;0;0;3,10979;2,540637;0;0;0;0

P60;22;1;2;1;3;1;4;3;0;1550;3200;1,46951;1,28923;119,295;81,180121;52,0204;40,349976;11;7,768236;16,4236;12,739077;12,6476;8,606678;13,1121;10,170489;0;0;0;0

P68;27;2;3;1;2;2;5;3;0;1860;3120;1,58452;0,78995;9,811;6,191749;14,7368;18,6554
52;19;12,081324;7,12673;9,021794;0;0;0;0;34;43,096743;46;29,155075

P75;27;2;3;1;1;3;5;3;0;1250;3360;1,50346;2,04998;32,5178;21,628643;35,2369;17,1
88899;27;18,147141;0;0;0;0;4,00478;1,95357;0;0;0;0

P41;21;1;2;1;2;2;5;3;0;5360;8010;2,10033;1,19916;24,0101;11,431585;80,3421;66,9
98649;9;4,512648;15,0161;12,522182;0;0;0;8,09072;6,74699;0;0;0;0

P50;21;1;2;1;2;2;5;1;0;3240;1850;1,36774;1,45215;38,7781;28,351953;35,5459;24,4
78119;14;10,40417;0;0;0;0;0;0;0;0;0

P54;20;2;2;1;1;2;2;1;0;1170;1850;2,01266;1,73277;17,7178;8,803176;161,842;93,40
074;2;1,059493;21,5399;12,430905;0;0;0;0;0;0;0;0

P48;20;2;2;1;2;1;4;2;1;1465;1530;1,1519;1,21121;11,6863;10,145238;27,6046;22,79
0928;25;21,760309;0;0;0;0;10,1921;8,414808;0;0;0;0

P67;23;1;3;1;5;1;4;3;1;3275;4950;1,37794;1,06919;17,2939;12,550546;1,8314;1,712
839;0;0;0,27488;0,257093;0;0;0;0;0;0;0;0

P79;27;1;3;1;3;1;1;1;1;1470;4370;3,97265;4,00108;8,8751;2,23404;2,3213;0,580173
;3;0,747025;8,19384;2,047907;0;0;0;0;0;0;0;0

P47;20;1;3;1;3;3;5;2;0;5050;4250;3,97559;3,58098;6,645;1,671455;1,8691;0,521963
;17;4,349795;21,7407;6,071159;0;0;10,2729;2,86874;0;0;0;0

P64;26;2;3;1;3;2;1;1;0;3200;3950;3,70605;3,95345;21,2588;5,736242;8,074;2,04226
2;5;1,392304;7,25921;1,836171;0;0;12,3121;3,114267;0;0;0;0

P38;32;1;3;1;3;1;1;2;1;3570;5050;3,70572;3,6019;28,492;7,688654;25,5955;7,10611
1;0;0;0;0;0;0;0;0;0;0

P52;22;2;2;1;3;1;5;2;0;2560;2870;3,47527;3,52618;102,339;29,447784;13,744;3,897
702;0;0;23,8911;6,775349;0;0;0;0;0;0;0;0

P78;35;2;3;2;3;2;5;3;1;3300;6120;3,6607;3,80268;0;0;1,1579;0,304501;24;6,476494;
19,242;5,060115;0;0;0;0;0;0;0;0

P51;21;2;2;1;2;2;5;3;0;4950;5280;3,58563;3,33226;6,0499;1,687268;3,1796;0,954178;1;0,177386;2,30385;0,691378;7,4213;2,069745;9,06364;2,719968;0;0;0;0

P36;28;1;3;1;3;1;1;3;1;5050;4700;3,22238;3,47104;0;0;0;0;0;0;12,3235;3,550377;0;0;0,79881;0,230135;0;0;0;0

P74;29;1;2;1;2;2;5;2;0;5230;7920;3,07525;3,08602;0;0;0;0;14;4,415999;12,7944;4,145923;2,8236;0,918166;9,6083;3,113492;7;2,353682;0;0

P69;23;1;2;1;3;1;1;2;1;7550;6650;3,90362;3,29233;13,8384;3,545017;12,1179;3,680646;19;4,944462;22,9663;6,975698;6,5575;1,679859;12,34;3,748105;18;5,327838;3;0,662764

P33;31;2;3;1;3;1;4;2;1;4630;2150;2,94951;3,12733;0;0;0;0;8;2,77458;14,1031;4,50963;0;0;4,09839;1,310508;0;0;0;0

p85;22;1;3;1;5;1;3;2;1;6550;11750;4,19681;3,20255;13,3881;3,190066;152,995;47,772868;0;0;22,1117;6,904404;0;0;7,45245;2,327036;0;0;0;0

P39;24;2;2;1;3;1;2;2;0;2100;7800;2,81673;3,54861;54,0224;19,179119;344,706;97,138316;28;9,986083;0;0;0;0;4,13386;1,164924;38;10,678745;0;0

P77;25;1;2;2;6;1;4;1;1;5600;6550;3,8606;3,56121;4,907;1,271056;162,52;45,636174;24;6,165544;0;0;0;0;6,8493;1,923307;0;0;0;0

P32;22;1;2;1;5;1;1;1;0;3750;2400;3,99546;3,66351;21,4641;5,372122;0;0;10;2,561382;12,6805;3,461298;0;0;2,57751;0,703563;0;0;0;0

P49;19;2;2;1;2;2;5;3;1;2660;3300;4,05733;4,17765;106,542;26,259141;44,8311;10,731177;0;0;0;0;0;0;0;0;0;0;0

P70;26;2;2;1;2;2;5;3;0;2460;3680;3,73228;4,21997;38,2218;10,240872;58,4717;13,855952;7;1,943388;15,6568;3,710169;0;0;0;0;7;1,643727;0;0

p98(24);21;1;2;1;1;1;3;2;0;3450;5910;4,22022;4,02409;16,8402;3,990361;44,2781;11,003258;30;7,010677;1,8847;0,468354;0;0;0;0;0;0;0;0

P37;26;1;3;1;6;2;5;3;1;1450;2570;3,82431;4,18336;70,146;18,342132;42,3241;10,11725;0;0;0;0;0;0;0;0;0;0;0

P113;22;1;2;1;2;2;1;2;1;7000;6500;1,795;2,24;8,284;4,615042;7,937;3,543304;0;0;2
9,06;12,973214;8,891;4,953203;8,962;4,000893;55;24,542857;62;27,838393

P114;23;1;2;1;6;2;5;3;0;10000;5000;2,62;2,385;65,116;24,853435;41,556;17,423899
;13;4,971374;0;0;9,658;3,68626;11,013;4,61761;0;0;0;0

P115;22;1;3;1;2;1;2;2;1;4200;7500;2,37;0,62;21,234;8,959494;303,892;490,148387;
0;0;6,984;11,264516;9,479;3,999578;11,869;19,143548;0;0;80;129,032258

P116;21;1;3;2;1;3;5;3;0;2750;5100;2,465;2,58;57,311;23,249899;70,088;27,165891;
1;0,25355;0,625;0,242248;12,975;5,263692;10,264;3,978295;0;0;0;0

P117;20;2;2;1;5;1;5;3;0;3000;2000;2,345;2,055;15,106;6,441791;138,859;67,57129;
11;4,624733;0;0;9,711;4,141151;9,64;4,690998;185;90,039903;93;45,163017

P118;20;1;3;1;2;4;5;2;0;7500;7500;2,34;2,615;38,059;16,26453;36,613;14,001147;0;
0;8,347;3,191969;9,479;4,050855;9,479;3,624857;0;0;0;0

P119;20;2;2;1;2;3;1;1;1;4000;2800;2,17;2,245;69,452;32,00553;44,852;19,978619;0;
0;0,761;0,338976;8,855;4,080645;8,909;3,968374;0;0;0;0

P120;24;1;3;1;3;2;5;2;1;4000;5000;2,745;2,75;18,951;6,903825;24,241;8,814909;0;0
;16,296;5,925818;9,14;3,32969;9,23;3,356364;0;0;0;0

P121;20;1;2;1;2;3;2;2;2;3750;3900;2,62;2,37;31,323;11,955344;43,435;18,327004;0;
0;0;0;10,3;3,931298;9,961;4,202954;7;3,087764;0;0

P122;23;1;2;1;3;2;5;3;1;4750;3000;2,34;2,185;30,225;12,916667;28,635;13,105263;
0;0;0;0;9,408;4,020513;9,943;4,550572;61;27,918078;23;10,478719

P123;25;1;2;1;3;1;2;3;1;1800;1800;2,715;2,06;41,123;15,146593;72,256;35,075728;
0;0;0;0;9,943;3,662247;10,032;4,869903;0;0;0;0

P124;25;2;2;1;2;2;5;3;0;14300;7500;2,3;2,645;62,746;27,28087;52,946;20,017391;0;
0;0;0;9,925;4,315217;8,819;3,334216;50;18,773913;25;9,333837

P125;34;1;3;2;2;3;5;3;2;7000;10000;2,37;2,34;42,366;17,875949;48,841;20,872222;
0;0;0;0;9,23;3,894515;9,39;4,012821;0;0;55;23,242616

P126;22;2;3;1;2;2;1;3;1;5000;4000;2,54;2,685;5,335;2,100394;0;0;2;0,872047;0;0;8,552;3,366929;8,267;3,078957;38;14,268901;0;0

P127;20;1;3;1;1;3;4;2;0;7500;12500;2,43;2,29;22,131;9,107407;58,959;25,746288;0;0;0;0;8,695;3,578189;9,372;4,092576;0;0;0;0

P128;19;2;2;1;1;1;1;3;1;4000;7500;2,365;1,61;61,705;26,090909;62,225;38,649068;0;0;4,213;2,61677;9,818;4,151374;8,926;5,544099;63;38,900621;75;46,823602

P129;19;1;2;1;6;1;1;3;1;5100;5000;2,6;2,44;36,873;14,181923;50,894;20,858197;0;0;0;0;9,354;3,597692;9,782;4,009016;0;0;0;0

P130;20;2;2;1;1;1;1;1;5000;4000;2,465;2,22;54,825;22,241379;22,073;9,942793;0;0;0;0;8,944;3,628398;9,087;4,093243;36;16,206306;22;9,873423

P131;19;1;2;1;2;2;1;1;0;6750;10000;6,498;4,456;65,405;10,065405;35,255;7,911804;0;0;0;0;9,479;1,458757;9,105;2,043312;0;0;0;0

P132;22;1;2;1;6;1;1;1;3;13500;7500;5,312;5,369;7,764;1,461596;79,31;14,771838;0;0;2,169;0,403986;13,206;2,486069;9,194;1,712423;0;0;0;0

P133;19;1;2;1;5;1;1;2;1;10000;4000;5,648;3,549;74,945;13,269299;7,099;2,000282;0;0;3,078;0,867287;11,477;2,032047;8,837;2,489997;0;0;0;0

P134;21;1;2;1;3;3;1;2;1;10000;4000;5,689;4,841;69,423;12,203023;41,672;8,608139;0;0;0;0;17,308;3,042362;10,478;2,164429;65;13,430696;0;0

P135;19;1;2;1;1;3;2;2;0;6100;7500;6,492;5,359;89,225;13,743839;69,886;13,040866;0;0;0;0;10,157;1,564541;9,337;1,742303;0;0;0;0

P136;21;1;3;1;2;1;3;3;1;3000;2000;5,652;4,997;41,094;7,270701;1,664;0,333;0;0;0;0;10,3;1,822364;8,766;1,754253;65;12,913748;0;0

P137;21;2;3;1;2;1;4;2;0;5000;3000;5,312;5,177;5,913;1,11314;19,298;3,727641;0;0;0;0;9,372;1,764307;9,836;1,899942;0;0;0;0

P138;20;2;2;1;2;1;1;1;0;4000;3000;6,174;5,097;1,606;0,260123;22,217;4,358839;0;0;0;0;9,105;1,474733;8,73;1,712772;0;0;0;0

P139;20;2;2;1;1;2;1;2;0;6000;4500;4,732;4,362;32,335;6,833263;16,898;3,873911;0;0;0;0;9,8;2,071006;9,622;2,205869;0;0;0;0

P140;19;1;3;1;1;2;5;2;1;7400;2500;5,556;4,794;26,814;4,826134;21,986;4,586149;0;0;0;0;10,567;1,901908;10,674;2,226533;27;5,693158;0;0

P141;19;1;3;1;5;1;1;2;0;7500;7500;5,402;5,859;13,487;2,496668;36,902;6,298344;0;0;0;0;12,065;2,233432;10,103;1,724356;0;0;0;0

P142;18;2;2;1;3;2;4;3;1;2500;2100;5,996;4,657;36,18;6,034023;5,191;1,114666;0;0;0;0;9,551;1,592895;9,265;1,989478;0;0;0;0

P143;21;1;3;1;5;1;4;2;1;16000;6000;5,488;6,404;160,106;29,173834;208,468;32,55278;0;0;0;0;9,016;1,642857;9,23;1,441287;0;0;0;0

P144;19;1;2;2;3;2;1;1;1;2100;2100;4,298;5,281;129,58;30,148906;40,458;7,661049;0;0;0;0;8,712;2,026989;10,103;1,913085;0;0;0;0

P145;26;2;3;1;5;1;3;2;0;4500;6200;5,038;5,191;20,772;4,123065;1,259;0,242535;14;2,846963;9,937;1,914275;9,782;1,941644;9,319;1,795223;0;0;0;0

P146;31;1;3;1;5;2;4;3;1;4000;5000;4,448;6,291;45,257;10,174685;34,243;5,443173;0;0;0;0;10,014;2,251349;9,622;1,529487;0;0;0;0

P147;19;1;2;1;5;1;5;3;0;5000;2750;5,382;4,802;179,936;33,432925;59,074;12,301958;12;2,141583;0;0;10,068;1,87068;10,032;2,08913;0;0;0;0

P148;20;1;3;1;2;3;5;1;1;8000;9500;4,868;4,624;27,247;5,597165;36,151;7,818123;98;20,227198;0;0;10,585;2,174404;9,158;1,980536;0;0;0;0

P149;20;1;3;1;1;3;5;2;0;1000;4000;5,058;4,403;44,129;8,724595;41,181;9,352941;25;4,982009;12,934;2,937543;16,72;3,305654;16,042;3,643425;17;3,831706;0;0

P150;19;1;2;1;5;1;5;2;0;3000;2500;2,57;2,15;21,87;8,509728;53,669;24,962326;0;0;0;0;8,71;4,051163;15,614;6,075486;15,061;7,005116;0;0;0;0

P151;20;1;2;1;3;2;5;3;0;2500;2000;5,787;4,948;31,93;5,517539;18,951;3,830032;8;1,371695;119,32;24,114794;14,205;2,45464;16,256;3,285368;0;0;0;0

P152;23;1;3;1;5;1;1;1;1;7500;6000;5,193;6,969;162,765;31,343154;21,495;3,084374
;0;0;0;0;13,064;2,515694;12,297;1,764529;0;0;0;0

ANEXO I - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA - Nº ETIC 0170.0.203.000-10 COEP-UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 0170.0.203.000-10

Interessado(a): Profa. Efigênia Ferreira e Ferreira
Departamento de Odontologia Social
Faculdade de Odontologia - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 08 de junho de 2010, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "Efeito da radiação emitida por aparelhos celulares nas glândulas parótidas" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO II - TERMO DE ESCLARECIMENTO/CONSENTIMENTO DESTINADO AOS PARTICIPANTES DO PROJETO

Universidade Federal de Minas Gerais – Faculdade de Odontologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esse documento tem como finalidade propor a sua participação no projeto de pesquisa “A radiação emitida por aparelhos celulares e seu efeito sobre as glândulas parótidas”.

O uso dos aparelhos celulares é considerado como seguro para a saúde humana. No entanto, há ainda poucos estudos avaliando a influência da radiação que os aparelhos celulares emitem na região onde estão situadas as glândulas salivares parótidas.

As glândulas parótidas são as principais glândulas produtoras de saliva. Este estudo tem como objetivo analisar a transcrição de alguns genes relacionados à manutenção da normalidade das glândulas parótidas e determinar se essa transcrição está sob influência da radiação dos celulares.

Para esse trabalho, precisamos coletar um pouco de saliva da glândula parótida que sofre influência da radiação e da glândula da hemiface oposta, com material estéril. Este estudo não oferecerá riscos à sua saúde nem trará custos para você.

Esta pesquisa nos ajudará a entender melhor as prováveis consequências do uso do aparelho celular a longo prazo nas adjacências da glândula parótida. Futuramente, tais resultados poderão ser importantes na prevenção de perda de função da glândula parótida das pessoas.

TERMO DE LIVRE CONSENTIMENTO

Li e entendi as informações fornecidas. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas. Autorizo a coleta de secreção salivar da glândula parótida para este projeto, assim como a utilização dos dados para divulgação e ensino, respeitando sempre meu direito de não ser identificado.

Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim. Em qualquer momento da pesquisa, posso retirar este consentimento.

LOCAL: _____ DATA: ____ / ____ / ____

NOME DO VOLUNTÁRIO

ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO

DOCUMENTO APRESENTADO: _____ Nº _____

Pesquisadores: Ricardo Santiago Gomez - Elisa Carvalho de Siqueira

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP). Em caso de dúvida, você pode consultar o COEP:

Av. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º Andar – Campus Pampulha

31270-901 – Belo Horizonte – MG

Tel.: (31) 3409-4592

ANEXO II – QUESTIONÁRIO PARA ANÁLISE DO PERFIL DOS USUÁRIOS DE TELEFONE CELULAR

Universidade Federal de Minas Gerais - Faculdade de Odontologia

Prezado aluno

Estamos fazendo um estudo exploratório para estudar uma possível interferência do celular nas glândulas salivares. Para iniciar esse estudo, convidamos você a responder estas questões. É muito fácil e rápido. Dependendo dos dados apurados nesse questionário preliminar, entraremos em contato com você para informá-lo melhor sobre o estudo e verificar se você aceitaria participar.

Obrigado.

Aluno: _____

Idade: _____

Período _____

Gênero () masculino () feminino

Você tem celular? () sim () não

Qual o número do seu telefone? () ____ - ____

Há quanto tempo você tem celular?

() mais de 10 anos () mais de 5 anos () mais de 1 ano () menos de 1 ano

Em qual lado do rosto você MAIS atende o celular?

direito esquerdo atendo dos dois lados igualmente

Qual a marca do seu aparelho?

Motorola Samsung Nokia Blackberry iPhone outros:

não sei

Qual o seu plano de telefone? conta cartão controle não sei

Se seu plano for de conta, quantos minutos você gasta por mês em média?

60min 90min 120min 200 min mais: _____ não sei

Caso seja cartão ou controle, aproximadamente, qual o seu consumo em minutos?
(escolha uma das opções abaixo)

Por dia: _____ Por semana: _____ Por mês: _____ não sei

É comum você conversar muitos minutos em uma mesma ligação ou você conversa poucos minutos, porém liga várias vezes?

muitos minutos poucos minutos, porém faz várias ligações falo pouco ao celular não sei

Você acha que o uso de celular causa prejuízos à saúde? Cite quais