

EFEITOS DA CONDENSAÇÃO DO CIGARRO ELETRÔNICO EM FIBROLASTOS GENGIVAIS HUMANOS

Uma revisão de escopo

EFFECTS OF ELECTRONIC CIGARETTE CONDENSATION ON HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS

A scope review

Zildenilson da Silva Sousa¹ | Maria da Conceição Freitas da Costa² | Erick Patrick Alves Moreira¹
Lúcia de Fátima Mota Pernambuco¹ | Ana Vitória Santana Garcia¹ | Silvana Maria Coelho da Silva³

¹ Discente - Centro Universitário Maurício de Nassau (Uninassau).

² Discente - Centro Universitário Fametro (Unifametro).

³ Cirurgiã-dentista - Universidade Federal do Ceará (UFC).

RESUMO

Introdução: os cigarros eletrônicos (CEs) são descritos pela literatura como um sistema eletrônico de entrega de nicotina. Nesse sentido, células de diversas origens expostas ao extrato do vapor do CE podem apresentar viabilidade e sobrevivência clonogênica de maneira reduzida, associada ainda a elevadas taxas de apoptose e necrose, independente do conteúdo de nicotina presente no vapor. É possível observar ainda que a citotoxicidade de *e-líquidos*, contendo nicotina ou não, foi investigado em alguns estudos na matriz extracelular em fibroblastos gengivais humano (FGH), sendo o estresse oxidativo induzido com um aumento na expressão de proteína pró-apoptótica levando à indução de apoptose precoce e tardia. Assim, é de grande importância que os profissionais do campo da odontologia estejam preparados para evidenciar na prática clínica os problemas relacionados ao CE uma vez que dados presentes na literatura científica destacam problemas relacionados aos CEs, similares ao cigarro convencional, principalmente no tecido periodontal, desmineralização do esmalte dentário e alterações patológicas. **Objetivo:** sistematizar dados da literatura sobre os efeitos do CE (*vaping*) em células de FGH. **Metodologia:** trata-se de uma revisão de escopo, guiada de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). A seguinte questão norteadora foi formulada para realização da busca de estudos na literatura: "Quais são as principais manifestações/alterações histológicas em FGH relacionados ao uso do CE e sua influência na saúde da cavidade oral?" Este tópico foi elaborado usando o acrônimo PICO, sendo a População (P): pacientes/amostras que utilizam o CE; Intervenção (I): exposição ao líquido, vapor e/ou nicotina do cigarro eletrônico nas células de teste; Controle (C): CE em comparação a não usuários ou células testes em compara-

Como citar este artigo

SOUSA, Z. S.; COSTA, M. C. F.; MOREIRA, E. P. A.; PERNAMBUCO, L. F. M.; GARCIA, A. V. S.; SILVA, S. M. C. Efeitos da condensação do cigarro eletrônico em fibroblastos gengivais humanos: uma revisão de escopo. *Revista Diálogos Acadêmicos*. Fortaleza, v. 12, n. esp., p. 69-74, jul./dez. 2023.

ção a células controle; e Desfechos (*outcomes*) (O): frequência dos aspectos clínicos e laboratoriais. Truncamentos apropriados e combinações de Descritores em Ciências da Saúde/*Medical Subject Headings* (DeCS/MeSH) foram selecionados e adaptados para cada pesquisa de banco de dados por meio dos operadores booleanos “and”, “or” e/ou “not”, sendo eles: “vaping/vaping”, “oral health/saúde bucal”, “cytotoxicity immunologic/citotoxicidade imunológica”, “cells/células”, “nicotine/nicotina”, “oxidative stress/estresse oxidativo”, “periodontium/periodonto”, “cell death/morte celular”, “in vitro techniques/técnicas in vitro”, “e-cigarette vapor/vapor do cigarro eletrônico” e “fibroblasts/fibroblastos”. Todas as referências foram manipuladas no programa de gerenciamento de referências *EndNote*, e os relatórios duplicados localizados foram removidos. Na presente revisão, apenas estudos *in vitro* revisados por pares sobre os efeitos adversos da exposição a CE em FGH, publicados em um recorte temporal de 10 anos (01 de janeiro de 2013 a 25 de setembro de 2023) com relação a temática, em inglês e português foram considerados. Foram removidas revisões de literatura, teses e/ou dissertação de mestrado ou doutorado, notas do editor, estudos piloto, estudos em duplicidade, anais de evento, dados inferiores a 2013, estudos epidemiológicos, de coorte, transversais, relatos de casos, série de casos e artigos de opinião. Para identificar os estudos a serem incluídos nesta revisão, uma busca eletrônica no *PubMed/MEDLINE*, *SciVerse Scopus*, *Web of Science*, *Scientific Electronic Library Online (SCIELO)* e *Latin American and Caribbean Latin American and Health (LILACS)* foi idealizada. A fase 1 envolveu a análise dos títulos e resumos de todos os artigos obtidos nas bases de dados para selecionar os estudos a serem lidos na íntegra. A fase 2 incluiu a leitura completa dos artigos escolhidos na fase 1 para avaliar a elegibilidade pelos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos. Dois examinadores participaram de forma independente (às cegas) em ambas as fases. Na fase 2, uma busca manual adicional nas referências dos estudos selecionados após a leitura completa será realizada pelos pesquisadores com o objetivo de encontrar possíveis artigos omitidos inadvertidamente durante as buscas nas bases de dados. Caso houvesse alguma discordância nas duas fases, o artigo seria discutido entre os dois autores e o terceiro pesquisador até que o consenso fosse estabelecido. Informações como autor, ano de publicação, tempo de exposição, genotoxicidade, citotoxicidade, apoptose, estresse oxidativo e conclusões foram tabulados. A avaliação do risco de viés dos estudos também foi preconizada. Resultados: a pesquisa inicial descobriu a identificação de um total de 629 estudos. Posteriormente, 11 estudos foram excluídos devido à detecção de duplicações, resultando em 618 estudos para avaliação. Com base na análise dos títulos e resumos, aplicando todos os critérios de elegibilidade previamente estabelecidos, 12 estudos foram considerados para inclusão na amostra final. Dentre os dados qualitativos, a condensação do CE e seu vapor com ou sem nicotina por 60 minutos

uma vez ao dia, gera em FGH uma alteração em sua morfologia, reduzindo a sua taxa de proliferação. As culturas de expostas apresentam uma elevada alteração de células apoptóticas positivas para *terminal dUTP nick-end labeling* (TUNEL), atrasando a migração e consequentemente a cicatrização de feridas. Enquanto isso, alterações morfológicas e a reorganização do citoesqueleto foram presentes a nível molecular. Observou-se que a presença de nanopartículas de cobre do material constituinte do CE possui a capacidade de mediar a genotoxicidade e estresse oxidativo de células, induzindo respostas pro-inflamatórias. A visão geral dos genes expressos de maneira diferencial e interpretação biológica dos dados foram observados, destacando que o metabolismo xenobiótico, resposta ao estresse oxidativo e os processos relacionados à inflamação são consequentemente influenciados pela fumaça e aerossóis do CE. Em concentrações similares, a fumaça do tabaco possui maior impacto na expressão genética em relação a rede de estresse oxidativo do que em comparação ao aerossol, causando um efeito maior nas amostras bucais de FGH. Considerações finais: a exposição ao aerossol proveniente de CE em células FGH apresenta potencial de causar efeitos prejudiciais e provocar alterações na saúde bucal humana, como desequilíbrios na microbiota bucal (disbiose), inflamação, citotoxicidade e genotoxicidade, contribuindo para o desenvolvimento de doenças periodontais. Os mecanismos de ação dessas substâncias químicas nos aerossóis eletrônicos envolvem modificações nos níveis bioquímicos, celulares e moleculares. Contudo, é importante ressaltar que são necessárias pesquisas abrangentes para compreender completamente os impactos do CE nos tecidos da cavidade oral a longo prazo.

Palavras-chave: Cigarro eletrônico. Forma celular. Citotoxicidade imunológica. Fibroblastos.

ABSTRACT

Introduction: *Electronic cigarettes (ECs) are described in the literature as an electronic nicotine delivery system. In this sense, cells of different origins exposed to EC vapor extract may present reduced viability and clonogenic survival, associated with high rates of apoptosis and necrosis, regardless of the nicotine content present in the vapor. It is also possible to observe that the cytotoxicity of e-liquids, whether containing nicotine or not, was investigated in some studies in the extracellular matrix in human gingival fibroblasts (FGH), with oxidative stress being induced with an increase in the expression of pro-apoptotic protein leading to induction of early and late apoptosis. Therefore, it is of great importance that professionals in the field of dentistry are prepared to highlight the problems related to ECs in clinical practice, since data present in the scientific literature*

highlight problems related to ECs, similar to conventional cigarettes, mainly in periodontal tissue, demineralization of tooth enamel and pathological changes. **Objective:** to systematize data from the literature on the effects of EC (vaping) on FGH cells. Methodology: this is a scoping review, guided in accordance with the criteria established by the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA). The following guiding question was formulated to search for studies in the literature: "What are the main histological manifestations/changes in FGH related to the use of EC and its influence on the health of the oral cavity?" This topic was prepared using the acronym PICO, with the Population (P): patients/samples who use EC; Intervention (I): exposure to liquid, vapor and/or nicotine from the electronic cigarette in the test cells; Control (C): EC compared to non-users or test cells compared to control cells; and Outcomes (O): frequency of clinical and laboratory aspects. Appropriate truncations and combinations of health sciences/medical subject headings (DeCS/MeSH) descriptors were selected and adapted for each database search using the Boolean operators "and", "or" and/or "not", being them: "vaping", "oral health", "cytotoxicity, immunologic", "cells", "nicotine", "oxidative stress", "periodontium", "cell death", "in vitro techniques", "e-cigarette vapor" and "fibroblasts". All references were handled in the EndNote reference management program, and duplicate reports found were removed. In the present review, only peer-reviewed in vitro studies on the adverse effects of exposure to EC on FGH, published over a 10-year time frame (January 1, 2013 to September 25, 2023) regarding the topic, in English and Portuguese were considered. Literature reviews, master's or doctoral theses and/or dissertations, editor's notes, pilot studies, duplicate studies, event annals, data from less than 2013, epidemiological, cohort, cross-sectional studies, case reports, series of cases and opinion articles. To identify studies to be included in this review, an electronic search in PubMed/MEDLINE, SciVerse Scopus, Web of Science, Scientific Electronic Library Online (SCIELO) and Latin American and Caribbean Latin American and Health (LILACS) was designed. Phase 1 involved analyzing the titles and abstracts of all articles obtained from the databases to select the studies to be read in full. Phase 2 included the complete reading of the articles chosen in phase 1 to assess eligibility according to the established inclusion and exclusion criteria. Two examiners participated independently (blind) in both phases. In phase 2, an additional manual search in the references of studies selected after complete reading will be carried out by researchers with the aim of finding possible articles inadvertently omitted during database searches. If there was any disagreement in the two phases, the article would be discussed between the two authors and the third researcher until consensus was established. Information such as author, year of publication, exposure time, genotoxicity, cytotoxicity, apoptosis, oxidative stress and conclusions were tabulated. Assessment of the risk of bias in studies was also recommended. **Results:** The initial search found the identification of a total of 629 studies. Subsequently, 11 studies were

*excluded due to the detection of duplications, resulting in 618 studies for evaluation. Based on the analysis of titles and abstracts, applying all previously established eligibility criteria, 12 studies were considered for inclusion in the final sample. Among the data qualitative, the condensation of EC and its vapor with or without nicotine for 60 minutes once a day, generates a change in FGH in its morphology, reducing its proliferation rate. Exposed cultures show a high level of apoptotic cells positive for terminal dUTP nick-end labeling (TUNEL), delaying migration and consequently wound healing. Meanwhile, morphological changes and cytoskeleton reorganization were present at the molecular level. It was observed that the presence of copper nanoparticles from the EC constituent material has the ability to mediate genotoxicity and oxidative stress of cells, inducing pro-inflammatory responses. An overview of differentially expressed genes and biological interpretation of data were observed, highlighting that xenobiotic metabolism, response to oxidative stress and processes related to inflammation are consequently influenced by EC smoke and aerosols. At similar concentrations, tobacco smoke has a greater impact on gene expression in relation to the oxidative stress network than compared to aerosol, causing a greater effect on oral FGH samples. **Final considerations:** exposure to aerosol from EC in FGH cells has the potential to cause harmful effects and cause changes in human oral health, such as imbalances in the oral microbiota (dysbiosis), inflammation, cytotoxicity and genotoxicity, contributing to the development of periodontal diseases. The mechanisms of action of these chemical substances in electronic aerosols involve modifications at the biochemical, cellular and molecular levels. However, it is important to highlight that comprehensive research is needed to fully understand the long-term impacts of EC on oral cavity tissues.*

Keywords: *Electronic cigarette. Cellular shape. Immune cytotoxicity. Fibroblasts.*

REFERÊNCIAS

ALANAZI, H. *et al.* Comparative study of the effects of cigarette smoke and electronic cigarettes on human gingival fibroblast proliferation, migration and apoptosis. **Food And Chemical Toxicology**, [S.l.], v. 118, p. 390-398, 2018.

ALANAZI, H.; ROUABHIA, M.. Effect of e-cigarette aerosol on gingival mucosa structure and proinflammatory cytokine response. **Toxicology Reports**, [S.l.], v. 9, p. 1624-1631, 2022.

ALMEIDA-DA-SILVA, C. L. C *et al.* Effects of electronic cigarette aerosol exposure on oral and systemic health. **Biomedical Journal**, [S.l.], v. 44, n. 3, p. 252-259, 2021.

ANTHÉRIEU, S. *et al.* Comparison of cellular and transcriptomic effects between electronic cigarette vapor and cigarette smoke in human bronchial epithelial cells. **Toxicology In Vitro**, [S.l.], v. 45, p. 417-425, 2017.

EL-MOUELHY, A. T. M. *et al.* In vitro evaluation of the effect of the electronic cigarette aerosol, Cannabis smoke, and conventional cigarette smoke on the properties of gingival fibroblasts/gingival mesenchymal stem cells. **Journal of Periodontal Research**, [S.l.], v. 57, n. 1, p. 104-114, 2022.

GANAPATHY, V. *et al.* Electronic cigarette aerosols suppress cellular antioxidant defenses and induce significant oxidative DNA damage. **PloS one**, [S.l.], v. 12, n. 5, p. e0177780, 2017.

ISIK ANDRIKOPOULOS, G.; FARSALINOS, K.; POULAS, K. Electronic nicotine delivery systems (ENDS) and their relevance in oral health. *Toxics*, [S.l.], v. 7, n. 4, p. 61, 2019.

Ji, E. H. *et al.* Characterization of electronic cigarette aerosol and its induction of oxidative stress response in oral keratinocytes. *PloS one*, [S.l.], v. 11, n. 5, p. e0154447, 2016.

KHALIL, C *et al.* E-cigarette aerosol induced cytotoxicity, DNA damages and late apoptosis in dynamically exposed A549 cells. *Chemosphere*, [S.l.], v. 263, p. 127874, 2021.

LERNER, C. A. *et al.* Electronic cigarette aerosols and copper nanoparticles induce mitochondrial stress and promote DNA fragmentation in lung fibroblasts. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, [S.l.], v. 477, n. 4, p. 620-625, 2016.

MOHAMMADI, L. *et al.* Chronic e-cigarette use impairs endothelial function on the physiological and cellular levels. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, [S.l.], v. 42, n. 11, p. 1333-1350, 2022.

OLLU, L. R. *et al.* Intracellular activation of EGFR by fatty acid synthase dependent palmitoylation. *Oncotarget*, [S.l.], v. 6, n. 33, p. 34992-35003, 2015.

OSTA, V. *et al.* EGFR amplification and expression in oral squamous cell carcinoma in young adults. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, [S.l.], v. 47, n. 7, p. 817-823, 2018.

OUZZANI, M. *et al.* Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic reviews*, [S.l.], v. 5, p. 1-10, 2016.

PLATEL, A. *et al.* Comparison of the in vivo genotoxicity of electronic and conventional cigarettes aerosols after subacute, subchronic and chronic exposures. *Journal of Hazardous Materials*, [S.l.], v. 423, p. 127246, 2022.

SANCILIO, S. *et al.* Cytotoxicity and apoptosis induction by e-cigarette fluids in human gingival fibroblasts. *Clinical oral investigations*, [S.l.], v. 20, p. 477-483, 2016.

SANTOS, C. M. C.; PIMENTA, C. A. M.; NOBRE, M. R. C. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista latino-americana de enfermagem*, [S.l.], v. 15, p. 508-511, 2007.

SUNDAR, I. K. *et al.* E-cigarettes and flavorings induce inflammatory and pro-senescence responses in oral epithelial cells and periodontal fibroblasts. *Oncotarget*, [S.l.], v. 7, n. 47, p. 77196, 2016.

TELLEZ, C. S. *et al.* Cytotoxicity and genotoxicity of E-cigarette generated aerosols containing diverse flavoring products and nicotine in oral epithelial cell lines. *Toxicological Sciences*, [S.l.], v. 179, n. 2, p. 220-228, 2021.

UREÑA, J. F. *et al.* Impact of atomizer age and flavor on in vitro toxicity of aerosols from a third-generation electronic cigarette against human oral cells. *Chemical research in toxicology*, [S.l.], v. 33, n. 10, p. 2527-2537, 2020.

WELZ, C. *et al.* Cytotoxic and genotoxic effects of electronic cigarette liquids on human mucosal tissue cultures of the oropharynx. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, [S.l.], v. 35, n. 4, 2016.