

OS EFEITOS DO USO DE CIGARRO ELETRÔNICO E CIGARRO CONVENCIONAL NA INTEGRIDADE DO DNA DA MUCOSA BUCAL: UMA PROPOSTA DE ESTUDO

Richard Vinicius Santana da Silva¹

Suzyneire Baroni²

Palavras-chave: Dano Genético; Toxicidade Celular; Dispositivos Eletrônicos para Fumar; Ensaio Cometa; Teste de Micronúcleo.

INTRODUÇÃO

Os dispositivos eletrônicos para fumar (DEFs), popularmente conhecidos como cigarros eletrônicos (CE), vapes ou pods, têm apresentado crescente popularização em diversos países, especialmente entre adolescentes e adultos jovens. Embora tenham sido inicialmente introduzidos no mercado como uma alternativa menos prejudicial aos cigarros convencionais (CC) e como ferramenta auxiliar para a cessação do tabagismo, evidências científicas recentes têm demonstrado que esses dispositivos não são isentos de riscos à saúde. Os CE funcionam por meio do aquecimento de um líquido composto por substâncias como nicotina, propilenoglicol, glicerina vegetal, aromatizantes e outros aditivos químicos, produzindo um aerossol que é inalado pelo usuário (LU et al., 2022).

Durante o processo de aquecimento, podem ser gerados diversos compostos potencialmente tóxicos, incluindo aldeídos, metais pesados e partículas ultrafinas, capazes de desencadear efeitos adversos em diferentes sistemas do organismo (DENG et al., 2023; OLMEDO et al., 2022; Tommasi et al., 2019). Estudos experimentais têm demonstrado que a exposição aos aerossóis dos CE está associada ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, indução de estresse oxidativo, inflamação celular e comprometimento dos mecanismos de reparo do DNA, fatores diretamente relacionados ao desenvolvimento de danos genéticos.

Nesse contexto, a genotoxicidade tem se destacado como uma importante área de investigação, uma vez que corresponde à capacidade de agentes químicos, físicos ou

¹ Mestrando em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), richardvssilva@gmail.com.

² Doutora em Genética e Melhoramento e docente do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), suzy.baroni@gmail.com.

biológicos promoverem alterações no material genético celular, podendo resultar em instabilidade genômica, mutações e processos carcinogênicos (Araldi *et al.*, 2015). Considerando que a mucosa bucal constitui uma das primeiras barreiras biológicas expostas aos componentes dos CE, sua avaliação por meio de biomarcadores de dano celular e genético representa uma estratégia relevante para o monitoramento dos efeitos decorrentes dessa exposição.

Com isso, torna-se fundamental **investigar** os possíveis efeitos genotóxicos associados ao uso dos CE, ainda investigar se esse dano causado é maior que o decorrente do CC e se a combinação dos dois produtos induzem a um dano ainda maior.

DESENVOLVIMENTO

A pesquisa se caracteriza como um estudo observacional transversal analítico (Gordis, 2017), ao se prepor explorar as associações entre exposição ao CE (agente) e o dano genético na mucosa bucal (desfecho biológico) em um mesmo ponto de observação. Para construção da amostra da pesquisa serão selecionados indivíduos entre 18 e 30 anos de idade, de ambos os sexos. Sendo os critérios de exclusão: a presença de doenças sistêmicas que possam afetar a mucosa bucal, presença de lesões infecciosas e neoplásicas na mucosa bucal e uso de medicamentos que interfiram na integridade celular no período de coleta (Vale *et al.*, 2017). A definição destes critérios reduz fatores de confusão, assegurando a comparabilidade entre controles e expostos.

Os indivíduos selecionados formarão quatro grupos: i – Grupo exposto i, composto por apenas usuários de CE, por no mínimo três meses; ii – Grupo exposto ii, composto por indivíduos usuários de CC e não fumantes de CE; iii – Grupo exposto iii, composto por indivíduos usuários de CC e CE; iv – Grupo controle, composto por indivíduos não usuários de CE e não fumantes de CC.

A coleta de dados será realizada em duas etapas: i – para obter dados sociodemográficos e de história de exposição dos indivíduos da amostra (idade, sexo, duração e frequência de uso do CE e CC, hábitos de vida), sendo aplicado um questionário semiestruturado que servirá para correlacionar variáveis pessoais com marcadores celulares; ii – para analisar a possível presença de dano genético, será realizado uma coleta de células da mucosa bucal, feita por meio da técnica escovado

citológico da mucosa jugal (Vale *et al.*, 2017; Souza, 2024). Os indivíduos deverão enxaguar a boca com água antes da coleta para remover resíduos e contaminantes

Para a análise do material coletado será empregado duas técnicas. Primeiro, será realizado o teste de micronúcleo, o qual busca identificar “segmentos acêntricos ou cromossomos completos que não se agregaram no fuso mitótico no decorrer da citocinese e ficam isolados dos núcleos” (Castagna, Baroni e Battisti, 2025, p. 25- 26). O teste será conduzido conforme os procedimentos descritos por Vale *et al.* (2017), em que as lâminas serão feitas com a fixação do material coletado em solução de ácido acético/metanol 3:1. Para a coloração, as lâminas ficarão imersas por 15 minutos em uma solução de HCl a 5 N, depois serão lavadas e colocadas por mais 15 minutos em água destilada, em seguida, serão coradas por 90 minutos com o reagente de Schiff e depois contra-coradas por 30 segundos com FastGreen a 1% (Vale *et al.*, 2017). Posteriormente as lâminas serão analisadas por meio do microscópio, verificando a presença de micronúcleos nas células.

O segundo método de análise a ser realizado é o Ensaio Cometa, conhecido também como Ensaio de Eletroforese em Gel de Célula Única (SCGE), o emprego desse método objetiva avaliar a extensão do dano ao DNA em células isoladas da mucosa bucal (Castagna, Baroni e Battisti, 2025). A análise das imagens do Ensaio Cometa fornece três parâmetros importantes para cada célula: i - Comprimento da cauda, o qual avalia a distância percorrida pelos fragmentos em relação ao restante do DNA integro; ii - Intensidade de fluorescência da cauda, o qual seria o percentual de DNA na cauda; iii - Momento da cauda, aproximadamente, o produto do comprimento da cauda pela intensidade da cauda (Garaj-Vrhovac e Vera, 2000).

O protocolo do ensaio cometa será adaptado de acordo com Silva *et. al.* (2007) e Garaj-Vrhovac e Vera (2000) em que o material biológico coletado será fixado em lâminas por meio da incorporação em agarose. Após a fixação do material, as lâminas serão imersas em uma solução de lise celular (2,5 M de NaCl, 100 mM de Na₂EDTA e 10% de DMSO) a 4°C para manter a integridade do DNA. Em seguidas as lâminas serão uma solução tampão de eletroforese (0,3 M NaOH, 1 mM Na₂EDTA, pH 10), durante vinte minutos em temperatura ambiente, permitindo assim, o desenrolamento do DNA. Posteriormente, será realizado o processo de eletroforese em uma plataforma de eletroforese horizontal em tampão de eletroforese fresco e refrigerado por vinte minutos

a 300 mA. Após esse processo, as lâminas serão neutralizadas para interromper a ação alcalina e estabilizar o DNA, utilizando tampão Tris-HCl (pH 7,5) três vezes durante 5 minutos e coradas para a visualização com brometo de etídio a 10% durante dez minutos. Por fim, as lâminas finalizadas serão analisadas por meio do microscópio.

Para fazer uma caracterização da amostra em estudo, será utilizado o software Rstudio para a realização da estatística descritiva, sendo as medidas utilizadas: a média e desvio-padrão para variáveis paramétricas; a mediana e intervalo interquartil para variáveis não paramétricas; e as frequências absolutas e relativas para variáveis categóricas. Posteriormente será utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar se os dados seguem uma distribuição normal, o resultado desse teste definirá os próximos testes utilizados. Caso o conjunto de dados apresente normalidade será utilizado o Teste t de Student para amostras independentes para testar a comparação entre o grupo exposto e o grupo controle, se os dados não apresentarem distribuição normal será aplicado o Teste de MannWhitney.

Com o objetivo de testar a relações entre intensidade de uso dos CE e os biomarcadores de dano genético, será realizado o Teste de Correlação de Pearson para os dados paramétricos e o Teste de Correlação de Spearman para os dados não paramétricos. Por fim, será realizada a modelagem multivariada por meio da Regressão linear múltipla, objetivando controlar possíveis fatores de confusão dos resultados, sendo adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Por meio da realização do estudo proposto sobre a genotoxicidade dos CE e CC, espera-se que por meio do teste de micronúcleo o grupo exposto composto pelos usuários dos CE, apresentem uma maior frequência de micronúcleos nas células da mucosa bucal em comparação com o grupo controle e uma maior ocorrência de outras alterações nucleares associadas à instabilidade genômica. Ao realizar a análise do ensaio cometa, espera-se serem evidenciados maiores índices de dano ao DNA por quebra das fitas no grupo exposto e uma associação positiva entre intensidade/tempo de uso dos dispositivos e aumento dos biomarcadores de genotoxicidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados advindos da pesquisa poderão fornecer evidências sobre os potenciais efeitos genotóxicos dos CE e CC, suprimindo uma lacuna na literatura sobre o dano genético *in vivo*, contribuindo assim, para discussões relacionadas à saúde pública, a gravidade do uso desses fumígenos isoladamente e em conjunto e à regulamentação desses produtos.

Financiamento: UFFS

REFERENCIAS

- ARALDI, R. P.; MELO, T. C.; MENDES, T. B.; JÚNIOR, P. L. S.; NOZIMA, B. H. N.; ITO, E. T.; CARVALHO, R. F.; SOUZA, E. B.; STOCCO, R. C.. Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: a review. **Biomedicine & Pharmacotherapy, Paris**, v. 72, p. 74–82, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.04.004>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.04.004>. Acesso em: 27 Jun. 2026
- CASTAGNA, A. V. D.; Baroni, S.; Battisti, I. D. E.. **Trabalhadores rurais: exposição a agrotóxicos e danos celulares**. 2025. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis) — Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, Cerro Largo, 2025.. <https://rd.uffrs.edu.br/handle/prefix/8903>. Acesso em: 27 Jun. 2026.
- DENG, H.; TANG, S.; YANG, F.; Chen, D.; Bian, Z.; Wang, Y.; Tang G.; Lee, H. K.. Recent advances in the analysis of electronic cigarette liquids and aerosols: Sample preparation and chromatographic characterization. **Journal of Chromatography A**, v. 1712, art. 464495, 2023. DOI: 10.1016/j.chroma.2023.464495. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/ay/article-abstract/14/4/359/715503/Progress-in-quantification-of-nicotine-content-and?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 27 Jun. 2026.
- GARAJ-VRHOVAC, V.; ZELJEZIC, D.. **Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay: pesticide genotoxicity revealed by comet assay**. Mutation Research, Amsterdam, v. 469, n. 2, p. 279–285, 20 set. 2000. DOI: 10.1016/S1383- 5718(00)00092-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10984689/>. Acesso em: 26 Jun 2026.
- GORDIS, L.. **Epidemiologia**. ed. 5º, São Paulo: Hieme Revinter, 2017.
- LU, L.; XIANG, M.; LU, H.; TIAN, Z.; GAO, Y.. Progress in quantification of nicotine content and form distribution in electronic cigarette liquids and aerosols. **Analytical Methods**, Cambridge, v. 14, n. 4, p. 359–377, 2022. DOI: 10.1039/D1AY01679B. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/ay/article-abstract/14/4/359/715503/Progress-inquantification-of-nicotine-content-and?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 27 Jun. 2026.
- OLMEDO, P.; *et al.* A Critical Review of Recent Literature on Metal Contents in ECigarette Aerosol. **Toxics**, v. 10, n. 9, art. 510, 2022. DOI: 10.3390/toxics10090510.
- SILVA, Juliana da; SIMEONI, N.; GROFF, A. A.; IANISTCKI, M.; BENVEGNÚ, V.; SCHRÖDER, N. T. O Ensaio Cometa na avaliação da genotoxicidade induzida por poluentes atmosféricos utilizando como biomonitor o molusco *Cantareus aspersus* (Müller, 1774). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 1, p. 45–51, 2007. DOI: 10.5132/jbse.2007.01.007. Disponível

em:<https://www.eec.ecotoxbrasil.org.br/index.php/eec/article/download/475/415/1607>.

Acesso em: 09 fev. 2026.

SOUZA, Y. C. C.. **Avaliação de micronúcleos e outras alterações nucleares em células esfoliadas da mucosa bucal de frentistas expostos aos vapores de combustíveis**. 2024. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) — Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2024. Disponível

[https://repositorio.uergs.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/3577/](https://repositorio.uergs.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/3577/_tcc_yasmin_versao_final.pdf?sequence=-1&isAllowed=y)

[_tcc_yasmin_versao_final.pdf?sequence=-1&isAllowed=y](#). Acesso em: 27 Jun. 2026.

TOMMASI, S.; CALIRI, A. W.; CACERES, A.; MORENO, D. E.; LI, M.; CHEN, Y.; SIEGMUND, K. D.; BESARATINIA, A.. Deregulation of biologically significant genes and associated molecular pathways in the oral epithelium of electronic cigarette users.

International Journal of Molecular Sciences, Basel, v. 20, n. 3, art. 738, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20030738>. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/ijms20030738>. Acesso em: 27 Jun. 2026

VALE, L. D. O.; SILVA, V. H. P.; ALMEIDA, F. R.; RIBEIRO, D. A.; SILVA, D. M.. Avaliação de danos genotóxicos e citotóxicos em células da mucosa bucal de soldadores nas cidades de Cubatão e Santos, São Paulo. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 15, n. 4, p. 303–309, out.–dez. 2017. DOI: 10.5327/Z1679443520170012. Disponível <https://www.rbmt.org.br/Content/pdf/v15n4a03.pdf>. Acesso em: 27 Jun. 2026.