



Tabaco aquecido e o seu efeito nos tecidos periodontais: *Scoping review*

*Heat-not-burn tobacco and its effect on
periodontal tissues: Scoping review*

Autor: Tomás de Castro Oliveira

Orientadora: Professora Doutora Marta dos Santos Resende

Mestrado Integrado em Medicina Dentária
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto
Porto, 2026

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar estes agradecimentos por expressar o meu sincero agradecimento a todas as pessoas que, de diferentes formas, contribuíram para a realização desta etapa tão importante da minha vida académica e pessoal.

Em primeiro lugar, devo o mundo à Professora Doutora Marta, Agradeço imenso pela orientação, disponibilidade, apoio e partilha de conhecimento que me foi dando ao longo deste percurso. A Professora é uma das razões principais para eu estar a concluir esta fase da minha vida e começar o resto da minha vida.

Aos meus pais, Sandra e Jorge, e ao meu irmão, Gonçalo, por todo o amor, apoio incondicional e incentivo constante. Obrigado por acreditarem sempre em mim e me sempre apoiarem nos bons e maus momentos e obrigado por me fazerem a pessoa que sou hoje. E mais uma coisa, espero bem que daqui a 4 anos vá parar aos teus agradecimentos, Gonçalo.

Aos meus avós, Clementina, Claudina e Júlio, por cuidarem de mim desde pequeno e por me mostrarem que o meu futuro é a ajudar os outros. A todos os meus tios e primos, mas em destaque à minha tia Isabel, que sempre foi uma das minhas melhores amigas e uma grande inspiração para ser médico.

À minha namorada, Susana, por me aturar estes anos todos. Obrigado por seres a minha companheira e o meu apoio em todos os momentos da minha vida.

Obrigado ao meu binómio, Manel, que também me aturou este tempo todo na clínica. Muitos momentos passámos juntos e nunca me esquecerei deles.

Aos restantes membros do grupo — Maria, Maeva e Lara — obrigado por me adotarem e me acolher no grupo. Muito obrigado por tornarem estes anos de faculdade inesquecíveis.

Quero também deixar um enorme abraço a ambos os Filipes, os meus amigos de Ronfe. Obrigado por todas as palhaçadas.

Por fim, a todo o pessoal da faculdade, colegas, funcionários e professores, quero agradecer por tornarem estes anos numa incrível experiência. Desejo a todos vocês um excelente futuro.

RESUMO

Introdução: O consumo de tabaco constitui um dos principais fatores de risco comportamentais para a mortalidade e morbidade a nível mundial. Tem sido associado ao desenvolvimento e progressão da periodontite, uma doença inflamatória que afeta os tecidos de suporte dentário e que apresenta elevada prevalência na população. Entre os mecanismos que contribuem para esta associação destacam-se alterações vasculares, imunológicas, celulares e microbiológicas.

Recentemente, os dispositivos de tabaco aquecido têm sido promovidos pela indústria tabaqueira como alternativas potencialmente menos nocivas ao tabaco convencional, verificando-se um aumento da sua utilização. Contudo, a evidência científica disponível permanece limitada e inconclusiva relativamente ao seu impacto na saúde periodontal. Estudos laboratoriais, revisões sistemáticas e meta-análises sugerem que estes dispositivos podem exercer efeitos prejudiciais sobre os tecidos periodontais, ainda que aparentemente menos severos do que os associados ao tabaco convencional.

A análise da expressão génica e proteómica tem emergido como ferramenta relevante na avaliação dos efeitos do tabaco aquecido nos tecidos periodontais, permitindo identificar alterações celulares e inflamatórias, relacionadas com o stress oxidativo. Apesar dos resultados preliminares relevantes, continuam a ser necessários estudos clínicos independentes, com amostras representativas e seguimento adequado, que permitam esclarecer o verdadeiro impacto do tabaco aquecido na integridade periodontal e na progressão da periodontite.

Objetivo: Identificar, sintetizar e analisar criticamente a evidência científica disponível sobre os efeitos da exposição ao tabaco aquecido nos tecidos periodontais, com enfoque em alterações na expressão génica e proteómica de marcadores biológicos associados à progressão e ao desenvolvimento da doença periodontal, e apresentar uma proposta de um novo estudo que tente ultrapassar as lacunas e limitações encontradas em estudos anteriores.

Materiais e Métodos: A pesquisa de artigos foi realizada em cinco bases de dados eletrónicas: MEDLINE (PubMed), ScienceDirect (Elsevier), Web of Science (Clarivate Analytics), Scielo (Scientific Electronic Library Online) and Scopus (Elsevier). Foram considerados elegíveis estudos experimentais e/ou *in vitro* e/ou ensaios clínicos e/ou estudos observacionais que avaliassem parâmetros génicos e/ou proteómicos em tecidos gengivais, periodontais ou orais humanos expostos a produtos de tabaco aquecido.

Resultados e discussão: Foram incluídos seis artigos experimentais *in vitro*. Os resultados demonstram que o aerossol de tabaco aquecido provoca alterações génicas e proteómicas associadas à inflamação, ao stress oxidativo e à degradação dos tecidos periodontais. Verificou-se um aumento da expressão de biomarcadores inflamatórios e metaloproteinasas (metaloproteinase 1 (MMP1), metaloproteinase 3 (MMP3), metaloproteinase 9 (MMP9), interleucina 1 (IL-1) e prostaglandina-endoperóxido sintase (PTGS2)), relacionados com a destruição tecidular e a progressão da periodontite, bem como uma redução de proteínas protetoras associadas à homeostase e

regeneração periodontal, como o ligante 14 de quimiocina do motivo C-X-C (CXCL14).

Também foram identificadas alterações em genes associados ao stress oxidativo, com desequilíbrio entre mecanismos antioxidantes e pró-oxidativos, favorecendo o dano celular, ferroptose e um agravamento da condição periodontal. Ao nível da adesão e da função de barreira celular, destacaram-se alterações na queratina 13 (KRT13), na psoriasina (S100A7), na desmocolina 1 (DSC1) e claudina 1 (CLDN1), que podem facilitar a inflamação, a apoptose e a invasão bacteriana. Apesar destas alterações sugerirem uma potencial contribuição do tabaco aquecido para o desenvolvimento e progressão da doença periodontal, o seu impacto revelou-se geralmente inferior ao observado no fumo de cigarro convencional.

Conclusão: Os resultados desta revisão permitem concluir que o tabaco aquecido tem efeitos negativos no ambiente oral e periodontal, nomeadamente através o aumento de mediadores inflamatórios e alterações associadas ao stress celular, embora menos intensos do que os causados pelo cigarro convencional. No entanto, a evidência científica ainda é limitada, devido ao reduzido número de estudos e às suas limitações metodológicas, não sendo possível estabelecer uma relação definitiva entre o consumo destes produtos e o desenvolvimento e progressão da doença periodontal. Assim, o tabaco aquecido, embora, até ao momento, pareça atualmente ser menos prejudicial que o cigarro convencional, não é inofensivo, podendo comprometer a cicatrização e regeneração periodontal. São necessários mais estudos, principalmente em humanos e a longo prazo, para compreender melhor o seu verdadeiro impacto na saúde oral.

Palavras-Chave: Tabaco; tabaco aquecido; periodontite; doença periodontal; tratamento periodontal; expressão génica; análise proteómica; epitélio oral.

ABSTRACT

Introduction: Tobacco use is one of the main behavioral risk factors for mortality and morbidity globally. It has been associated with the development and progression of periodontitis, an inflammatory disease that affects the supporting tissues of the teeth and has a high prevalence in the population. Among the mechanisms that contribute to this association are vascular, immunological, cellular, and microbiological alterations.

Recently, heated tobacco devices have been promoted by the tobacco industry as potentially less harmful alternatives to conventional tobacco, resulting in an increase in their use. However, the available scientific evidence remains limited and inconclusive regarding their impact on periodontal health. Laboratory studies, systematic reviews, and meta-analyses suggest that these devices may exert harmful effects on periodontal tissues, although apparently less severe than those associated with conventional tobacco.

Gene expression and proteomic analysis have emerged as relevant tools in assessing the effects of heated tobacco on periodontal tissues, allowing the identification of cellular and inflammatory changes related to oxidative stress. Despite relevant preliminary results, independent clinical studies with representative samples and adequate follow-up are still needed to clarify the true impact of heated tobacco on periodontal integrity and periodontitis progression.

Materials and Methods: The article search was conducted in five electronic databases: MEDLINE (PubMed), ScienceDirect (Elsevier), Web of Science (Clarivate Analytics), Scielo (Scientific Electronic Library Online), and Scopus (Elsevier). Experimental and/or in vitro and/or clinical trials and/or observational studies that evaluated gene/proteomic parameters in human gingival/periodontal/oral tissues exposed to heated tobacco products were considered eligible.

Objective: Identify, synthesize, and critically analyze the available scientific evidence on the effects of exposure to heated tobacco on periodontal tissues, focusing on alterations in gene expression and proteomics of biological markers associated with the progression and development of periodontal disease, and to present a proposal for a new study that attempts to overcome the gaps and limitations found in previous studies.

Materials and Methods: The literature search was conducted in five electronic databases: MEDLINE (PubMed), ScienceDirect (Elsevier), Web of Science (Clarivate Analytics), SciELO (Scientific Electronic Library Online), and Scopus (Elsevier). Eligible studies were experimental and/or in vitro and/or clinical trials and/or observational studies that evaluated gene/proteomic parameters in human gingival/periodontal/oral tissues exposed to heated tobacco products.

Results and Discussion: Six in vitro experimental studies were included. The results indicate that heated tobacco aerosol causes gene and proteomic alterations associated with inflammation, oxidative stress, and degradation of periodontal tissues. An increase in the expression of inflammatory biomarkers and metalloproteinases (matrix metalloproteinase 1 (MMP1), matrix metalloproteinase 3 (MMP3), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), interleukin 1 (IL-1), and prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2)), related to tissue destruction and periodontitis progression, was observed, as well as a reduction in proteins associated with periodontal homeostasis and regeneration, such as C-X-C motif chemokine ligand 14 (CXCL14). Alterations were also identified in genes associated with oxidative stress, with an imbalance between antioxidant and pro-oxidant mechanisms, favoring cellular damage, ferroptosis, and possible

worsening of periodontal status. At the level of cell adhesion and barrier function, alterations in keratin 13 (KRT13), psoriasin (S100A7), desmocollin 1 (DSC1) and claudin 1 (CLDN1) were highlighted, which may facilitate inflammation, apoptosis, and bacterial invasion. Although these alterations suggest a potential contribution of heated tobacco to the development and progression of periodontal disease, its impact was generally lower than that observed with conventional cigarette smoke.

Conclusions: The results of this review suggest that heated tobacco has negative effects on the oral and periodontal environment, namely through an increase in inflammatory mediators and alterations in cellular stress, although less intense than those caused by conventional cigarettes. However, scientific evidence is still limited due to the small number of studies and their methodological limitations, making it impossible to establish a definitive relationship between the consumption of these products and the development and progression of periodontal disease. Thus, heated tobacco, although it currently appears to be less harmful than cigarettes, is not harmless and may compromise periodontal healing and regeneration. More studies are needed, especially in humans and over the long term, to better understand its true impact on oral health.

Key Words: Tobacco; heated tobacco; periodontitis; periodontal disease; periodontal treatment; gene expression; proteomic analysis; oral epithelium.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	V
ABSTRACT.....	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	X
LISTA DE TABELAS	XIX
LISTA DE FIGURAS	XIX
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS.....	5
MATERIAIS E MÉTODOS	6
RESULTADOS	8
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCC1	Transportador cassete de ligação ao ATP subfamília C membro 1
ACTN2	Alfa-actinina-2
ADN / DNA	Ácido desoxirribonucleico
ARN / RNA	Ácido ribonucleico
AHRR	Repressor do recetor de hidrocarboneto de arilo
AKR1B10	Membro B10 da família 1 da <i>aldo-ceto</i> redutase
AKR1C1	Membro C1 da família 1 da <i>aldo-ceto</i> redutase
AKR1C2	Membro C2 da família 1 da <i>aldo-ceto</i> redutase
AKR1C3	Membro C3 da família 1 da <i>aldo-ceto</i> redutase
ALDH3A1	Membro A1 da família 3 da aldeído desidrogenase
ALOX15	Araquidonato 15-lipoxigenase
ANXA9	Anexina A9
APAF1	Fator 1 de ativação de peptidases apoptóticas
ARNT	Translocador nuclear do recetor de hidrocarbonetos de arilo
ATG13	Proteína 13 relacionada com a autofagia
ATOX1	Chaperona de cobre antioxidante 1
BCL2	Proteína 2 do linfoma de células B
BMPR2	Recetor do tipo 2 da proteína morfogenética óssea
BRAF	Proto-oncogene B-Raf
CAT	Catalase
CCL26	Ligante 26 da quimiocina motivo C-C
CCND2	Ciclina D2
CD4	Grupo de diferenciação 4
CD40LG	Gene do ligante CD40

CDH1	Caderina-E / Caderina 1
CDH2	Caderina-2
CDH3	Caderina 3
CDH4	Caderina-4
CDH5	Caderina 5
CDKN2D	Inibidor da cinase dependente de ciclina 2A
CSF2	Fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos
CSF3	Fator estimulador de colónias de granulócitos
CHGA	Cromogranina A
CHI3L1	Quitinase 3- <i>like</i> 1
CLDN1	Claudina 1
CLDN3	Claudina 3
CLDN4	Claudina 4
CLDN5	Claudina 5
CLDN7	Claudina 7
CLDN9	Claudina 9
CLDN11	Claudina 11
CLDN12	Claudina 12
CLDN14	Claudina 14
CLDN15	Claudina 15
CLDN16	Claudina 16
CLDN17	Claudina 17
COL1A1	Colagénio tipo I alfa 1
CRB3	Membro 3 da família <i>Crumbs</i>
CREB1	Proteína 1 de ligação ao elemento de resposta ao AMPc
CRISP3	Proteína secretora rica em cisteína 3

CRNN	Cornulina
CS	Fumo de cigarro
CTGF	Fator de crescimento do tecido conjuntivo
CXCL1	Ligante 1 de quimiocina do motivo C-X-C
CXCL8	Ligante 8 de quimiocina do motivo C-X-C
CXCL10	Ligante 10 de quimiocina do motivo C-X-C
CXCL14	Ligante 14 de quimiocina do motivo C-X-C
CYP1A1	Citocromo P450 família 1 subfamília A polipeptídeo 1
CYP1B1	Citocromo P450 família 1 subfamília B polipeptídeo 1
DEFB1	Beta-defensina
DLL1	Ligando canónico Notch Delta-like 1
DOCK1	Proteína dedicadora da citocinese 1
DSC1	Desmocolina 1
DSC2	Desmocolina 2
DSC3	Desmocolina 3
DSG1	Desmogleína 1
DSG2	Desmogleína 2
DSG3	Desmogleína 3
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EGR1	Proteína de resposta precoce ao crescimento 1
EIF2AK3	Cinase 3 do fator 2 alfa de iniciação da tradução eucariótica
EIF2B3	Subunidade gama do fator de iniciação da tradução eucariótica 2B
EPB41L4	Proteína tipo banda 4.1 da membrana eritrocitária 4
ERCC2	Proteína de reparação por excisão complementar cruzada 2
ESAM	Molécula de adesão seletiva de células endoteliais
F11R	Recetor F11

FES	Proto-oncogene FES
FGFR2	Recetor 2 do fator de crescimento de fibroblastos
FLG	Filagrina
FN1	Fibronectina 1
FTL	Cadeia leve da ferritina
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GCLC	Subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase
GCLM	Subunidade reguladora da glutamato-cisteína ligase
GGH	Gama-glutamil hidrolase
GGNBP2	Proteína 2 de ligação à gametogenetina
GLRX2	Glutaredoxina 2
GNG13	Subunidade gama 13 da proteína G
GPX2	Glutathione peroxidase 2
GPX3	Glutathione peroxidase 3
GPX4	Glutathione peroxidase 4
GSR	Glutathione reductase
GSTA4	Glutathione S-transferase alfa 4
h	Hora
H2AFX	Histona H2A.X
H2BW3P	Pseudogene 3 da histona H2B.W
H3F3B	Histona H3.3B
HHEX	<i>Hematopoietically expressed homeobox</i>
HMOX1	Heme oxygenase 1
HMOX2	Heme oxygenase 2
HTP	Produto de tabaco aquecido
HTPA	Aerossol de tabaco aquecido

ICAM1	Molécula de adesão intercelular 1
ICAM2	Molécula de adesão intercelular 2
ID3	Inibidor de ligação ao ADN 3
IGF1R	Recetor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IL-1α	Interleucina 1 alfa
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-1R2	Recetor do tipo 2 da interleucina-1
IL-6	Interleucina 6
IL-13	Interleucina 13
IL-24	Interleucina 24
IL6ST	Transdutor de sinal da família de citocinas da interleucina 6
IQGAP1	Proteína ativadora de GTPase contendo motivo IQ 1
IRS1	Substrato 1 do recetor de insulina
ITGA3	Subunidade 3 da integrina alfa
ITGA6	Subunidade alfa 6 da integrina
ITGB1	Subunidade 1 da integrina beta
IVL	Involucrina
JAK/STAT	Janus cinase/transdutor de sinal e ativador da transcrição
JAM2	Molécula de adesão juncional 2
JAM3	Molécula de adesão juncional 3
JUN	Proto-oncogene JUN
JUNB	Proto-oncogene JunB
KIF18B	Membro 18B da família da cinesina
KLK11	Peptidase 11 relacionada à calicreína
KLK12	Peptidase 12 relacionada à calicreína
KLK7	Calicreína tecidual 7

KRT1	Queratina 1
KRT2	Queratina 2
KRT4	Queratina 4
KRT5	Queratina 5
KRT7	Queratina 7
KRT10	Queratina 10
KRT13	Queratina 13
KRT14	Queratina 14
KRT15	Queratina 15
KRT16	Queratina 16
KRT17	Queratina 17
KRT19	Queratina 19
KRT76	Queratina 76
LAMTOR5	Adaptador endossomal/lisossomal tardio e ativador de MAPK e mTOR 5
LPS	Lipopolissacarídeo(s)
LSP1	Proteína 1 específica de linfócitos
MAF	Fator de transcrição MAF
MADD	<i>MAP kinase-activating death domain</i>
MAPK	Proteína cinase ativada por mitógenos
MAPK14	Proteína cinase 14 ativada por mitogénio
MAPK8	Cinase 8 ativada por mitogénios
MBP	Proteína básica da mielina
MDM2	Proto-oncogene MDM2
MGST1	Glutathione S-transferase microssomal 1
miRNA	Micro RNA
MKI67	Marcador de proliferação Ki-67

MMP1	Metaloproteinase 1
MMP2	Metaloproteinase 2
MMP3	Metaloproteinase 3
MMP9	Metaloproteinase 9
MMP10	Metaloproteinase 10
MMPs	Metaloproteinases
mRNA	RNA mensageiro
MT1X	Metalotioneína 1X
MUC1	Mucina-1
NCCRP1	Proteína 1 do recetor de células citotóxicas não específicas
NFE2L2	Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2
NFIB	Fator nuclear I/B
NFKBIA	Inibidor alfa do fator nuclear kappa B
NOS1	Óxido nítrico sintase 1
NOTCH1	Gene NOTCH1
NOTCH2	Gene NOTCH2
NQO1	Quinona 1
NDUFA6	Subunidade A6 da oxidoreductase NADH:ubiquinona
NDUFB4	Subunidade B4 da oxidoreductase NADH:ubiquinona
NDUFS2	Subunidade S2 da oxidoreductase NADH:ubiquinona
OXS1	Quinase 1 de resposta ao stress oxidativo
PCNA	Antígeno nuclear de proliferação celular
PDLIM1	Proteína com domínios PDZ e LIM 1
PECAM1	Molécula de adesão celular endotelial plaquetária
PFKP	Fosfofrutoquinase do tipo plaquetário

PHLDA1	Membro 1 da família A com domínio semelhante à homologia de pleckstrina
PI3	Elafina / Inibidor de peptidase 3
PLAUR	Recetor do ativador de plasminogênio do tipo uroquinase
PMNs	Neutrófilos polimorfonucleares
POR	Citocromo P450 oxidoredutase
PRDX1	Peroxirredoxina 1
PRDX2	Peroxiredoxina 2
PRDX4	Peroxiredoxina 4
PRDX6	Peroxirredoxina 6
PRKCE	Gene da proteína quinase C épsilon
PRNP	Gene da proteína priónica
PTGFR	Recetor de prostaglandina F
PTGS2	Prostaglandina-endoperóxido sintase 2
PVRL2	Nectina-2 / poliovirus receptor-related 2
PVRL4	Nectina-4
RAB6B	Pequena GTPase RAB6B / membro da família de oncogenes RAS
RAC2	Pequena GTPase 2 da família RAC
ROBO1	Recetor 1 de orientação <i>roundabout</i>
RPS6KA2	Cinase A2 da proteína ribossómica S6
RRN3	Fator 3 de transcrição do RNA ribossómico
RTN1	Reticulono-1
S100A1	Proteína S100 de união de cálcio A1
S100A7	Psoriasina
SBNO2	Homólogo 2 de strawberry notch
SCAF4	Fator 4 associado ao CTD relacionado com SR

SERPINB2	Inibidor do ativador de plasminogénio 2 / Membro 2 da família B de serpinas
SHROOM3	Shroom family member 3
SLC7A11	Membro 11 da família 7 de transportadores de solutos
SLC40A1	Membro 1 da família 40 de transportadores de soluto
SOD1	Superóxido dismutase 1
SOD2	Superóxido dismutase 2
SPINK7	Inibidor de serina peptidase tipo Kazal 7
SRXN1	Sulfiredoxina 1
STK25	Quinase 25 de serina/treonina
TGFα	Fator de crescimento transformador alfa
THRB	Recetor beta da hormona tiroideia
TIMP1	Inibidor da metaloproteinase 1 do tecido / Inibidor tecidual de metaloproteinase 1
TIPARP	Poli(ADP-ribose) polimerase induzível por TCDD
TJP1	Proteína 1 de junção estreita
TRAF3	Fator 3 associado ao recetor de TNF
TXNRD1	Tiorredoxina redutase 1
TXNRD2	Tiorredoxina redutase 12
UBE2C	Enzima E2 C de conjugação da ubiquitina
VANGL2	Proteína 2 VANGL da polaridade celular planar
VEGFA	Fator de crescimento endotelial vascular A
VIMP	Selenoproteína S
WNT	Via de sinalização Wnt / proteínas Wnt
XDH	Xantina desidrogenase

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Síntese descritiva dos estudos no que diz respeito ao desenho experimental, substrato avaliado, metodologia experimental, objetivo do estudo e parâmetros genômicos/ proteômicos avaliados. 9

Tabela 2 - Continuação da síntese descritiva dos artigos relativamente aos resultados e limitações. 11

Tabela 3 - Síntese da função, tipo de alteração de expressão e potencial impacto na doença periodontal dos genes e/ou proteínas analisados. 32

Tabela Suplementar 1 - Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR) Checklist 43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diferentes meios de consumo de tabaco 2

Figura 2 - Interações hospedeiro-microrganismo na patogénese da periodontite . 4

Figura 3 - Fluxograma da identificação e seleção dos artigos incluídos na revisão 8

INTRODUÇÃO

Em média, 8 milhões de óbitos anuais são atribuídos ao consumo de tabaco (cerca de 15% de óbitos a nível mundial) (1). Além disso, estima-se que o consumo de tabaco tenha sido responsável por mais de 100 milhões de mortes no século passado e projeta-se que, sem medidas eficazes, este hábito será responsável pela morte de 1 bilião de pessoas no século XXI (2). Em Portugal, em 2019, foram registados quase 14 mil óbitos associados ao consumo de tabaco, representando cerca de 12 % das mortes na população com mais de 35 anos (3).

Quando associamos estes valores à prevalência de consumo de tabaco, em pessoas com mais de 15 anos, na ordem dos 19,5%, a nível mundial, e 24,1%, a nível europeu, em 2024, e previsões de 17,4% e 22,3% para 2030 (1), respetivamente, o consumo de tabaco destaca-se como um dos principais e mais determinantes fatores de risco comportamental em termos de mortalidade e morbilidade mundial (4, 5). Esta realidade deve-se ao facto de o consumo de tabaco estar associado à patogénese de diversas doenças cardiovasculares (6-8), de doenças respiratórias (7, 9) e neoplasias (10), nomeadamente o carcinoma oral (11), mas também de outras patologias sistémicas e orais que culminam na perda de qualidade de vida do indivíduo (2).

Por outro lado, o consumo de tabaco é também responsável por enormes gastos na saúde pública. Apenas no ano de 2012, o montante gasto em saúde devido a doenças atribuíveis ao tabagismo alcançou os 467 mil milhões de dólares americanos (US\$) ou 5,7% dos gastos globais com saúde. O custo económico total do tabagismo (considerando gastos com saúde e perdas de produtividade) totalizou 1,852 triliões de dólares americanos (US\$), equivalente a 1,8% do Produto Interno Bruto (PIB) mundial anual (12).

Uma das patologias orais associadas pelo consumo de tabaco é a periodontite, uma doença crónica inflamatória caracterizada pela perda das estruturas de suporte dentário, como gengiva, osso alveolar, cemento e ligamento periodontal, que resulta na perda precoce de dentes (4, 7, 13).

Dados recolhidos em 2021 indicam uma prevalência da periodontite na população portuguesa entre 41% e 69% (com uma incidência menor nas regiões mais rurais e mais elevada nas áreas urbanas), representando o 10º valor mais elevado da União Europeia (14). Estes valores reforçam, mais uma vez, a importância da aplicação de medidas de controlo de um dos principais fatores de risco desta doença – o consumo tabágico (4, 5).

São vários os mecanismos envolvidos que explicam o efeito que o tabaco exerce no nosso organismo e que potenciam o desenvolvimento da periodontite. Entre eles destacam-se a redução da perfusão sanguínea gengival (4), o aumento da destruição de células periodontais por processos autofágicos, bem como a redução da viabilidade, da taxa de proliferação e migração das mesmas (4, 10), alterações imunológicas, como a redução da produção de mediadores anti-inflamatórios e estimulação de uma resposta pró-inflamatória (4, 10), e uma maior prevalência de estirpes bacterianas relacionadas com doença periodontal quando

comparamos com indivíduos não fumadores, como a *Porphyromonas gingivalis*, o *Aggregatibacter actinomycetencomitans*, o *Bacteroides forsythus* e o *Fusobacterium nucleatum* (7).

Contudo, e apesar da evidência científica existente que revela os efeitos negativos do tabaco, recentes campanhas da indústria tabaqueira pretendem enaltecer os seus novos produtos desenvolvidos, alegando possuir um perfil de risco potencialmente inferior (8, 15). Estes produtos são geralmente designados por dispositivos de tabaco aquecido (HTP), nos quais o tabaco é apenas aquecido – e não queimado – permitindo que a nicotina presente seja libertada sob a forma de aerossol e posteriormente inalada. Esse mecanismo difere dos cigarros convencionais, em que o tabaco sofre combustão e o fumo resultante é inalado (4, 15).

A modalidade de utilização dos HTP tem vindo a registar um aumento no número de utilizadores (5, 16). Dados de 2022 revelam que cerca de 2,29% da população portuguesa já aderiu à utilização destes dispositivos e estima-se que o número poderá aumentar com o aumento da disponibilidade destes produtos no mercado (17).

Das diversas marcas disponibilizadas no mercado, as principais e mais prevalentes são IQOS®, Ploom® e glo® (15, 18, 19). Apesar das diferenças tecnológicas entre os dispositivos e os respetivos consumíveis, o mecanismo de transporte da nicotina é semelhante e veiculada através de *sticks*, que contêm o tabaco processado. Estes *sticks* são posteriormente aquecidos pelos HTP, libertando a nicotina sob a forma de aerossol para ser inalada (15, 18, 19).

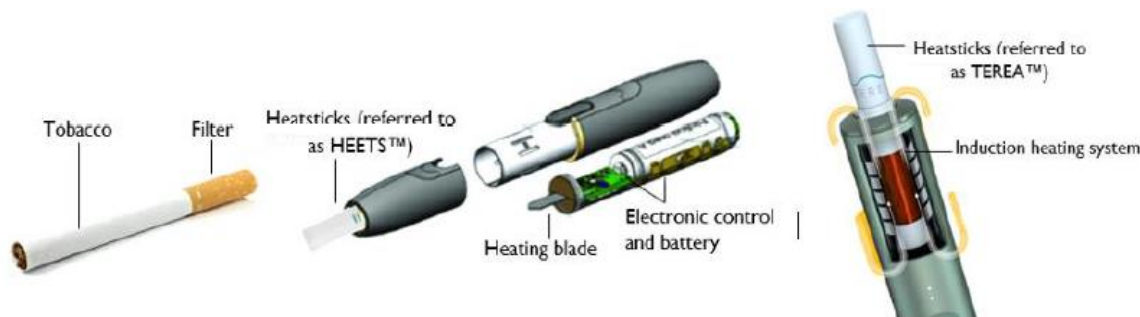


Figura 1 - Diferentes meios de consumo de tabaco. Da direita para a esquerda são apresentados: cigarro convencional, dispositivo IQOS® e IQOS® Ilumina™.

Todavia, a evidência científica disponível até ao momento não permite tirar conclusões definitivas quanto à segurança destes dispositivos. Tal limitação deve-se, por um lado, aos vieses metodológicos presentes em muitos dos estudos existentes – nomeadamente o facto de vários terem sido financiados pela própria indústria tabaqueira – e, por outro lado, ao reduzido número de investigações de qualidade, particularmente estudos clínicos em humanos com amostras representativas e com períodos de seguimento adequados (15, 20).

No entanto, diversos estudos recentes e independentes, principalmente laboratoriais (5, 21, 22), e revisões sistemáticas e meta-análises (16, 20, 23), revelam que os HTP podem ter um papel prejudicial quanto ao desenvolvimento, progressão e tratamento da doença periodontal, ainda que em grau inferior

comparativamente ao tabaco convencional (5, 16, 20-23), o que leva muitos profissionais da área de medicina dentária a recomendarem estes produtos como um apoio, ainda que transitório, para intervenções de cessação tabágica (4, 23), à semelhança de outros profissionais de saúde que trabalham na área da cessação tabágica e dos próprios fumadores.

A análise da expressão génica é um dos métodos mais utilizados para avaliar, de forma concreta, o impacto dos HTP nos tecidos periodontais (16). Este método consiste em quantificar a expressão de uma determinada sequência genética, através da amplificação de amostras de ácido desoxirribonucleico e ribonucleico (DNA/RNA). Estes valores de expressão génica são posteriormente utilizados para concluir se uma determinada patologia ou efeito celular pode ser resultado de alterações de expressão de genes (24).

O consumo de tabaco convencional tem diversos efeitos sobre a expressão génica das células do epitélio oral como o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (25), a ativação dos mecanismo de apoptose e a alteração dos ciclos de vida celulares de células epiteliais orais e fibroblastos gengivais (26). Os fibroblastos são fundamentais para a manutenção da integridade e estrutura dos tecidos periodontais, desempenhando ainda um papel crucial na resposta imunitária local, através da produção de citocinas pró-inflamatórias em resposta à invasão por patogénios periodontais. Assim, alterações na semivida ou no ciclo celular destas células podem contribuir significativamente para o desenvolvimento e progressão da periodontite (26). Entre as principais proteínas expressas envolvidas no controlo do ciclo celular e da sobrevivência dos fibroblastos destacam-se a p53, a proteína 2 do linfoma de células B (BCL2), a p21 e a p16 (15).

Por sua vez, a análise proteómica também possui um papel muito importante na determinação da fonte de alterações patológicas, nomeadamente, alterações na expressão proteica. Esta análise envolve a identificação, quantificação e estudo das modificações pós-traducionais das proteínas, fornecendo informações cruciais sobre processos biológicos e doenças que não são totalmente explicadas apenas pela análise genómica (27).

Diversas proteínas têm sido identificadas como marcadores associados ao desenvolvimento e progressão da periodontite, estando incluídas neste grupo proteínas como a glutationa, a galectina 3 e o inibidor do ativador de plasminogénio 2 / Membro 2 da família B de serpinas (SerpinaB1) (28, 29). Estas proteínas possuem funções inflamatórias e/ou reguladoras do stress oxidativo celular e existe evidência que relaciona a expressão destas proteínas ao consumo de tabaco (30, 31).

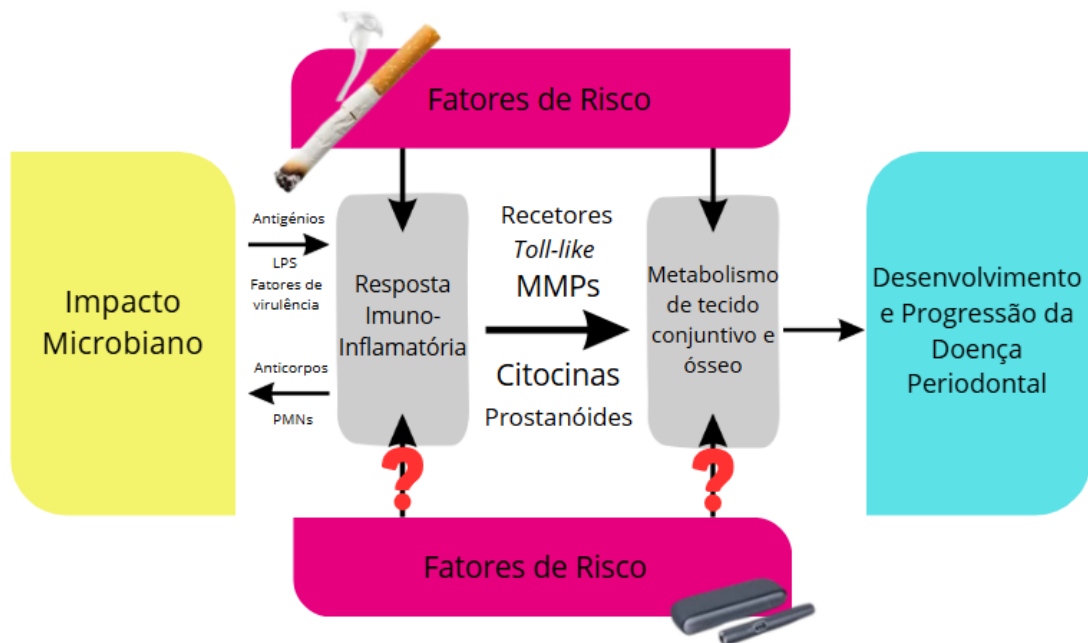


Figura 2 - Interações hospedeiro-microrganismo na patogênese da periodontite. LPS: lipopolissacarídeos; MMPs: Metaloproteinases; PMNs: Leucócitos polimorfonucleares.

Assim, apesar de existir evidência científica extensa sobre os impactos genómicos e proteómicos do cigarro e do cigarro eletrónico nos tecidos periodontais (15, 18), ainda que em menor quantidade para o cigarro eletrónico, existe pouca evidência relativamente aos HTP e a que existe encontra-se dispersa, não existindo nenhum mapeamento ou análise da mesma em paralelo.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Esta *scoping review* tem como objetivo identificar, sintetizar e analisar criticamente a evidência científica disponível sobre os efeitos da exposição aos HTP nos tecidos periodontais, com enfoque em alterações na expressão gênica e proteômica de marcadores biológicos associados à progressão e ao desenvolvimento da doença periodontal.

Objetivos Específicos

- Mapear sistematicamente os estudos existentes que avaliam os efeitos dos HTP nos tecidos periodontais ao nível molecular;
- Identificar e descrever os protocolos metodológicos utilizados na análise da expressão gênica e proteômica;
- Caracterizar e comparar os diferentes protocolos aplicados, bem como os principais resultados obtidos relativamente aos marcadores periodontais estudados;
- Identificar lacunas de conhecimento, limitações metodológicas e inconsistências na literatura atual;
- Apontar oportunidades para investigação futura, com base na evidência disponível;
- Propor o desenho de um estudo experimental que responda às lacunas identificadas, ultrapasse as limitações encontradas e contribua para o avanço do conhecimento nesta área.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Protocolo do estudo

O protocolo do estudo foi desenvolvido de acordo com a *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews* (PRISMA-ScR), apresentada na Tabela suplementar 1, que consta do Anexo I.

2. Estratégia PICO e questão de investigação

A questão de pesquisa foi formulada de acordo com a estratégia PICO (População, Intervenção, Controlo ou Comparação, *Outcome*) da seguinte forma:

P (População): Fumadores e não fumadores

I (Intervenção): Utilizadores de HTP

C (Comparação): Fumadores de cigarro/ tabaco convencional e não fumadores

O (*Outcome*): Marcadores de expressão génica/proteómica associados à progressão e desenvolvimento de patologia periodontal

Questão clínica em formato “PICO”: Existem diferenças nos marcadores de expressão génica/proteómica associados ao desenvolvimento de patologia periodontal em tecidos orais de utilizadores de HTP relativamente a pacientes não fumadores e fumadores de tabaco convencional?

3. Pesquisa e Seleção de artigos

A pesquisa bibliográfica foi efetuada nas bases de dados MEDLINE (PubMed), ScienceDirect (Elsevier), Web of Science (Clarivate Analytics), Scielo (Scientific Electronic Library Online) e Scopus (Elsevier) de 1998 (data da criação primeiro dispositivo de HTP) até 1 de março de 2026.

Para a pesquisa de artigos foi utilizada a seguinte combinação de *keywords*: ("heated tobacco product*" OR "heat-not-burn" OR HTP OR Tobacco OR IQOS® OR Ploom® OR glo®) AND Smoking AND ("oral epithelium" OR "gingival epithelium" OR gingiva* OR gene expression OR proteomic analysis) AND (periodontitis OR periodontal disease* OR periodontal treatment).

Os resultados da pesquisa bibliográfica foram carregados no *software* de gestão de referências EndNote. Posteriormente, todos os registos foram importados para a plataforma Rayyan (Rayyan Systems Inc). Dois revisores independentes selecionaram os artigos elegíveis para leitura do texto completo. A decisão de incluir ou excluir artigos seguiu os seguintes critérios pré-definidos:

3.1. Critérios de Inclusão

- Artigos que, pela leitura do título, resumo e texto integral, constituem estudos experimentais e/ou *in vitro* e/ou ensaios clínicos e/ou estudos observacionais que avaliam parâmetros génicos/proteómicos em tecidos gengivais/periodontais/orais humanos expostos a HTP;
- Publicações referenciadas na bibliografia desses artigos, consideradas relevantes para a temática em análise.

3.2. Critérios de Exclusão

- Revisões sistemáticas e narrativas;
- Artigos duplicados;
- Artigos sem acesso ao texto integral;
- Artigos em idiomas diferentes do português, inglês e espanhol.

RESULTADOS

Foram obtidos 785 resultados na pesquisa eletrónica das bases de dados. Destes, foram removidos 404 resultados por serem repetidos. Dos restantes 381 artigos, após a leitura dos títulos e resumos, apenas oito foram selecionados. Após a avaliação da elegibilidade dos artigos, apenas seis foram incluídos na revisão. A razão da exclusão dos dois artigos (32, 33) prende-se com o facto de não apresentarem a avaliação do impacto do aerossol de tabaco aquecido (HTPA) em parâmetros genómicos e/ou proteómicos em tecidos periodontais.

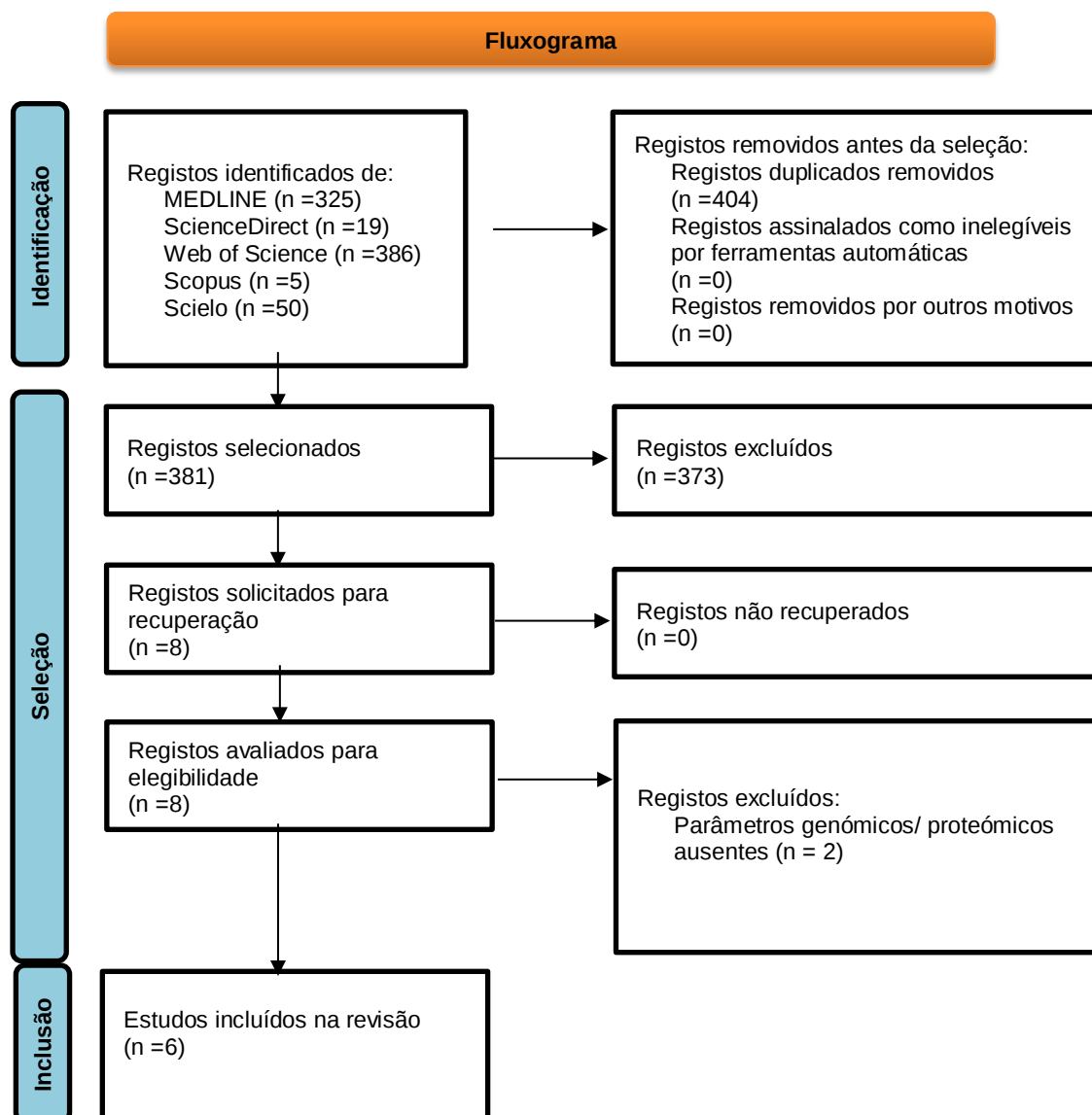


Figura 3 - Fluxograma da identificação e seleção dos artigos incluídos na revisão.

Os dados referentes ao tipo, desenho e objetivo do estudo, bem como os grupos experimentais, tipo de tecido analisado, parâmetros avaliados e limitações dos estudos encontram-se descritos nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Síntese descritiva dos estudos no que diz respeito ao desenho experimental, substrato avaliado, metodologia experimental, objetivo do estudo e parâmetros genômicos/ proteômicos avaliados.

Autor	Tipo de Estudo	Substrato Avaliado	Metodologia Experimental	Objetivo do Estudo	Parâmetros Genômicos/ Proteômicos Avaliados
Zanetti, F. et al. (2016) (34)	<i>In Vitro</i>	Modelo de cultura organotípica do epitélio gengival humano	Culturas celulares expostas a diferentes concentrações de CS (20 e 30%), de HTPA aquecido (30, 45 e 80%) e não expostas a qualquer tipo de tabaco (controle). As culturas foram avaliadas em 4 pontos temporais (4, 24, 48 e 72 h após a exposição ao tipos de tabaco)	Avaliar os impactos biológicos da exposição a HTPA, em comparação com CS, em culturas organotípicas de epitélio oral	Stress celular; Fatores e mediadores inflamatórios; Adesão celular; Junções de oclusão; Impacto celular/ epitelial; miRNAs
Zanetti, F. et al. (2017) (35)	<i>In Vitro</i>	Modelo de cultura organotípico do epitélio gengival humano	Culturas celulares expostas a diferentes concentrações de CS (25 e 35%), de HTPA (75 e 100%) e não expostas a qualquer tipo de tabaco (controle). As culturas foram avaliadas após 24 h da exposição inicial	Avaliar os impactos biológicos da exposição a HTPA, em comparação com CS, em culturas organotípicas de epitélio oral	Stress celular; Fatores inflamatórios; Adesão celular; Junções de oclusão; Impacto celular/ epitelial; miRNAs

Zanetti, F. <i>et al.</i> (2018) (36)	<i>In Vitro</i>	Modelo de cultura organotípico da mucosa bucal e epitélio gengival humano	Culturas celulares expostas a diferentes concentrações de CS (25 e 45% para células da mucosa bucal e 10 e 20% para células de epitélio oral), de HTPA (40, 75 e 100% para células da mucosa bucal e 25, 50 e 100% para células de epitélio oral) e não expostas a qualquer tipo de tabaco (controle). As culturas de células da mucosa bucal foram avaliadas em 4 pontos temporais (4, 24, 48 e 72 h após a exposição aos tipos de tabaco), enquanto as células epiteliais orais foram avaliadas em 3 pontos temporais (4, 24, 48 h após a exposição aos tipos de tabaco).	Avaliar os impactos biológicos da exposição a HTPA, em comparação com CS, em culturas organotípicas de epitélio oral	Stress celular; Fatores e mediadores inflamatórios; Adesão celular; Junções de oclusão; Impacto celular/epitelial; miRNAs
Pagano, S. <i>et al.</i> (2021) (15)	<i>In Vitro</i>	Fibroblastos e queratinócitos gengivais humanos	Culturas celulares expostas a diferentes concentrações de HTPA (6,25% e 100%) e não expostas a HTPA (controle). As culturas foram avaliadas após	Comparar os efeitos do aerossol do IQOS® em fibroblastos gengivais humanos e queratinócitos humanos expostos versus não expostos	Apoptose; Ciclo celular

			24 h da exposição inicial		
Uehara, O. <i>et al.</i> (2023) (18)	<i>In Vitro</i>	Células progenitoras epiteliais orais humanas	Culturas celular expostas a HTPA (1%) e não expostas a HTPA (controle). As culturas foram avaliadas após 1 mês de exposição contínua a HTPA	Examinar o efeito do HTPA em células epiteliais gengivais	Diferenciação celular; Resposta celular; Ciclo celular
Doya, K. <i>et al.</i> (2025) (21)	<i>In Vitro</i>	Fibroblastos gengivais humanos	Culturas celulares expostas a CS (25%), expostas a HTPA (200%) e não expostas a qualquer tipo de tabaco (controle). As culturas foram avaliadas após 24 h da exposição inicial	Investigar os efeitos do HTPA no tecido periodontal	Migração celular; Remodelação tecidual

CS: Fumo de cigarro; h: hora; HTPA: Aerossol de tabaco aquecido.

Tabela 2 - Continuação da síntese descritiva dos artigos relativamente aos resultados e limitações.

Autor	Resultados	Limitações
Zanetti, F. <i>et al.</i> (2016) (34)	Mediadores inflamatórios: - 24 h: Aumento na produção de VEGFA, TGFα, MMP1, IL-1α (CS a 20 e 30%) para CS e VEGFA (HTPA a 45 e 80%), TGFα (HTPA a 45%), MMP1 (HTPA a 30, 45 e 80%), IL-1β (HTPA a 80%) para HTPA, e diminuição da expressão de CXCL10 (CS a 20 e 30%), IL-6 (CS a 30%), CSF2 (CS a 30%) para CS e CXCL10 (HTPA a 80%) para HTPA. - 48 h: Aumento na produção de VEGFA, MMP1, IL-1α (CS a 20 e 30%), TGFα (CS a 30%) para CS e TGFα, IL-1β (HTPA a 30%), MMP1 (HTPA a 30 e 80%), CSF3 (HTPA a 30 e 45%) para HTPA, e diminuição na expressão de CXCL10, IL-6 (CS a 20 e 30%), CSF2 (CS a 30%) para CS e CXCL10 (HTPA a 45 e 80%) para tabaco HTPA. - 72 h: Aumento da expressão de TGFα, MMP1, IL-1β (CS a 20 e 30%), VEGFA (CS a 20%) para CS e MMP1 (HTPA a 80%) para HTPA, e diminuição na expressão de CXCL10,	- Exposição única das culturas celulares ao CS e HTPA, não esclarecendo o impacto da utilização crónica destes dispositivos; - Avaliação genómica realizada ao final de 4, 24, 48 e 72 h da exposição, não permitindo avaliar os efeitos a longo prazo dos produtos de cigarro; - Neste estudo foi utilizado uma linhagem celular de fibroblastos e os efeitos observados do HTPA nos padrões de resposta das células podem diferir em comparação com as células primárias; - O HTPA contém outras substâncias químicas

	IL-6 (CS a 20 e 30%), CSF2 (CS a 30%) para CS e CXCL10 (HTPA a 80%) para HTPA. Alteração do transcriptoma: - 4 h: Expressão alterada de genes associados a apoptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), autofagia (CS a 20 e 30%), necroptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), resposta a dano de ADN (CS a 20 e 30%; HTPA a 30%), senescência celular (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), ciclo celular (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), epigenética (CS a 30%), fator de crescimento (CS a 20 e 30% tabaco; HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização JAK STAT (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização MAPK (CS a 20 e 30%; HTPA a 30 e 80%), recetores nucleares (CS a 20 e 30%), sinalização PGE2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização WNT (CS a 20%; HTPA a 30 e 80%), sinalização NFE2L2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), <i>stress</i> osmótico (CS a 20 e 30%), <i>stress</i> oxidativo (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), resposta do mecanismo xenobiótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), ativação da imunidade inata epitelial (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%) e dano tecidual (CS a 20%; HTPA a 30, 45 e 80%). - 24 h: Expressão alterada de genes associados a apoptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), autofagia (HTPA a 45%), necroptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), resposta a dano de ADN (CS a 30%), senescência celular (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), ciclo celular (HTPA a 45 e 80%), fator de crescimento (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização JAK STAT (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), sinalização MAPK (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), recetores nucleares (HTPA a 45%), sinalização PGE2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 45%), sinalização WNT (CS a 30%; HTPA a 45 e 80%), <i>stress</i> hipóxico (HTPA a 80%), sinalização NFE2L2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), <i>stress</i> osmótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), <i>stress</i> oxidativo (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), resposta do mecanismo xenobiótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), ativação da imunidade inata epitelial (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%) e dano tecidual (CS a 20% ; HTPA a 45 e 80%). - 48 h: Expressão alterada de genes associados a apoptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), necroptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), senescência celular (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), ciclo	preocupantes que normalmente não estão presentes no CS.
--	---	--

	celular (HTPA a 45%), fator de crescimento (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização JAK STAT (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45, 80%), sinalização MAPK (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), recetores nucleares (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45% e 80%), sinalização PGE2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), sinalização WNT (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), <i>stress</i> hipóxico (HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização NFE2L2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), <i>stress</i> osmótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), <i>stress</i> oxidativo (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), resposta do mecanismo xenobiótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), ativação da imunidade inata epitelial (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%) e dano tecidual (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%). - 72 h: Expressão alterada de genes associados a apoptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), necroptose (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), senescência (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), ciclo celular (CS a 20%; HTPA a 45 e 80%), fator de crescimento (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), sinalização JAK STAT (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), sinalização MAPK (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), recetores nucleares (CS a 20 e 30%), sinalização PGE2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), sinalização WNT (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), <i>stress</i> hipóxico (HTPA a 30, 45 e 80%), sinalização NFE2L2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), <i>stress</i> osmótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), <i>stress</i> oxidativo (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), resposta do mecanismo xenobiótico (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), ativação da imunidade inata epitelial (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e dano tecidual (CS a 20, 30% tabaco; HTPA a 80%). Stress Oxidativo: - 4 h: Aumento da expressão de SLC7A11 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), HMOX1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), GCLM (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), GCLC (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), TXNRD1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), NQO1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), GPX2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e NFE2L2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%), e redução da expressão de MT1X (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), SLC40A1 (CS a 20 e 30%), XDH (CS a 30%), CAT (CS a 20 e 30%), ID3 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e MAF (CS a 20, 30%; HTPA a 80%).	
--	---	--

	- 24 h: Aumento da expressão de SLC7A11 (CS a 20 e 30%), HMOX1 (CS a 20 e 30%), GCLM (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), GCLC (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), TXNRD1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), NQO1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30 e 80%), GPX2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e NFE2L2 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de MT1X (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), SLC40A1 (CS a 20 e 30%), XDH (CS a 20 e 30%), CAT (CS a 20 e 30%), GSTA4 (CS a 30%), ID3 (CS a 20%) e MAF (CS a 20 e 30%). - 48 h: Aumento da expressão de SLC7A11 (CS a 20 e 30%), HMOX1 (CS a 20 e 30%), GCLM (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), GCLC (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), TXNRD1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), NQO1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), GPX2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e NFE2L2 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de MT1X (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), SLC40A1 (CS a 20 e 30%), XDH (CS a 20 e 30%), CAT (CS a 30%), GSTA4 (HTPA a 80%), SOD1 (CS a 20 e 30%), ID3 (CS a 20 e 30%) e MAF (CS a 20 e 30%). - 72 h: Aumento da expressão de SLC7A11 (CS a 20 e 30%), HMOX1 (CS a 20 e 30%), GCLM (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), GCLC (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), TXNRD1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), NQO1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e GPX2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de SLC7A11 (HTPA a 80%), MT1X (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), SLC40A1 (CS a 20 e 30%), XDH (CS a 20 e 30%), CAT (CS a 20 e 30%), GSTA4 (CS a 30%; HTPA a 80%), SOD1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), ID3 (CS a 20 e 30%) e MAF (CS a 20 e 30%). Stress xenobiótico: - 4 h: Aumento da expressão de CYP1A1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), CYP1B1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), AKR1C1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), AKR1C2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%) e AKR1C3 (CS a 20 e 30% Tabaco; HTPA a 45 e 80%), e redução da expressão de AKR1B10 (CS a 30%). - 24 h: Aumento da expressão de CYP1A1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CYP1B1 (CS a 20 e 30%; ATA a 80%), AKR1C1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), AKR1C2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e AKR1C3 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de AKR1B10 (CS a 20%). - 48 h: Aumento da expressão de CYP1A1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CYP1B1 (CS a 20	
--	--	--

	e 30%; HTPA a 80%), AKR1C1 (CS a 20 e 30%), AKR1C2 (CS a 20 e 30%) e AKR1C3 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de AKR1B10 (CS a 20%; HTPA a 80%). - 72 h: Aumento da expressão de CYP1A1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CYP1B1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), AKR1C1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), AKR1C2 (CS a 30%; HTPA a 80%) e AKR1C3 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de AKR1B10 (CS a 20%) e POR (CS a 20%). Genes responsáveis por processos inflamatórios: - 4 h: Aumento da expressão de MMP1 (CS a 20 e 30%), IL-1α (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), IL-1β (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), CTGF (CS a 20 e 30%), PTGS2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de CXCL14 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%). - 24 h: Aumento da expressão de MMP1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), IL-1α (CS a 20 e 30%), IL-1β (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), IL-1R2 (CS a 20 e 30%), CTGF (CS a 20 e 30%), PTGS2 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de CXCL14 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%). - 48 h: Aumento da expressão de MMP1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), MMP10 (CS a 20 e 30%; HTPA a 30, 45 e 80%), IL-1α (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), IL-1β (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), IL-1R2 (CS a 20 e 30%), CTGF (CS a 20 e 30%) e PTGS2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de CXCL14 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%). - 72 h: Aumento da expressão de MMP1 (CS a 20 e 30%), MMP10 (CS a 20%), IL-1α (CS a 20 e 30%), IL-1β (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), IL-1R2 (CS a 20 e 30%), CTGF (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e PTGS2 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de CXCL14 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%). Adesão celular: - 4 h: Redução da expressão de CDH1 (CS a 30%), CDH2 (HTPA a 80%), DSC1 (CS a 20%), DSC3 (CS a 20 e 30%), DSG2 (CS a 20 e 30%), NOTCH1 (CS a 20 e 30%) e NOTCH2 (CS a 20 e 30%). - 24 h: Aumento da expressão de CDH4 (CS a 30%), PVRL2 (CS a 20%) e DLL1 (CS a 30%), e redução da expressão de CDH1 (CS a 20 e 30% Tabaco), CDH3 (CS a 20 e 30%), DSC1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSC3 (CS a 20 e 30%), DSG1 (CS a 20 e 30%), DSG2 (CS a 20 e 30%), PVRL4 (CS a 30%), NOTCH1	
--	---	--

	(CS a 20 e 30%) e NOTCH2 (CS a 20 e 30%). - 48 h: Aumento da expressão de CDH4 (CS a 20%), PVRL2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e DLL1 (CS a 30%), e redução da expressão de CDH1 (CS a 20 e 30%), DSC1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSC3 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSG1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSG2 (CS a 20 e 30%), PVRL4 (CS a 30%) e NOTCH1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%). - 72 h: Aumento da expressão de CDH3 (CS a 20%), CDH4 (CS a 30%), PVRL2 (CS a 30%) e DLL1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de CDH1 (CS a 20 e 30%), DSC1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSC2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSC3 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSG1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), DSG2 (CS a 20 e 30%), DSG3 (CS a 20 e 30%), PVRL4 (CS a 20 e 30%), NOTCH1 (CS a 20%) e NOTCH2 (CS a 20 e 30%). Junções de oclusão: - 4 h: Aumento da expressão de CLDN4 (CS a 20 e 30%; HTPA a 45 e 80%) e F11R (CS a 30%), e redução da expressão de CLDN1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e CLDN15 (HTPA a 80%). - 24 h: Aumento da expressão de CLDN4 (CS a 20 e 30%), CLDN7 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CLDN11 (CS a 30%), CLDN12 (CS a 20 e 30%), CLDN15 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CLDN17 (CS a 20%) e F11R (CS a 30%), e redução da expressão de CLDN1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e CLDN15 (CS a 20 e 30%). - 48 h: Aumento da expressão de CLDN4 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CLDN7 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CLDN9 (CS a 30%), CLDN11 (CS a 30%; HTPA a 80%), CLDN12 (CS a 30%), CLDN14 (CS a 30%; HTPA a 80%), CLDN15 (CS a 20 e 30%), CLDN17 (CS a 20 e 30%), ICAM2 (CS a 20 e 30%), ESAM (CS a 30%), JAM2 (CS a 30%), F11R (CS a 20 e 30%) e CRB3 (CS a 20 e 30%), e redução da expressão de CLDN1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CLDN3 (CS a 30%), CLDN8 (CS a 20%) e CLDN16 (CS a 30%). - 72 h: Aumento da expressão de CLDN4 (CS a 30%; HTPA a 80%), CLDN5 (CS a 20 e 30%), CLDN6 (CS a 20%), CLDN7 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), CLDN9 (CS a 20 e 30%), CLDN12 (CS a 20 e 30%), CLDN15 (CS a 20 e 30%), CLDN17 (CS a 20 e 30%), ICAM1 (CS a 20%), ESAM (CS a 20 e 30%) e JAM3 (CS a 30%), e redução da expressão de CLDN1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e CLDN16 (CS a 20	
--	--	--

	e 30%). Status epitelial: - 4 h: Aumento da expressão de IVL (CS a 20%), DEFB1 (CS a 20 e 30%) e KRT17 (CS a 30%), e redução da expressão de KRT15 (CS a 20 e 30%), ITGA6 (CS a 30%), KRT19 (CS a 30%), MUC1 (CS a 20 e 30%), KRT7 (CS a 30%) e KLK7 (CS a 20 e 30%). - 24 h: Aumento da expressão de KRT17 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), FLG (CS a 20%), MAPK14 (CS a 20 e 30%) e DEFB1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de KRT5 (CS a 20 e 30%), KRT14 (CS a 20%), KRT15 (CS a 20 e 30%), ITGA6 (CS a 20 e 30%), KRT19 (CS a 20 e 30%), KRT4 (CS a 20 e 30%), KRT13 (CS a 20 e 30%), MUC1 (CS a 20 e 30%), KRT7 (CS a 30%), KRT1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT76 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT10 (CS a 20 e 30%), KLK7 (CS a 30%) e PCNA (CS a 20%). - 48 h: Aumento da expressão de KRT15 (HTPA a 80%), ITGA6 (HTPA a 80%), KRT19 (CS a 30%), KRT7 (CS a 20%; HTPA a 80%), KRT17 (CS a 20 e 30%), IVL (CS a 20 e 30%), FLG (CS a 20 e 30%), KLK7 (CS a 20 e 30%), KRT16 (CS a 30%), MKI67 (CS a 20%), MAPK14 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e DEFB1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), e redução da expressão de KRT5 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT14 (CS a 20 e 30%), KRT15 (CS a 20 e 30%), KRT4 (CS a 20 e 30%), KRT13 (CS a 30%), MUC1 (CS a 20 e 30%), KRT1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT76 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT10 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%) e PCNA (CS a 20 e 30%). - 72 h: Aumento da expressão de ITGA6 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT19 (CS a 30%; HTPA a 80%), CHGA (CS a 30%), S100A1 (CS a 20%), KRT7 (CS a 20%; HTPA a 80%), KRT17 (CS a 20 e 30%), IVL (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), FLG (CS a 20 e 30%), KLK7 (CS a 20 e 30%), MKI67 (CS a 20 e 30%), MAPK14 (CS a 20 e 30%) e DEFB1 (CS a 30%), e redução da expressão de KRT5 (CS a 20 e 30%), KRT14 (CS a 20 e 30%), KRT15 (CS a 20 e 30%), KRT4 (CS a 20 e 30%), KRT13 (CS a 20 e 30%), MUC1 (CS a 30%), KRT1 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT2 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT76 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT10 (CS a 20 e 30%; HTPA a 80%), KRT16 (CS a 20%) e PCNA (CS a 20 e 30%).	
--	---	--

	Expressão de miRNAs: - Regulação positiva, estatisticamente significativa, de miRNA-3180, -3180-3p (FC a 30%), miRNA-4690-5p, -1275, -642b-3p, -4532, -1207-5p, -375, -1246, -1268 (CS a 20 e 30%), miRNA-1268a (CS a 30%), miRNA-4707-5p, -3196, -3960, -663a, -665, -150-3p, -92b-5p, -4488, -1909-3p, -4745-5p, -4516, -1290, -939-5p, -1202, -1225-5p, -4443, -4484, -885-3p, -572, -4466, -1915-3p, -638, -4787-5p, -4651, -3940-5p, -149-3p, -762, -1908-5p, -1228-5p, -4508 (CS a 20 e 30%) para CS e miRNA-375 (HTPA a 80%) para HTPA. - Regulação negativa, estatisticamente significativa, de miRNA-1224-5p, -99a-5p, -149-5p, -3682-3p, -188-5p, -296-3p, -4521 (CS a 20 e 30%) para CS e miRNA-4521 (HTPA a 80%) para HTPA.	
Zanetti, F. et al. (2017) (35)	Alteração do transcriptoma: - Expressão alterada de genes associados a apoptose, autofagia, necroptose, senescência celular, ciclo celular, fator de crescimento, sinalização JAK STAT, sinalização MAPK, sinalização NFE2L2, stress osmótico e oxidativo, resposta ao metabolismo de xenobióticos, ativação da imunidade inata epitelial, dano tecidual (CS a 25 e 35%; HTPA a 100%), recetores nucleares (CS a 25 e 35%; HTPA a 100%), sinalização Wnt (CS a 25 e 35%; HTPA a 75%), stress hipóxico, sinalização PGE2, sistemas de cálcio (CS a 35%), stress do retículo endoplasmático, sinalização Hedgehog (CS a 25 e 35%). Resposta a stress oxidativo: - Aumento da expressão de ABCC1, ATOX1, CAT, FES, FTL, G6PD, GCLC, GCLM, GPX3, HMOX2, JUNB, MGST1, NQO1, OXSR1, PRDX1, SRXN1, TXNRD1 (CS e HTPA), CDKN2D, ERCC2, HHEX, MBP, NUDFB4 (CS), VIMP, SBNO2 (HTPA); e redução da expressão de NUDFA6, NUDFS2, PRDX2/4, SOD1/2, STK25, TXNRD2, LAMTOR5, LSP1 (CS e HTPA), GLRX2, GSR, PDLIM1, PFKP, PRDX6, PRNP, SCAF4 (CS). mRNAs de genes alvo da resposta a stress oxidativo: - Aumento da expressão de EIF2AK3, RPS6KA2, CREB1, PRKCE, GGH, ATG13 (CS e HTPA), NOS1, ARNT, H2AFX, IL-13 (CS); e redução da expressão de H3F3B, GPX4, MAF, FGFR2, LAMP2, MDM2 (CS e HTPA).	- Exposição única das culturas celulares CS e HTPA, não esclarecendo o impacto da utilização crónica destes dispositivos; - Avaliação genómica realizada ao final de 4 h da exposição, não permitindo avaliar os efeitos a longo prazo de HTPA; - Neste estudo foi utilizado uma linhagem celular de fibroblastos e os efeitos observados do HTPA nos padrões de resposta das células podem diferir em comparação com as células primárias; - O HTPA contém outras substâncias químicas preocupantes que normalmente não estão presentes no CS.

	Metabolismo xenobiótico: - Aumento da expressão de AHRR, AKR1C1/1C2/1C3, CYP1A1/1B1, POR, TIPARP (CS e HTPA), AHR, ALDH3A1 (HTPA); e redução da expressão de ALDG3A1 (CS). mRNAs de genes alvo do metabolismo xenobiótico: - Aumento da expressão de EIF2AK3, PRKCE (CS e HTPA), APAF1 (CS); e redução da expressão de NFIB, MDM2, PPP2R2B, FGFR2 (CS e HTPA) e IRS1 (CS). Resposta inflamatória: - Aumento da expressão de CHI3L1, CSF2, CTGF, IL-1α/β, IL-1R2, IL-24, IL-6, JUN, MMP1/3/10, NFKBIA, PLAUR, PTGS2, SERPINB2, THRB, TIMP1 (CS e HTPA), ALOX15, CCL26, CSF3, CXCL10, EGF1, MMP2, VEGFA (CS); e redução da expressão de CXCL14 (CS e HTPA). mRNAs de genes alvo de resposta inflamatória: - Aumento da expressão de PRKCE, RAC2 (CS e HTPA), IL6ST, GNG13, ACTN2, MADD, ARNT, CD40LG, CD4, BRAF, APAF1 (CS); e redução da expressão de IGF1R, DOCK1, EIF2B3, CCND2, FGFR2 (CS e HTPA), IRS1, TRAF3, BMPR2, IQGAP1 (CS). Status epitelial: - Aumento da expressão de DEFB1, FLG, IVL, KRT17, MAPK14, PHLDA1 (CS e HTPA), CHGA, KRT2/76, S100A1 (CS); e redução da expressão de KRT1/5/10/13/14/15/19, MKI67, CCND1, PCNA (CS e HTPA), ITGA6, COL1A1 (CS). Adesão celular: - Aumento da expressão de MAPK8, JUN, CDH2/4 (CS e HTPA), CDH5, DSC2, PVRL2 (CS); e redução da expressão de CDH1/3, DSC1/3, DSG1, NOTCH1 (CS e HTPA), PVRL2, NOTCH2/3, DSG2/3, CDH3 (CS). Junções de oclusão: - Aumento da expressão de CLDN4/11/12/17, ICAM1, TJP1 (CS e HTPAA), CLDN3/5/6/9/10/15, CRB3, ESAM, IGSF5, JAM2, PECAM1 (CS); e redução da expressão de CLDN1, F11R (CS e HTPA).	
--	---	--

	Expressão de miRNAs: - 24 h: Aumento da expressão de: miRNAs - 149-3p, -4454, -762, -1343-5p, -150-3p, -92b-5p, -572, -292b-5p, -4734, -4707-5p, -4707-5p, -1908-5p, -1275, -4634, -4651, -1207-5p, -3473b, -3937, -29b-1-5p, -4676-5p, -3648, -320b, -4690-5p, -665, -2861, -375-3p, -3187-3p, -194-5p, -4508, -4508, -4508, -658, -224-5p, -324-5p, -24-1-5p (CS); miRNA-4530, -4443, -4443, -642a-3p (CS e HTPA); Redução da expressão de: miRNA-30c-5p, -342-3p, -423-3p, -4710, -125b-5p, -3935 (CS); miRNA-23a-5p (HTPA); miRNA-296-3p, -4669, -4669, -4669, -3682-3p, -3682-3p, -4462, -4459, -1268a, -1302, -617, -1306-3p, -193a-5p, -4521, -1224-5p, -3613-5p, -4750-5p (CS e HTPA).	
Zanetti, F. et al. (2018) (36)	Alteração do transcriptoma: Células bucais: Aumento da expressão de genes associados a senescência celular, necroptose, apoptose, sinalização WNT, sinalização PGE2, sinalização MAPK, sinalização JAK STAT, fator de crescimento, ciclo celular, resposta de metabolismo xenobiótico, <i>stress</i> oxidativo, <i>stress</i> osmótico, sinalização NFE2L2, <i>stress</i> hipóxico, dano tecidual, ativação da imunidade inata epitelial (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%), recetores nucleares (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), resposta a dano a ADN, autofagia, epigenética, <i>stress</i> do retículo endoplasmático (CS a 25 e 45%). Células gengivais: Aumento da expressão de genes associados a senescência celular, necroptose, apoptose, sinalização WNT, sinalização PGE2, sinalização MAPK, sinalização JAK STAT, fator de crescimento, ciclo celular, resposta de metabolismo xenobiótico, <i>stress</i> oxidativo, <i>stress</i> osmótico, sinalização NFE2L2, <i>stress</i> hipóxico, dano tecidual, ativação da imunidade inata epitelial (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), recetores nucleares, resposta de dano a ADN, autofagia, epigenética, sinalização Hedgehog, <i>stress</i> do retículo endoplasmático e sistemas de cálcio (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%). Mediadores inflamatórios: Células bucais: Aumento da expressão de PLAUR (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), EGR1 (CS a 25 e 45%), TGFB1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), CHST2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e	- Exposição única das culturas celulares a CS e HTPA, não esclarecendo o impacto da utilização crónica destes dispositivos; - Avaliação genómica realizada ao final de 4 h da exposição, não permitindo avaliar os efeitos a longo prazo de HTPA; - Neste estudo foi utilizado uma linhagem celular de fibroblastos e os efeitos observados de HTPA nos padrões de resposta das células podem diferir em comparação com as células primárias; - O HTPA contém outras substâncias químicas preocupantes que normalmente não estão presentes no CS.

	100%), CTGF (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%), MMP3 (CS a 25 e 45%), IL-1R2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%), MMP10 (CS a 25%; HTPA a 75 e 100%), PTGS2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), VEGFA (CS a 25 e 45%), MMP9 (CS a 75 e 100%), MMP1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), IL-1β (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%), IL-1α (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%) e TGFA (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%); e redução da expressão de CXCL14 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), MMP9 (CS a 25 e 45%), CXCL10 (CS a 25 e 45%), CXCL8 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%) e CXCL1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%). Células gengivais: Aumento da expressão de PLAUR (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), EGR1 (CS a 20%; HTPA a 100%), TGFB1 (CS a 20%; HTPA a 100%), CHST2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), CTGF (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), MMP3 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), IL-1R2 (CS a 10 e 20% Tabaco; HTPA a 100%), MMP10 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), PTGS2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), VEGFA (CS a 10 e 20%), MMP9 (HTPA a 100%), MMP1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), CXCL8 (CS a 10 e 20%), IL-1β (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), IL-1α (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), CXCL1 (CS a 20%), CSF2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%) e TGFA (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%); e redução da expressão de CTGF (HTPA a 25 e 50%), VEGFA (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CCL5 (CS a 10 e 20%), CXCL14 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), MMP9 (CS a 10 e 20%) e CXCL8 (HTPA a 50 e 100%). Stress oxidativo: Células bucais: Aumento da expressão de GPX2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), NQO1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), SRXN1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), GCLC (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), NCF2 (CS a 25 e 45%), TXNRD1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%), GCLM (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), SLC7A11 (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%) e HMOX1 (CS a 25 e 45% Tabaco; HTPA a 40, 75 e 100%); e redução da expressão de MT1X (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%).	
--	--	--

	Células gengivais: Aumento da expressão de GPX2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), NQO1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), SRXN1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), GCLC (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), NCF2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), TXNRD1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), GCLM (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), SLC7A11 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%) e HMOX1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%); e redução da expressão de MT1X (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%). Stress xenobiótico: Células bucais: Aumento da expressão de AKR1C3 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), AKR1C2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), ALDH3A1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), AKR1C1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), NQO1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), ALDH1A3 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), CYP1A1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%) e CYP1B1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 40, 75 e 100%); e redução da expressão de CYP4B1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%) e ADH7 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%). Células gengivais: Aumento da expressão de AKR1C3 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), AKR1C2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), ALDH3A1 (CS a 10%; HTPA a 50 e 100%), AKR1C1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), NQO1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%), ALDH1A3 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CYP1A1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%) e CYP1B1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 25, 50 e 100%); e redução da expressão de CYP4B1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%) e ADH7 (CS a 10 e 20%). Adesão celular: Células bucais: Aumento da expressão de JUN (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%) e CDSN (CS a 25 e 45%); e redução da expressão de DSC3 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), VANG2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), CD47 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), DSG2 (CS a 25 e 45%), CRNN (CS a 25 e 45%), DSC1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), ROBO1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%) e ANXA9 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%).	
--	--	--

	Células gengivais: Aumento da expressão de JUN (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CDSN (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%) e DSG2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%); e redução da expressão de DSC3 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), VANG2 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CD47 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CRNN (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), DSC1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), ROBO1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%) e ANXA9 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%). Junções de oclusão: Células bucais: Aumento da expressão de CLDN12 (CS a 25 e 45%), TJP (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), CLDN7 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), CLDN14 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%), ACTN1 (CS a 25 e 45%), CLDN17 (CS a 25 e 45%), SHROOM3 (CS a 25%; HTPA a 75 e 100%) e EPB41L4 (CS a 25%; HTPA a 75 e 100%); e redução da expressão de SHROOM3 (CS a 40%), EPB41L4 (CS a 40%), CLDN1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%) e PPP2R2B (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%). Células gengivais: Aumento da expressão de CLDN12 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), TJP (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CLDN7 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CLDN14 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), ACTN1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), CLDN17 (CS a 10 e 20%), SHROOM3 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%) e EPB41L4 (CS a 10%; HTPA a 100%); e redução da expressão de EPB41L4 (CS a 20%), CLDN1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%) e PPP2R2B (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%). Queratinização: Células bucais: Aumento da expressão de KRT17 (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%), DEFB1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%), FLG (CS a 25 e 45%) e PHLA1 (CS a 25%; HTPA a 75 e 100%); e redução da expressão de KRT13 (CS a 25 e 45%), KRT19 (CS a 25 e 45%), KRT15 (CS a 25 e 45%), CCND1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%), KRT2 (CS a 25 e 45%; HTPA a 100%) e KRT1 (CS a 25 e 45%; HTPA a 75 e 100%).	
--	---	--

	Células gengivais: Aumento da expressão de KRT19 (CS a 20%), KRT15 (CS a 20%), CCND1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 100%), KRT17 (CS a 10 e 20%), DEFB1 (CS a 10%; HTPA a 50 e 100%), FLG (CS a 10%; HTPA a 100), PHLDA1 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%) e KRT2 (CS a 10%); e redução da expressão de KRT13 (CS a 10%; HTPA a 50 e 100%), KRT19 (CS a 10 e 20%; HTPA a 50 e 100%), KRT15 (CS a 10%), DEFB1 (CS a 20%), FLG (CS a 20%), KRT2 (CS a 20%; HTPA a 100%) e KRT1 (CS a 20%; HTPA a 100%). Expressão de miRNAs: Células bucais: - 4 h: Aumento da expressão de 70 genes e redução da expressão de 5 para CS a 25%; 85 genes apresentaram aumento de expressão e 25 redução para CS a 45%; e 4 genes apresentaram aumento de expressão para HTPA a 100%. - 24 h: Aumento da expressão de 22 genes e redução da expressão de 8 para CS a 25%; 14 genes apresentaram aumento de expressão e 12 redução para CS a 45%; e 1 gene apresentou aumento de expressão para HTPA a 40%. - 48 h: Aumento da expressão de 75 genes e redução da expressão de 21 para CS a 25%; 111 genes apresentaram aumento de expressão e 44 redução para CS a 45%. - 78 h: Aumento da expressão de 145 genes e redução da expressão de 51 para CS a 25%; 181 genes apresentaram aumento de expressão e 84 redução para CS a 45%. Células gengivais: - 4 h: Aumento da expressão de 2 genes para CS a 10%; 119 genes apresentaram aumento de expressão e 24 redução para CS a 20%; 1 gene apresentou aumento de expressão para HTPA a 50%; 1 gene apresentou aumento de expressão e 1 redução para HTPA a 100%. - 24 h: Aumento da expressão de 103 genes e redução da expressão de 31 para CS a 10%; 192 genes apresentaram aumento de expressão e 72 redução para CS a 20%; 108 genes apresentaram aumento de expressão e 21 redução para HTPA a 100%. - 48 h: Aumento da expressão de 136 genes e redução da expressão de 36 para HTPA a 10%; 187 genes apresentaram aumento de expressão e 56 redução para CS a 20%; 129 genes apresentaram aumento de expressão e 16 redução para HTPA a 100%.	
--	--	--

Pagano, S. <i>et al.</i> (2021) (15)	Fibroblastos: - Aumento de p53 em 2x (100%) e 3,6x (6,25%) - Redução de BCL2 em 2x (100%) e 5x (6,25%) - Expressão de p16 semelhante ao controlo - Redução de p21 em 2x (100% e 6,25%) Queratinócitos: - Redução de p53 em 2x (100%) e 5x (6,25%) - Aumento da BCL2 em 4x (100%) e 3x (6,25%) - Expressão de p16 semelhante ao controlo - Expressão de p21 semelhante ao controlo	- Impacto individual dos diferentes componentes do HTPA não estudado; - Exposição das culturas celulares a HTPA e CS curta (24 h), não esclarecendo o impacto da utilização crónica destes dispositivos.
Uehara, O. <i>et al.</i> (2023) (18)	HTP: - Aumento da expressão de 2x ou mais em 284 genes (CRISP3, NCCRP1, KRT13, KLK12, S100A7, PI3, KLK11, IL36RN, SPINK7) e redução de 2x ou mais em 145 genes (KIF18B, H2BW3P, PTGFR, RRN3, UBE2C e GGNBP2) 7 principais processos biológicos afetados: - Cornificação (aumento da expressão de 70 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e PI3) - Queratinização (aumento da expressão de 84 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e PI3) - Desenvolvimento epidérmico (aumento da expressão de 279 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e S100A7) - Diferenciação celular epidérmica (aumento da expressão de 196 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e S100A7) - Desenvolvimento de pele (aumento da expressão de 249 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e S100A7) - Diferenciação de queratinócitos (aumento da expressão de 155 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e S100A7) - Diferenciação celular epitelial (aumento da expressão de 498 genes, destacando-se KRT13, KLK12 e S100A7) - Destaca-se o papel de KRT13, KLK12 e S100A7 nestes processos biológicos Metilação de ADN: - 158 genes apresentaram hipermetilação superior a duas vezes ao controlo (RAB6B, MRFAP1L1, RTN1, TDRP, RCC2, RASGEF1A, CWF19L1, AIFM2, PRELID3B e UNKL). - 171 genes apresentaram hipometilação superior a duas vezes ao controlo (RNF38, TOR1B, CDC42BPG, ZNF774, TBL2, NINL, MINCR, MYORG, TMEM185A e RPS19BP1). - Diferenças na metilação de ADN não estão correlacionadas com os níveis de expressão	- Impacto individual dos diferentes componentes do HTPA não estudado; - Grande parte do estudo incidiu sobre os genes KRT13, KLK12 e S100A7, devido à sua expressão aumentada. Este facto não exclui, no entanto, a possibilidade de outros genes terem um impacto superior na mucosa oral.

	de genes - KRT13, KLK12 e S100A7 apresentaram níveis de metilação de ADN semelhantes ao controlo.	
Doya, K. <i>et al.</i> (2025) (21)	CS: - Expressão de ITGA3 semelhante ao controlo - Expressão de ITGB1 semelhante ao controlo - Expressão de FN1 semelhante ao controlo - Aumento da MMP1 em 18x em relação ao controlo - Aumento da MMP3 em 4x em relação ao controlo HTPA: - Expressão de ITGA3 semelhante ao controlo - Expressão de ITGB1 semelhante ao controlo - Expressão de FN1 semelhante ao controlo - Aumento da MMP1 em 10x em relação ao controlo - Aumento da MMP3 em 4x em relação ao controlo	- Exposição das culturas celulares curta (24 h), não esclarecendo o impacto da utilização crónica destes dispositivos; - Neste estudo foi utilizado uma linhagem celular de fibroblastos e os efeitos observados do HTPA nos padrões de resposta das células podem diferir em comparação com as células primárias; - O HTPA contém outras substâncias químicas preocupantes que normalmente não estão presentes no CS.

ABCC1, Transportador cassete de ligação ao ATP subfamília C membro 1; ACTN2, Alfa-actinina-2; ADN / DNA, Ácido desoxirribonucleico; ARN / RNA, Ácido ribonucleico; AHRR, Repressor do recetor de hidrocarboneto de arilo; AKR1B10, Membro B10 da família 1 da aldo-ceto redutase; AKR1C1, Membro C1 da família 1 da aldo-ceto redutase; AKR1C2, Membro C2 da família 1 da aldo-ceto redutase; AKR1C3, Membro C3 da família 1 da aldo-ceto redutase; ALDH3A1, Membro A1 da família 3 da aldeído desidrogenase; ALOX15, Araquidonato 15-lipoxigenase; ANXA9, Anexina A9; APAF1, Fator 1 de ativação de peptidases apoptóticas; ARNT, Translocador nuclear do recetor de hidrocarbonetos de arilo; ATG13, Proteína 13 relacionada com a autofagia; ATOX1, Chaperona de cobre antioxidante 1; BCL2, Proteína 2 do linfoma de células B; BMPR2, Recetor do tipo 2 da proteína morfogenética óssea; BRAF, Proto-oncogene B-Raf; CAT, Catalase; CCL26, Ligante 26 da quimiocina motivo C-C; CCND2, Ciclina D2; CD4, Grupo de diferenciação 4; CD40LG, Gene do ligante CD40; CDH1, Caderina-E / Caderina 1; CDH2, Caderina-2; CDH3, Caderina 3; CDH4, Caderina-4; CDH5, Caderina 5; CDKN2D, Inibidor da cinase dependente de ciclina 2A; CSF2, Fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos; CSF3, Fator estimulador de colónias de granulócitos; CHGA, Cromogranina A; CHI3L1, Quitinase 3-like 1; CLDN1, Claudina 1; CLDN3, Claudina 3; CLDN4, Claudina 4; CLDN5, Claudina 5; CLDN7, Claudina 7; CLDN9, Claudina 9; CLDN11, Claudina 11; CLDN12, Claudina 12; CLDN14, Claudina 14; CLDN15, Claudina 15; CLDN16, Claudina 16; CLDN17, Claudina 17; COL1A1, Colagénio tipo I alfa 1; CRB3, Membro 3 da família Crumbs; CREB1, Proteína 1 de ligação ao elemento de resposta ao AMPc; CRISP3, Proteína secretora rica em cisteína 3; CRNN, Cornulina; CS, Fumo de cigarro (cigarette smoke); CTGF, Fator de crescimento do tecido conjuntivo; CXCL1, Ligante 1 de quimiocina do motivo C-X-C; CXCL8, Ligante 8 de quimiocina do motivo C-X-C; CXCL10, Ligante 10 de quimiocina do motivo C-X-C; CXCL14, Ligante 14 de quimiocina do motivo C-X-C; CYP1A1, Citocromo P450 família 1 subfamília A polipeptídeo 1; CYP1B1, Citocromo P450 família 1 subfamília B polipeptídeo 1; DEFB1, Beta-defensina; DLL1, Ligando canónico Notch Delta-like 1; DOCK1, Proteína dedicadora da citocinese 1; DSC1, Desmocolina 1; DSC2, Desmocolina 2; DSC3, Desmocolina 3; DSG1, Desmogleína 1; DSG2, Desmogleína 2; DSG3, Desmogleína 3; EGF, Fator de crescimento epidérmico; EGR1, Proteína de resposta precoce ao crescimento 1; EIF2AK3, Cinase 3 do fator 2 alfa de iniciação da tradução eucariótica; EIF2B3, Subunidade gama do fator de iniciação da tradução eucariótica 2B; EPB41L4, Proteína tipo banda 4.1 da membrana eritrocitária 4; ERCC2, Proteína de reparação por excisão complementar cruzada 2; ESAM, Molécula de adesão seletiva de células endoteliais; F11R, Recetor F11; FES, Proto-oncogene FES; FGFR2, Recetor 2 do fator de crescimento de fibroblastos; FLG, Filagrina; FN1, Fibronectina 1; FTL, Cadeia leve da ferritina; G6PD, Glicose-6-fosfato desidrogenase; GCLC, Subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase; GCLM, Subunidade reguladora da glutamato-cisteína ligase; GGH, Gama-glutamil hidrolase; GGNBP2, Proteína 2 de ligação à gametogenetina; GLRX2, Glutaredoxina 2; GNG13, Subunidade gama 13 da proteína G; GPX2, Glutathione peroxidase 2; GPX3, Glutathione peroxidase 3; GPX4, Glutathione peroxidase 4; GSR, Glutathione redutase; GSTA4, Glutathione S-transferase alfa 4; h, Hora; H2AFX, Histona H2A.X; H2BW3P, Pseudogene 3 da histona H2B.W; H3F3B, Histona H3.3B; HHEX, Hematopoietically expressed homeobox;

HMOX1, Heme oxigenase 1; HMOX2, Heme oxigenase 2; HTP, Produto de tabaco aquecido; HTPA, Aerosol de tabaco aquecido; ICAM1, Molécula de adesão intercelular 1; ICAM2, Molécula de adesão intercelular 2; ID3, Inibidor de ligação ao ADN 3; IGF1R, Recetor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; IL-1 α , Interleucina 1 alfa; IL-1 β , Interleucina 1 beta; IL-1R2, Recetor do tipo 2 da interleucina-1; IL-6, Interleucina 6; IL-13, Interleucina 13; IL-24, Interleucina 24; IL6ST, Transdutor de sinal da família de citocinas da interleucina 6; IQGAP1, Proteína ativadora de GTPase contendo motivo IQ 1; IRS1, Substrato 1 do recetor de insulina; ITGA3, Subunidade 3 da integrina alfa; ITGA6, Subunidade alfa 6 da integrina; ITGB1, Subunidade 1 da integrina beta; IVL, Involucrina; JAK/STAT, Janus cinase/transdutor de sinal e ativador da transcrição; JAM2, Molécula de adesão juncional 2; JAM3, Molécula de adesão juncional 3; JUN, Proto-oncogene JUN; JUNB, Proto-oncogene JunB; KIF18B, Membro 18B da família da cinesina; KLK11, Peptidase 11 relacionada à calicreína; KLK12, Peptidase 12 relacionada à calicreína; KLK7, Calicreína tecidual 7; KRT1, Queratina 1; KRT2, Queratina 2; KRT4, Queratina 4; KRT5, Queratina 5; KRT7, Queratina 7; KRT10, Queratina 10; KRT13, Queratina 13; KRT14, Queratina 14; KRT15, Queratina 15; KRT16, Queratina 16; KRT17, Queratina 17; KRT19, Queratina 19; KRT76, Queratina 76; LAMTOR5, Adaptador endossomal/lisossomal tardio e ativador de MAPK e mTOR 5; LSP1, Proteína 1 específica de linfócitos; MAF, Fator de transcrição MAF; MADD, MAP kinase-activating death domain; MAPK, Proteína cinase ativada por mitógenos; MAPK14, Proteína cinase 14 ativada por mitogénio; MAPK8, Cinase 8 ativada por mitógenos; MBP, Proteína básica da mielina; MDM2, Proto-oncogene MDM2; MGST1, Glutathione S-transferase microsomal 1; miRNA, Micro RNA; MKI67, Marcador de proliferação Ki-67; MMP1, Metaloproteinase 1; MMP2, Metaloproteinase 2; MMP3, Metaloproteinase 3; MMP9, Metaloproteinase 9; MMP10, Metaloproteinase 10; mRNA, RNA mensageiro; MT1X, Metalotioneína 1X; MUC1, Mucina-1; NCCRP1, Proteína 1 do recetor de células citotóxicas não específicas; NFE2L2, Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2; NFIB, Fator nuclear I/B; NFKBIA, Inibidor alfa do fator nuclear kappa B; NOS1, Óxido nítrico sintase 1; NOTCH1, Gene NOTCH1; NOTCH2, Gene NOTCH2; NQO1, Quinona 1; NDUFA6, Subunidade A6 da oxidoredutase NADH:ubiquinona; NDUFB4, Subunidade B4 da oxidoredutase NADH:ubiquinona; NDUFS2, Subunidade S2 da oxidoredutase NADH:ubiquinona; OXSR1, Quinase 1 de resposta ao stress oxidativo; PCNA, Antígeno nuclear de proliferação celular; PDLIM1, Proteína com domínios PDZ e LIM 1; PECAM1, Molécula de adesão celular endotelial plaquetária; PFKF, Fosfofrutoquinase do tipo plaquetário; PHLDA1, Membro 1 da família A com domínio semelhante à homologia de pleckstrina; PI3, Elafina / Inibidor de peptidase 3; PLAUR, Recetor do ativador de plasminogénio do tipo uroquinase; POR, Citocromo P450 oxidoredutase; PRDX1, Peroxirredoxina 1; PRDX2, Peroxirredoxina 2; PRDX4, Peroxirredoxina 4; PRDX6, Peroxirredoxina 6; PRKCE, Gene da proteína quinase C épsilon; PRNP, Gene da proteína priónica; PTGFR, Recetor de prostaglandina F; PTGS2, Prostaglandina-endoperoxído sintase 2; PVRL2, Nectina-2 / poliovírus receptor-related 2; PVRL4, Nectina-4; RAB6B, Pequena GTPase RAB6B / membro da família de oncogenes RAS; RAC2, Pequena GTPase 2 da família RAC; ROBO1, Recetor 1 de orientação roundabout; RPS6KA2, Cinase A2 da proteína ribossómica S6; RRN3, Fator 3 de transcrição do RNA ribossómico; RTN1, Reticulono-1; S100A1, Proteína S100 de união de cálcio A1; S100A7, Psoriasina; SBNO2, Homólogo 2 de strawberry notch; SCAF4, Fator 4 associado ao CTD relacionado com SR; SERPINB2, Inibidor do ativador de plasminogénio 2 / Membro 2 da família B de serpinas; SHROOM3, Shroom family member 3; SLC7A11, Membro 11 da família 7 de transportadores de solutos; SLC40A1, Membro 1 da família 40 de transportadores de soluto; SOD1, Superóxido dismutase 1; SOD2, Superóxido dismutase 2; SPINK7, Inibidor de serina peptidase tipo Kazal 7; SRXN1, Sulfiredoxina 1; STK25, Quinase 25 de serina/treonina; TGF α , Fator de crescimento transformador alfa; THRB, Recetor beta da hormona tiroideia; TIMP1, Inibidor da metaloproteinase 1 do tecido / Inibidor tecidual de metaloproteinase 1; TIPARP, Poli(ADP-ribose) polimerase induzível por TCDD; TJP1, Proteína 1 de junção estreita; TRAF3, Fator 3 associado ao recetor de TNF; TXNRD1, Tiorredoxina redutase 1; TXNRD2, Tiorredoxina redutase 12; UBE2C, Enzima E2 C de conjugação da ubiquitina; VANGL2, Proteína 2 VANGL da polaridade celular planar; VEGFA, Fator de crescimento endotelial vascular A; VIMP, Selenoproteína S; WNT, Via de sinalização Wnt / proteínas Wnt; XDH, Xantina desidrogenase.

Analisando de forma objetiva os diferentes estudos (15, 18, 21, 34-36) verifica-se que:

- são todos estudos *in vitro* e analisam células de origem oral (incluindo células epiteliais orais, fibroblastos e queratinócitos gengivais, bem como modelos de cultura organotípica do epitélio oral);
- a metodologia laboratorial consistiu, de um modo geral, na exposição das culturas celulares a concentrações variáveis

HTPA e na sua comparação com um grupo de controlo, podendo incluir também um grupo exposto a fumo de cigarro (CS). A avaliação dessas culturas apresentou um intervalo de tempo máximo variável entre os estudos (72 horas (h) para Zanetti, F. *et al.* (2016) (34) e Zanetti, F. *et al.* (2018) (36); 24 h para Zanetti, F. *et al.* (2017) (35), Pagano, S. *et al.* (2021) (15) e Doya, K. *et al.* (2025) (21); 1 mês para Uehara, O. *et al.* (2023) (18);

- os objetivos destes estudos passaram principalmente por avaliar o impacto biológico geral da exposição a HTP nos tecidos orais (Zanetti, F. *et al.* (2016) (34), Zanetti, F. *et al.* (2017) (35), Zanetti, F. *et al.* (2018) (36) e Uehara, O. *et al.* (2023) (18)) e avaliar os efeitos da exposição a HTP em células específicas orais (fibroblastos e queratinócitos em Pagano, S. *et al.* (2021) (15) e fibroblastos em Doya, K. *et al.* (2025) (21);
- os parâmetros genómicos e proteómicos avaliados foram bastante variáveis entre os estudos. Zanetti, F. *et al.* (2016) (34), Zanetti, F. *et al.* (2017) (35), Zanetti, F. *et al.* (2018) (36) e Uehara, O. *et al.* (2023) (18) realizaram um mapeamento dos genes e/ou proteínas diferencialmente expressos, enquanto Pagano, S. *et al.* (2021) (15) e Doya, K. *et al.* (2025) (21) avaliaram genes e proteínas previamente associados à exposição ao CS e com potencial impacto periodontal, verificando se tecidos expostos a HTPA apresentavam uma resposta semelhante;
- os genes e proteínas sobrepostos entre os diferentes estudos tiveram, de um modo geral, comportamentos semelhantes, com exceção do gene queratina 13 (KRT13). Isto deve-se provavelmente ao facto de as medições terem sido realizadas em tempos distintos: Zanetti, F. *et al.* (2016) (34), Zanetti, F. *et al.* (2017) (35) e Zanetti F. *et al.* (2018) (36) realizaram a medição após um máximo de 72 h, enquanto Uehara, O. *et al.* (2023) (18) realizaram a medição após um mês;
- as limitações referidas em cada um dos estudos são sobreponíveis, consistindo essencialmente no tempo reduzido de exposição das culturas a HTPA, na utilização de culturas celulares que não reproduzem integralmente a complexidade dos tecidos e das condições orais *in vivo*, e na ausência de avaliação de biomarcadores específicos para a doença periodontal;
- deve ainda destacar-se que a proximidade metodológica entre os estudos de Zanetti, F. *et al.* (2016) (34), Zanetti, F. *et al.* (2017) (35) e Zanetti F. *et al.* (2018) (36) pode ser explicada pelo facto de os três estudos pertencerem ao

mesmo grupo de investigação, o que limita a heterogeneidade metodológica e a independência da evidência disponível.

DISCUSSÃO

Relativamente aos mediadores inflamatórios, foram identificadas diversas alterações transcriptômicas associadas à exposição ao HTPA.

Marcadores como a metaloproteinase 1 (MMP1), a metaloproteinase 3 (MMP3) e a metaloproteinase 9 (MMP9), envolvidos na remodelação da matriz extracelular dos tecidos periodontais, e a interleucina 1 beta (IL-1 β), a interleucina 1 alfa (IL-1 α) e o recetor tipo 2 da interleucina 1 (IL-1R2), associados à regulação da resposta inflamatória, encontravam-se sobre expressos nos tecidos expostos a HTPA, enquanto o ligante 14 de quimiocina do motivo C-X-C (CXCL14), uma quimiocina envolvida na homeostase tecidular e em processos associados à proliferação e diferenciação osteogénica de células do ligamento periodontal, apresentava-se sub-expressa nos mesmos tecidos. Estas proteínas constituem alguns dos principais biomarcadores da patologia periodontal, e a alteração da sua expressão está frequentemente associada ao desenvolvimento e progressão da periodontite (37-41). É de destacar também o aumento da expressão da prostaglandina-endoperoxídeo sintase 2 (PTGS2), associado à maior produção de prostaglandinas e, conseqüentemente, à promoção da degradação do colagénio e da reabsorção óssea, culminando no desenvolvimento e/ ou progressão da periodontite (42).

Para além destes biomarcadores, cuja influência relativamente à doença periodontal está mais amplamente descrita, foram detetadas diversas outras alterações com papel de regulação inflamatória, embora a sua influência nesta patologia não esteja tão criteriosamente analisada. Observou-se, então, uma sobre expressão de proteínas como o fator de crescimento endotelial vascular A (VEGFA), com papel angiogénico, essencial no mecanismo de cicatrização gengival e periodontal (43), o fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF), responsável por processos de regeneração e remodelação do tecido conjuntivo periodontal (44), o recetor do ativador de plasminogénio do tipo uroquinase (PLAUR), responsável pela remodelação e regeneração tecidular (45), a SERPINB2, uma proteína anti-inflamatória e inibidora de proteases de patogénios periodontais (46) e o inibidor da metaloproteinase 1 do tecido / Inibidor tecidual de metaloproteinase 1 (TIMP1), uma proteína fundamental na regulação da destruição e regeneração dos tecidos, pela sua ação reguladora da metaloproteinases (37), bem como uma sub-expressão do ligante 10 de quimiocina do motivo C-X-C (CXCL10), uma citocina com papel inibitório parcial da proliferação e diferenciação dos osteoblastos, mas com possibilidade de promover processos inflamatórios (47). No entanto, a desregulação da expressão destas proteínas deve ser interpretada de forma cautelosa, podendo refletir uma resposta adaptativa de remodelação, reparação e controlo da inflamação, podendo funcionar como uma resposta adaptativa face a mediadores promotores de inflamação e degradação da matriz extracelular, como as descritas anteriormente (43-45, 47).

À semelhança do impacto ao nível dos mediadores inflamatórios, o HTPA também apresenta impacto em genes associados ao *stress* celular.

No que diz respeito ao aumento de expressão gênica e proteômica, verificou-se a sobre expressão de genes como: o membro 11 da família 7 de transportadores de solutos (SLC7A11), que codifica uma proteína envolvida no transporte de cistina e na regulação do equilíbrio redox celular, podendo a sua alteração refletir uma resposta adaptativa ao stress oxidativo e à modulação da ferroptose, com possível impacto na regeneração periodontal(48, 49); (48, 49); a Heme oxigenase 1 (HMOX1), que codifica uma proteína que atua como uma enzima antioxidante com função neutralizante de espécies reativas de oxigênio, e que, quando expressa em elevada quantidade ou de forma persistente, pode provocar citotoxicidade celular pela acumulação de produtos de degradação do grupo heme, nomeadamente ferro livre, agravando a patologia periodontal (50); o Membro A1 da família 3 da aldeído desidrogenase (ALDH3A1), que codifica uma proteína com papel antioxidante e de detoxificação de aldeídos reativos, cuja sobre expressão pode representar uma resposta adaptativa ao stress oxidativo e xenobiótico, embora a persistência desta resposta possa refletir agressão celular continuada (51).

Já em relação à diminuição da expressão gênica, identificaram-se genes como: O membro 1 da família 40 de transportadores de soluto (SLC40A1), o único exportador de ferro celular humano conhecido, que, em caso de redução, pode provocar acumulação de ferro intracelular, induzindo stress oxidativo, causando ferroptose celular e agravamento da condição periodontal (52); e a glutathione S-transferase alfa 4 (GSTA4) e o Superóxido dismutase 1 (SOD1), que codificam proteínas antioxidantes, cuja redução contribui para uma maior suscetibilidade a dano oxidativo tecidual e uma potencial progressão da patologia periodontal (49, 53).

Para além destes genes, outros apresentaram a sua expressão alterada, eventualmente como mecanismo de defesa face à agressão provocada pelo HTPA. Genes como a tioredoxina redutase 1 (TXNRD1) (54), a quinona 1 (NQO1) (55), a glutathione peroxidase 2 (GPX2) (56) e a subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase (GCLC) (57), associados à resposta antioxidante, e o Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (NFE2L2) (55), gene regulador da resposta celular antioxidante, constituem alguns desses exemplos.

No que se refere ao impacto na adesão celular destacam-se os seguintes genes:

- A queratina 13 (KRT13), que apesar de ter a sua expressão reduzida num intervalo de tempo de 48 h, após avaliação de 1 mês, verifica-se que a sua expressão aumenta relativamente ao controlo. Esta proteína possui função estrutural na manutenção da diferenciação e integridade do epitélio oral, e a sua alteração da expressão pode refletir remodelação epitelial e alterações da função de barreira, potencialmente favorecendo a invasão por bactérias patogénicas periodontais e propagação da inflamação (58);

- A psoriasina S100A7, responsável por estimular a expressão de citocinas inflamatórias nos fibroblastos orais e controlar o crescimento epitelial celular, observa-se que é sobre expresso após a exposição a HTPA, o que pode potenciar a reação inflamatória celular e crescimento celular, podendo culminar num ambiente molecular compatível com inflamação gengival e possível

progressão periodontal (59, 60).

Em relação a genes com impacto na adesão celular e com impacto periodontal, destaca-se a desmocolina 1 (DSC1). A sua expressão encontra-se diminuída, reduzindo o seu efeito na manutenção da coesão intercelular e tornando as células mais propensas a apoptose e a reações inflamatórias (61).

O mesmo acontece com genes responsáveis por junções de oclusão e com possível impacto periodontal, dos quais se destaca a claudina 1 (CLDN1). Este gene controla a permeabilidade da barreira epitelial e evita a penetração de bactérias responsáveis pela periodontite e dos seus produtos celulares, encontrando-se a sua expressão reduzida após a exposição a HTPA (62).

Apesar de serem detetadas, igualmente, alterações em marcadores reguladores de mecanismos de apoptose e ciclo celular, como a p53, a BCL2, a p21 e a p16, as alterações são demasiado heterogéneas para permitir concluir o seu verdadeiro papel ou determinar se a sua desregulação influencia a patogénese da doença periodontal.

Contudo, é importante mencionar que o HTPA, considerando o conjunto das alterações génicas e proteómicas observadas, mesmo em níveis de concentração mais elevados teve, de um modo geral, um impacto mais reduzido do que o CS.

É importante destacar que a alteração da expressão génica e proteómica, quer seja por aumento quer por diminuição, entre os diferentes estudos, foi bastante congruente, com a exceção do gene KRT13, como referido acima. Isto deve-se provavelmente ao facto de, nos estudos que procedem à sua medição, esta ter sido realizada em tempos distintos (três após um máximo de 72 h e um após um mês).

Na Tabela 3 é apresentada uma síntese da função, tipo de alteração de expressão e impacto do tabaco aquecido na doença periodontal dos genes e/ou proteínas analisados.

Tabela 3 - Síntese da função, tipo de alteração de expressão e potencial impacto na doença periodontal dos genes e/ou proteínas analisados.

Nome do gene e/ou proteína	Função principal	Alteração da expressão	Potencial implicação periodontal
ALDH3A1	Detoxificação de aldeídos reativos e resposta antioxidante	Aumento	Pode refletir resposta adaptativa ao stress oxidativo/xenobiótico; expressão persistente pode indicar agressão celular continuada
CLDN1	Proteína de junção de oclusão; manutenção da barreira epitelial	Redução	Pode comprometer a função de barreira e facilitar a penetração de bactérias e produtos bacterianos
CTGF	Remodelação, reparação e possível fibrose do tecido conjuntivo	Aumento	Pode refletir resposta de reparação/ remodelação, mas também contribuir para alterações fibróticas

			se persistente
CXCL10	Quimiocina envolvida na resposta imunitária e inflamatória	Redução	Pode alterar o recrutamento celular e modular a resposta inflamatória local
CXCL14	Quimiocina associada à homeostase tecidual e à diferenciação osteogénica	Redução	Pode comprometer mecanismos de homeostase e regeneração periodontal
DSC1	Componente desmossômico envolvido na coesão intercelular	Redução	Pode fragilizar a adesão intercelular e favorecer disfunção epitelial e inflamação
GCLC	Subunidade catalítica da síntese de glutatona	Aumento	Sugere ativação de mecanismos antioxidantes compensatórios
GPX2	Enzima antioxidante dependente de glutatona	Aumento	Papel protetor antioxidante
GSTA4	Detoxificação de produtos de peroxidação lipídica	Redução	Maior suscetibilidade ao dano oxidativo periodontal
HMOX1	Degradação do grupo heme e resposta antioxidante	Aumento	Pode refletir resposta antioxidante; se sustentada, pode favorecer acumulação de ferro livre e stress oxidativo
IL-1R2	Recetor regulador/decoy da interleucina 1	Aumento	Pode refletir modulação compensatória da resposta inflamatória mediada por IL-1
IL-1 α	Citocina pró-inflamatória	Aumento	Pode potenciar inflamação local e degradação dos tecidos periodontais
IL-1 β	Citocina pró-inflamatória associada à ativação inflamatória e osteoclastogénese	Aumento	Potencializa inflamação periodontal e destruição óssea
KRT13	Queratina estrutural associada à diferenciação e integridade do epitélio oral	Inicialmente redução; posteriormente aumento	Alterações temporais podem refletir remodelação epitelial e alteração da função de barreira
MMP1	Degradação de colagénio e remodelação da matriz extracelular	Aumento	Favorece destruição tecidual e progressão da periodontite
MMP3	Degradação de componentes da matriz extracelular e	Aumento	Intensifica remodelação/degradação da matriz periodontal

	ativação de outras MMPs		
MMP9	Remodelação da matriz extracelular	Aumento	Pode contribuir para disrupção tecidual e progressão periodontal
NFE2L2	Regulação transcricional da resposta antioxidante celular	Aumento	Ativação de mecanismos de defesa antioxidante
NQO1	Enzima antioxidante e detoxificante regulada por NFE2L2	Aumento	Proteção contra stress oxidativo
PLAUR	Proteólise pericelular, migração celular e remodelação tecidual	Aumento	Associado à resposta protetora e regenerativa
PTGS2	Envolvida na síntese de prostaglandinas inflamatórias	Aumento	Promove inflamação, degradação de colagénio e reabsorção óssea
S100A7	Proteína associada à resposta inflamatória epitelial e sinalização em fibroblastos	Aumento	Pode potenciar citocinas inflamatórias e contribuir para inflamação gengival
SERPINB2	Regulação da atividade das proteases	Aumento	Pode representar resposta reguladora/protetora face à atividade proteolítica
SLC40A1	Exportador celular de ferro	Redução	Acumulação intracelular de ferro induz stress oxidativo e ferroptose
SLC7A11	Controlo oxidativo celular	Aumento	Pode refletir resposta adaptativa ao stress oxidativo e modulação da ferroptose
SOD1	Neutralização de radicais livres	Redução	Pode reduzir a capacidade antioxidante e aumentar suscetibilidade ao stress oxidativo
TIMP1	Inibidor de MMPs; regulação da remodelação da matriz extracelular	Aumento	Pode refletir tentativa de controlo da degradação matricial e reparação tecidual
TXNRD1	Defesa antioxidante celular	Aumento	Mecanismo protetor contra agressão oxidativa
VEGFA	Angiogénese e reparação vascular	Aumento	Pode refletir resposta angiogénica associada à cicatrização, inflamação ou remodelação tecidual

ALDH3A1, Membro A1 da família 3 da aldeído desidrogenase; CLDN1, Claudina 1; CTGF, Fator de crescimento do tecido conjuntivo; CXCL10, Ligante 10 de quimiocina do motivo C-X-C; CXCL14, Ligante 14 de quimiocina do motivo C-X-C; DSC1, Desmocolina 1; GCLC, Subunidade catalítica da glutamato-cisteína

ligase; GPX2, Glutathione peroxidase 2; GSTA4, Glutathione S-transferase alfa 4; HMOX1, Heme oxygenase 1; IL-1R2, Recetor do tipo 2 da interleucina-1; IL-1 α , Interleucina 1 alfa; IL-1 β , Interleucina 1 beta; KRT13, Queratina 13; MMP1, Metaloproteinase 1; MMP3, Metaloproteinase 3; MMP9, Metaloproteinase 9; MMPs, Metaloproteinases; NFE2L2, Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2; NQO1, Quinona 1; PLAUR, Recetor do ativador de plasminogénio do tipo uroquinase; PTGS2, Prostaglandina-endoperoxídeo sintase 2; S100A7, Psoriasina; SERPINB2, Inibidor do ativador de plasminogénio 2 / Membro 2 da família B de serpinas; SLC40A1, Membro 1 da família 40 de transportadores de soluto; SLC7A11, Membro 11 da família 7 de transportadores de solutos; SOD1, Superóxido dismutase 1; TIMP1, Inibidor da metaloproteinase 1 do tecido / Inibidor tecidual de metaloproteinase 1; TXNRD1, Tiorredoxina redutase 1; VEGFA, Fator de crescimento endotelial vascular.

Apesar do foco deste estudo incidir na componente génica e proteómica do impacto do HTPA nos tecidos orais humanos, optou-se por não abordar os miRNAs, dado que na revisão sistemática de Kopa-Stojak P et al. (2022) (63), que contemplava todos os artigos incluídos nesta revisão, já foi efetuada essa análise.

É de destacar que três dos artigos recolhidos para esta revisão (Zanetti, F. et al (2016); Zanetti, F. et al (2017); Zanetti, F. et al (2018)) foram diretamente financiados pela Philip Morris International R&D, Philip Morris Products S.A., empresa associada ao desenvolvimento e comercialização do IQOS®, uma das principais marcas de HTP disponíveis no mercado. Esta situação constitui um importante conflito de interesses, pelo facto de estes artigos incidirem sobre o impacto biológico dos seus produtos em tecidos humanos.

Existem ainda outras limitações dos estudos analisados nesta revisão:

- São analisadas sequências não específicas para a progressão e o desenvolvimento de patologia periodontal;
- Trata-se de estudos experimentais *in vitro*, não representativos do substrato e condições intraorais na sua complexidade;
- Os tempos de exposição das culturas ao aerossol são muito reduzidos, simulando exposição aguda, algo que não é representativo do consumo crónico deste tipo de dispositivos.

Estas limitações não permitem inferir de modo completo qual o verdadeiro impacto destes produtos na expressão génica e proteómica e, consequentemente, na progressão e no desenvolvimento da doença periodontal.

No Anexo III, na sequência da análise dos estudos existentes até ao momento, apresenta-se um desenho de estudo que tenta ultrapassar as lacunas e limitações, nomeadamente através da recolha de amostras de tecido gengival de pacientes utilizadores de HTP e fumadores de cigarro convencional, que consumam pelo menos 1 cigarro ou *stick* por dia durante, pelo menos, 1 ano e de pacientes não fumadores (controlo). As amostras consideradas viáveis serão analisadas através da técnica de espectrometria de massa, sendo avaliados biomarcadores de interesse para a patologia periodontal. Este desenho de estudo procura colmatar as limitações dos estudos discutidos nesta revisão e pretende

ampliar o conhecimento sobre o impacto dos HTP nos tecidos orais.

CONCLUSÃO

A presente revisão destaca os efeitos que o HTPA pode exercer no nosso ambiente oral, particularmente nos tecidos periodontais. Quer o aumento da expressão de mediadores inflamatórios, quer as alterações associados ao stress celular, ainda que inferiores às observadas com o CS, sugerem um potencial oral e periodontal.

Todavia, devido ao reduzido número de estudos realizados até ao momento e às suas limitações, como períodos de exposição reduzidos e substratos não representativos da cavidade oral na sua complexidade, não é possível estabelecer uma associação definitiva entre o consumo de HTP e o desenvolvimento e progressão da doença periodontal.

Em suma, apesar do impacto ser inferior ao do cigarro convencional, os HTP não são produtos inócuos e podem ter impacto, ainda que menos significativo, no processo de cicatrização e regeneração periodontal. No entanto, são necessários mais estudos e evidência científica adicional para compreender de forma mais clara a extensão desse impacto. Isto reforça a importância de estudos observacionais transversais em humanos, com recolha de tecidos ou fluídos orais, em utilizadores de longa data, de modo a compreender a abrangência dos efeitos que estes dispositivos exercem no ambiente oral.

De modo a colmatar algumas das limitações e lacunas dos estudos abordados nesta revisão, será apresentada uma proposta de um estudo clínico transversal observacional cego.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organization WH. WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000-2024 and projections 2025-2030: World Health Organization 2024; 2025.
2. Dai X, Gakidou E, Lopez AD. Evolution of the global smoking epidemic over the past half century: strengthening the evidence base for policy action. *Tob Control*. 2022;31(2):129-37.
3. Rey-Brandariz J, Ravara S, López-Vizcaíno E, Santiago-Pérez MI, Ruano-Ravina A, Candal-Pedreira C, et al. Smoking-attributable mortality in Portugal and its regions in 2019. *Pulmonology*. 2025;31(1):2416823.
4. Chaffee BW, Couch ET, Vora MV, Holliday RS. Oral and periodontal implications of tobacco and nicotine products. *Periodontology* 2000. 2021;87(1):241-53.
5. Yoshioka T, Tabuchi T. Combustible cigarettes, heated tobacco products, combined product use, and periodontal disease: A cross-sectional JASTIS study. *PLoS One*. 2021;16(3):e0248989.
6. Benowitz NL, Liakoni E. Tobacco use disorder and cardiovascular health. *Addiction*. 2022;117(4):1128-38.
7. César Neto JB, Rosa EF, Pannuti CM, Romito GA. Smoking and periodontal tissues: a review. *Braz Oral Res*. 2012;26 Suppl 1:25-31.
8. Alarabi AB, Lozano PA, Khasawneh FT, Alshbool FZ. The effect of emerging tobacco related products and their toxic constituents on thrombosis. *Life Sci*. 2022;290:120255.
9. Błach J, Siedliński M, Sydor W. Immunology in COPD and the use of combustible cigarettes and heated tobacco products. *Eur J Med Res*. 2023;28(1):397.
10. Zhang Y, He J, He B, Huang R, Li M. Effect of tobacco on periodontal disease and oral cancer. *Tob Induc Dis*. 2019;17:40.
11. Tomar SL, Hecht SS, Jaspers I, Gregory RL, Stepanov I. Oral Health Effects of Combusted and Smokeless Tobacco Products. *Adv Dent Res*. 2019;30(1):4-10.
12. Goodchild M, Nargis N, Tursan d'Espaignet E. Global economic cost of smoking-attributable diseases. *Tob Control*. 2018;27(1):58-64.
13. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2013;62(1):59-94.
14. Antunes A, Botelho J, Mendes JJ, Delgado AS, Machado V, Proença L. Geographical Distribution of Periodontitis Risk and Prevalence in Portugal Using Multivariable Data Mining and Modeling. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(20).
15. Pagano S, Negri P, Coniglio M, Bruscoli S, Di Michele A, Marchetti MC, et al. Heat-not-burn tobacco (IQOS), oral fibroblasts and keratinocytes: cytotoxicity, morphological analysis, apoptosis and cellular cycle. An in vitro study. *J Periodontal Res*. 2021;56(5):917-28.
16. Camoni N, Conti G, Esteves-Oliveira M, Carvalho TS, Roccuzzo A, Cagetti MG, et al. Electronic Cigarettes, Heated Tobacco Products, and Oral Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Applied Sciences*. 2023;13(17):9654.
17. Sun T, Anandan A, Lim CCW, East K, Xu SS, Quah ACK, et al. Global prevalence of heated tobacco product use, 2015-22: A systematic review and meta-analysis. *Addiction*. 2023;118(8):1430-44.
18. Uehara O, Nakamoto N, Hiraki D, Paudel D, Sugiyama N, Morikawa T, et

- al. Effects of prolonged stimulation with heated tobacco products (Ploom TECH(+)) on gingival epithelial cells. *J Periodontal Res.* 2023;58(3):553-63.
19. Kanobe MN, Makena P, Prevette K, Baxter SA. Assessment of Abuse Liability and Nicotine Pharmacokinetics of glo Heated Tobacco Products in a Randomized, Crossover Study. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2024;49(6):733-50.
20. Znyk M, Jurewicz J, Kaleta D. Exposure to Heated Tobacco Products and Adverse Health Effects, a Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(12).
21. Doya K, Imamura K, Mori S, Nakane-Koyachi S, Kokubu E, Ishihara K, et al. Investigating the Effects of Heated Tobacco Products on Periodontal Healing: Insights From In Vivo and In Vitro Experiments. *Cureus.* 2025;17(3):e80733.
22. Mišković I, Kuiš D, Špalj S, Pupovac A, Prpić J. Periodontal Health Status in Adults Exposed to Tobacco Heating System Aerosol and Cigarette Smoke vs. Non-Smokers: A Cross-Sectional Study. *Dent J (Basel).* 2024;12(2).
23. Tattan-Birch H, Hartmann-Boyce J, Kock L, Simonavicius E, Brose L, Jackson S, et al. Heated tobacco products for smoking cessation and reducing smoking prevalence. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022;1(1):Cd013790.
24. Baeshen HA, Alsulaimani FF, Awadh W, Ageeli MA, Abullais SS, Alqahtani NA, et al. Comparative assessment of the cell-surface antigens and gene expression profiles of the gingival tissue biomarkers in subjects with fixed functional and removable functional orthodontic appliances. *Saudi J Biol Sci.* 2022;29(3):1789-95.
25. Neurath N, Kesting M. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Front Immunol.* 2024;15:1435054.
26. Alamri A, Semlali A, Jacques É, Alanazi M, Zakrzewski A, Chmielewski W, et al. Long-term exposure of human gingival fibroblasts to cigarette smoke condensate reduces cell growth by modulating Bax, caspase-3 and p53 expression. *J Periodontal Res.* 2015;50(4):423-33.
27. Hartenbach F, Velasquez É, Nogueira FCS, Domont GB, Ferreira E, Colombo APV. Proteomic analysis of whole saliva in chronic periodontitis. *J Proteomics.* 2020;213:103602.
28. Chu Z, Zhao T, Zhang Z, Chu CH, Cai K, Wu J, et al. Untargeted Metabolomics Analysis of Gingival Tissue in Patients with Severe Periodontitis. *Journal of Proteome Research.* 2024;23(1):3-15.
29. Lopes MES, Marcantonio CC, Salmon CR, Mofatto LS, Nociti Junior FH, Eick S, et al. Effects of periodontal disease on the proteomic profile of the periodontal ligament. *J Proteomics.* 2025;314:105384.
30. Ye D, Gajendra S, Lawyer G, Jadeja N, Pishey D, Pathagunti S, et al. Inflammatory biomarkers and growth factors in saliva and gingival crevicular fluid of e-cigarette users, cigarette smokers, and dual smokers: A pilot study. *J Periodontol.* 2020;91(10):1274-83.
31. Dalle-Donne I, Garavaglia ML, Colombo G, Astori E, Lionetti MC, La Porta CAM, et al. Cigarette smoke and glutathione: Focus on in vitro cell models. *Toxicol In Vitro.* 2020;65:104818.
32. Pouly S, Ng WT, Benzmira M, Soulan A, Blanc N, Zanetti F, et al. Effect of Switching to the Tobacco Heating System Versus Continued Cigarette Smoking on Chronic Generalized Periodontitis Treatment Outcome: Protocol for a Randomized Controlled Multicenter Study. *JMIR Res Protoc.* 2021;10(1):e15350.
33. Conte G, Pacino SA, Urso S, Greiling D, Caponnetto P, Pedullà E, et al. Changes in Oral Health and Dental Esthetic in Smokers Switching to Combustion-Free Nicotine Alternatives: Protocol for a Multicenter and Prospective Randomized Controlled Trial. *JMIR Res Protoc.* 2024;13:e53222.

34. Zanetti F, Sewer A, Mathis C, Iskandar AR, Kostadinova R, Schlage WK, et al. Systems Toxicology Assessment of the Biological Impact of a Candidate Modified Risk Tobacco Product on Human Organotypic Oral Epithelial Cultures. *Chem Res Toxicol*. 2016;29(8):1252-69.
35. Zanetti F, Titz B, Sewer A, Lo Sasso G, Scotti E, Schlage WK, et al. Comparative systems toxicology analysis of cigarette smoke and aerosol from a candidate modified risk tobacco product in organotypic human gingival epithelial cultures: A 3-day repeated exposure study. *Food Chem Toxicol*. 2017;101:15-35.
36. Zanetti F, Sewer A, Scotti E, Titz B, Schlage WK, Leroy P, et al. Assessment of the impact of aerosol from a potential modified risk tobacco product compared with cigarette smoke on human organotypic oral epithelial cultures under different exposure regimens. *Food Chem Toxicol*. 2018;115:148-69.
37. Checchi V, Maravic T, Bellini P, Generali L, Consolo U, Breschi L, et al. The Role of Matrix Metalloproteinases in Periodontal Disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(14).
38. Papathanasiou E, Conti P, Carinci F, Lauritano D, Theoharides TC. IL-1 Superfamily Members and Periodontal Diseases. *J Dent Res*. 2020;99(13):1425-34.
39. Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, De Sousa TS, Taba Jr M, Teofilo JM, et al. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*. 2010;37(2):180-90.
40. Alpagot T, Bell C, Lundergan W, Chambers DW, Rudin R. Longitudinal evaluation of GCF MMP-3 and TIMP-1 levels as prognostic factors for progression of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001;28(4):353-9.
41. Ko HM, Moon JS, Shim HK, Lee SY, Kang JH, Kim MS, et al. Inhibitory effect of C-X-C motif chemokine ligand 14 on the osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells through transforming growth factor-beta1. *Arch Oral Biol*. 2020;115:104733.
42. Barros S, Niculescu M, Moretti A, Preisser JS, Offenbacher S. Alteration of PTGS2 Promoter Methylation in Chronic Periodontitis. *Journal of dental research*. 2010;89:133-7.
43. Dabkeviciute GM, Kriauciunas A. Exosomes as Central Mediators of Host-Pathogen Interactions in Periodontitis: A Systematic Literature Review. *Cureus*. 2025;17(10):e95609.
44. Mize TW, Sundararaj KP, Leite RS, Huang Y. Increased and correlated expression of connective tissue growth factor and transforming growth factor beta 1 in surgically removed periodontal tissues with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2015;50(3):315-9.
45. Fleetwood AJ, O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Lam RS, Achuthan A, Cook AD, et al. Porphyromonas gingivalis-derived RgpA-Kgp Complex Activates the Macrophage Urokinase Plasminogen Activator System: IMPLICATIONS FOR PERIODONTITIS. *J Biol Chem*. 2015;290(26):16031-42.
46. Zhang D, Li S, Hu L, Sheng L, Cao Z, Wu Y, et al. Protease-activated receptors expression in gingiva in periodontal health and disease. *Archives of Oral Biology*. 2014;59(4):393-9.
47. Yang Z, Zhu L, Hu T. Cxcl10 Mediates Osteoblast Inhibition In Periodontitis-Related Bone Loss. *International Dental Journal*. 2025;75:104659.
48. Zheng J, Zhang P, Xie H, Chu Z, Xu B. LncRNA SLC7A11-AS1 is involved in human periodontal stem cell injury by negatively regulating miR-1260 expression. *Odontology*. 2026;114(2):939-50.
49. Meng L, Fang H, Wen W. Integrated bioinformatics analysis identifies glutathione metabolism-related genes as diagnostic biomarkers for periodontitis.

BMC Oral Health. 2025;25(1):1546.

50. Lv W, Hu S, Yang F, Lin D, Zou H, Zhang W, et al. Heme oxygenase-1: potential therapeutic targets for periodontitis. *PeerJ*. 2024;12:e18237.

51. Khan MA, Younus H. Glycation of Salivary Aldehyde Dehydrogenase: Emerging Molecular Mechanisms and Clinical Implications in Oral Disease. *Life (Basel)*. 2026;16(3).

52. Zhang Y, Zou L, Li X, Guo L, Hu B, Ye H, et al. SLC40A1 in iron metabolism, ferroptosis, and disease: A review. *WIREs Mech Dis*. 2024;16(4):e1644.

53. Toczewska J, Baczyńska D, Zalewska A, Maciejczyk M, Konopka T. The mRNA expression of genes encoding selected antioxidant enzymes and thioredoxin, and the concentrations of their protein products in gingival crevicular fluid and saliva during periodontitis. *Dental and Medical Problems*. 2023;60:255-65.

54. Lorente L, Hernández Marrero E, Abreu-Gonzalez P, Lorente Martín AD, Lorente Martín M, Marrero González MJ, et al. Low salivary thioredoxin-1 levels in periodontitis. *World J Clin Cases*. 2026;14(6):118460.

55. Ma F, Luo S, Lu C, Jiang X, Chen K, Deng J, et al. The role of Nrf2 in periodontal disease by regulating lipid peroxidation, inflammation and apoptosis. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;Volume 13 - 2022.

56. Mo H, Chen L, Ren S, Wu Y, Tian A. Causal Gene Identification and Biomarker Prioritization in Periodontitis via Integrative Multiomics and Mendelian Randomization. *Mediators Inflamm*. 2025;2025:6044837.

57. Hu L, Liu S. Trophoblast cell response to periodontal pathogens unveils oxidative stress networks between periodontitis and pre-eclampsia: Mendelian randomization, transcriptomic analysis, and cellular experimental validation. *Eur J Med Res*. 2025;30(1):596.

58. Zhu W, Fung K, Dhami P, Sharpe P, Krivanek J, Nibali L, et al. Characterising the Periodontal Granulation Tissue Using scRNAseq. *J Clin Periodontol*. 2026;53(2):308-20.

59. Rizal MI, Soeroso Y, Sulijaya B, Assiddiq BF, Bachtiar EW, Bachtiar BM. Proteomics approach for biomarkers and diagnosis of periodontitis: systematic review. *Heliyon*. 2020;6(6):e04022.

60. Fukuzawa H, Kiyoshima T, Kobayashi I, Ozeki S, Sakai H. Transcription promoter activity of the human S100A7 gene in oral squamous cell carcinoma cell lines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*. 2006;1759(3):171-6.

61. Su Q, Chen J. METTL3-Mediated m6A Modification of DSC1 Alleviates Inflammation and Cellular Dysfunction in Periodontitis. *Int Dent J*. 2026;76(1):109347.

62. Fujita T, Firth JD, Kittaka M, Ekuni D, Kurihara H, Putnins EE. Loss of claudin-1 in lipopolysaccharide-treated periodontal epithelium. *Journal of Periodontal Research*. 2012;47(2):222-7.

63. Kopa-Stojak P, Pawliczak R. Comparison of effects of tobacco cigarettes, electronic nicotine delivery systems and tobacco heating products on miRNA-mediated gene expression. A systematic review. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2022;33:1-20.

ANEXOS

Anexo I

Tabela Suplementar 1 - Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR) Checklist

SECTION	ITEM	PRISMA-ScR CHECKLIST ITEM	REPORTED ON PAGE #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a scoping review.	Page III
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary that includes (as applicable) background, objectives, eligibility criteria, sources of evidence, charting methods, results, and conclusions that relate to the review questions and objectives.	Page VII
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known. Explain why the review questions/objectives lend themselves to a scoping review approach.	Page 4
Objectives	4	Provide an explicit statement of the questions and objectives being addressed with reference to their key elements (e.g., population or participants, concepts, and context) or other relevant key elements used to conceptualize the review questions and/or objectives.	Page 5
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate whether a review protocol exists; state if and where it can be accessed (e.g., a Web address); and if available, provide registration information, including the registration number.	Page 6
Eligibility criteria	6	Specify characteristics of the sources of evidence used as eligibility criteria (e.g., years considered, language, and publication status) and provide a rationale.	Page 7
Information sources	7	Describe all information sources in the search (e.g., databases with dates of coverage and contact with authors to identify additional sources), as well as the date the most recent search was executed.	Page 6
Search	8	Present the full electronic search strategy for at least 1 database, including any limits used, such that it could be repeated.	Page 6
Selection of sources of evidence	9	State the process for selecting sources of evidence (i.e., screening and eligibility) included in the scoping review.	Page 7
Data charting process	10	Describe the methods of charting data from the included sources of evidence (e.g., calibrated forms or forms that have been tested by the team before their use, and whether data charting was done independently or in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	Page 6
Data items	11	List and define all variables for which data were sought and any assumptions and simplifications made.	Page 6-7
Critical appraisal of individual sources of evidence	12	If done, provide a rationale for conducting a critical appraisal of included sources of evidence; describe the methods used and how this information was used in any data synthesis (if appropriate).	Page 6-7

SECTION	ITEM	PRISMA-ScR CHECKLIST ITEM	REPORTED ON PAGE #
Synthesis of results	13	Describe the methods of handling and summarizing the data that were charted.	Page 6-7
RESULTS			
Selection of sources of evidence	14	Give numbers of sources of evidence screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally using a flow diagram.	Page 8
Characteristics of sources of evidence	15	For each source of evidence, present characteristics for which data were charted and provide the citations.	Page 9-11
Critical appraisal within sources of evidence	16	If done, present data on critical appraisal of included sources of evidence (see item 12).	Page 27-28
Results of individual sources of evidence	17	For each included source of evidence, present the relevant data that was charted that relates to the review questions and objectives.	Page 11-27
Synthesis of results	18	Summarize and/or present the charting results as they relate to the review questions and objectives.	Page 27-28
DISCUSSION			
Summary of evidence	19	Summarize the main results (including an overview of concepts, themes, and types of evidence available), link to the review questions and objectives, and consider the relevance to key groups.	Page 29-34
Limitations	20	Discuss the limitations of the scoping review process.	Page 34
Conclusions	21	Provide a general interpretation of the results with respect to the review questions and objectives, as well as potential implications and/or next steps.	Page 35
FUNDING			
Funding	22	Describe sources of funding for the included sources of evidence, as well as sources of funding for the scoping review. Describe the role of the funders of the scoping review.	Not applicable