

## EFEITOS BIOLÓGICOS DOS METABÓLITOS DO FUMO NOS FIBROBLASTOS

### Sinopse

Aurora Esmeralda Travesso Martinez \*

Carlos Rossa Jr. \*\*

### Abstract

---



## SINOPSE

O hábito de fumar é um dos fatores de risco mais significativos para o desenvolvimento e progressão das doenças periodontais. Mas de 4000 toxinas são derivadas do tabaco, sendo possível considerar que grande parte dos efeitos nocivos associados a este produto pode ser resultante da sua interação com as células componentes do periodonto. Sendo os fibroblastos as principais células do periodonto, as possíveis alterações funcionais que eles possam sofrer devidos aos derivados do tabaco, podem predispor ao indivíduo a maior extensão e severidade de destruição periodontal. Pesquisas recentes têm relatado que a nicotina, cotinina e aldeídos alteram os principais processos celulares tais como: adesão, morfologia, proliferação e síntese protéica. Portanto, um melhor conhecimento do papel biológico destas substâncias sobre os fibroblastos nos permitirá entender em parte a plausibilidade biológica da elevada incidência, prevalência e severidade da doença periodontal destrutiva em fumantes crônicos.

**UNITERMOS:** nicotina/efeitos adversos, cotinina/efeitos adversos, aldeídos/efeitos adversos, fibroblastos, fumo.

## INTRODUÇÃO

O hábito de fumar tem sido reconhecido como um dos fatores de risco mais significativos para o desenvolvimento e progressão das doenças periodontais<sup>2,9</sup>. As razões para esta associação entre fumo e doenças periodontais ainda são desconhecidas mas, alguns autores a atribuem a efeitos locais, como alteração na composição da microbiota subgingival,

com maior proporção de patógenos periodontais<sup>8,22,29</sup>, enquanto outros a efeitos sistêmicos, que podem alterar e modificar a resposta do hospedeiro<sup>16,25</sup>.

Sistemicamente, o fumo pode influenciar o sistema imunológico do hospedeiro, alterando desta maneira a susceptibilidade dos tecidos periodontais à ação da placa microbiana<sup>16,24</sup>. Alguns autores<sup>13,14,16</sup> têm mostrado os efeitos do fumo nos diferentes componentes do sistema imune. Foi demonstrada "*in vitro*" a diminuição da atividade enzimática de neutrófilos mediante a inibição do mecanismo de oxidação, enquanto "*in vivo*" observou-se a diminuição da capacidade de fagocitose e redução na quimiotaxia e migração destas mesmas células<sup>16</sup>, assim como a redução da produção de anticorpos como IgA, IgG, IgM<sup>13,14</sup>. Além disso, o tabaco em geral, e o consumo de cigarros em particular, podem provocar efeitos nocivos diretos, ao expor o usuário a muitas substâncias citotóxicas presentes em sua composição. Mais de 4000 toxinas são derivadas do tabaco. Entre estas encontram-se venenos como monóxido de carbono, toxinas como os radicais oxigenados, aldeídos como acrolein e acetaldeído, substâncias carcinogênicas como as nitrosamidas e substâncias psicoativas como a nicotina<sup>4,25,26,28</sup>.

Recentemente, o efeito do fumo na resposta à terapia periodontal foi avaliado por alguns estudos<sup>21,26,27</sup> que demonstraram uma resposta clínica menos favorável em fumantes, após diversas formas de tratamento.

Como a reparação da ferida é resultado da uma série de eventos celulares que envolvem migração, divisão celular, e síntese de moléculas extracelulares, qualquer alteração nestes processos pode afetar o tipo de cicatrização obtida. Os subprodutos do tabaco podem alterar a cicatrização, pois inibem os eventos celulares mencionados, podendo ocasionar dano direto às células normais dos tecidos periodontais. Esta pode ser uma das razões pelas quais os pacientes fumantes são mais susceptíveis à perda de inserção ou apresentam uma pior resposta ao tratamento<sup>15</sup>.

Portanto, um melhor conhecimento do papel biológico dos subprodutos do tabaco sobre as principais células do periodonto, os fibroblastos, nos permitirá entender em parte a plausibilidade biológica da elevada incidência e severidade da doença periodontal destrutiva em fumantes crônicos relatados por estudos clínicos e epidemiológicos.

## NICOTINA

Esta substância é considerada um dos componentes mais importantes do tabaco devido ao seu potencial tóxico, podendo ser absorvida na cavidade oral pelos tecidos moles, aderir-se às superfícies dentárias, ou encontrar-se no plasma<sup>20</sup>. Sua meia vida biológica no plasma é muito curta,

aproximadamente 30 minutos, sendo rapidamente convertida em seu principal metabólito, a cotinina<sup>1</sup>. A avaliação da influência deste subproduto do fumo somente se justificaria caso esta substância estivesse presentes "*in vivo*", assim os níveis de nicotina na saliva e no plasma de fumantes crônicos tem sido avaliados por alguns estudos, com resultados variáveis, por exemplo, a nicotina na saliva oscila entre 96ng a 1.6mg/ml e no plasma de 15ng a 1,8 ug/ml. Estas grandes variações entre os valores máximo e mínimo podem ser explicadas por variações no metabolismo individual, o tipo de tabaco consumido, a frequência e intensidade do hábito e as diferentes técnicas de avaliação<sup>1,11,18</sup>.

A nicotina parece ter a capacidade de alterar os padrões de adesão dos fibroblastos gengivais e oriundos do ligamento periodontal. Estudos "*in vitro*" têm demonstrado que a exposição dos fibroblastos a baixas concentrações de nicotina originou alterações estruturais da célula que não permitiram sua completa adesão à superfície radicular<sup>10,20,23</sup>. Outras funções celulares importantes também foram alteradas na presença da nicotina; Tipton, Dabbous<sup>24</sup> em 1995, perceberam que, a partir de concentrações de 500 ug/ml, alterações na morfologia, aumento dos vacúolos citoplasmáticos, assim como evidências sugestivas de maior atividade celular representada pelo aumento do núcleo ocorreram. Quanto à proliferação celular, alguns pesquisadores<sup>10,12,24</sup> mostraram evidências de que a nicotina pode inibir a proliferação dos fibroblastos de forma proporcional à concentração utilizada, com relatos de inibição significativa da mitose a partir de concentrações de 100ng/ml<sup>10</sup>. Em doses elevadas, a nicotina pode ser extremamente tóxica, produzindo a morte celular. Para Chechi et al.<sup>5</sup>, doses superiores a 600ug/ml são altamente citotóxicas. Segundo Hanes et al.<sup>12</sup>, a toxicidade atribuída à nicotina é explicada por um mecanismo de proteção celular, segundo o qual a molécula é reconhecida pelos fibroblastos como uma substância injuriante, sendo assim, absorvida pela célula para sua eliminação. O problema surge quando são absorvidas grandes quantidades da droga, pois o mecanismo de eliminação da nicotina pela célula é muito mais lento que sua absorção. Portanto, a exposição prolongada e constante a altas concentrações, pode originar uma toxicidade intra-celular capaz de alterar o metabolismo e até levar à morte celular.

Devemos também considerar que uma das principais funções dos fibroblastos nos tecidos periodontais é a regulação da matriz extracelular, uma vez que são as células responsáveis pela produção e degradação do colágeno, componente fundamental da matriz, além de secretarem fibronectina, e modular a produção de alfa 2 integrinas, importantes na degradação do colágeno e na adesão celular. Evidências mostraram que a integridade da matriz extracelular pode ser alterada pela nicotina em concentrações superiores a 500ng/ml, aumentando a atividade da colagenase e inibindo a produção de fibronectina e colágeno tipo I<sup>17,24</sup>.

## COTININA

A molécula de cotinina é importante por ser o principal metabólito da nicotina. Ela apresenta uma meia vida biológica de 10 a 30 horas no plasma<sup>7</sup>, podendo permanecer no organismo dos fumantes por muito tempo, razão pela qual tem sido usada recentemente como marcador bioquímico do uso de tabaco<sup>6</sup>. As vantagens da utilização da cotinina como marcador da presença e intensidade do hábito de fumar incluem níveis constantes no plasma por longos períodos de tempo<sup>3,11</sup>. Mc guire et al.<sup>18</sup>, demonstraram que esta substância está presente na saliva e fluido sulcular de fumantes crônicos, sendo as concentrações no fluido cinco a seis vezes superiores às da saliva. Os níveis de cotinina na saliva variam de 106 ng/ml a 1ug/ml e no plasma de 48ng/ml a 1,1 ug/ml<sup>11,18</sup>.

Devido a sua similaridade estrutural com a nicotina, os efeitos biológicos encontrados com esta substância poderiam também ser semelhantes. A cotinina em altas concentrações pode ter a capacidade de inibir em cultura, a aderência e proliferação de fibroblastos oriundos do ligamento periodontal<sup>15</sup>. Com base nesses resultados, pode-se supor que os mesmos receptores celulares para a molécula de nicotina poderiam interagir com a cotinina, explicando, em parte, porque é possível encontrar efeitos biológicos similares com ambas substâncias.

## ALDEÍDOS

A maioria de estudos tem encontrado uma associação direta entre a fase particulada do tabaco, representada pela nicotina, e as alterações presentes nos fibroblastos submetidos a esta substância. Mas, recentemente, alguns pesquisadores têm encontrado também nos componentes voláteis do tabaco possíveis agentes prejudiciais para as principais células do periodonto. A grande maioria de componentes voláteis são aldeídos, sendo os principais o acrolein e o acetaldeído, os quais são extremamente tóxicos, mesmo em reduzidas concentrações<sup>19</sup>.

O acetaldeído é um produto inicial da oxidação do etanol; e o acrolein é o maior metabólito do agente quimioterápico *cyclophosphamida*, responsável por alguns dos efeitos tóxicos das drogas anti-tumorais. Cattaneo et al.<sup>4</sup>, demonstraram que estes aldeídos têm a capacidade de inibir ou diminuir a adesão, proliferação, assim como alterar os padrões morfológicos de fibroblastos gengivais de forma diretamente proporcional à dose, sugerindo que em baixas concentrações seu efeito pode ser reversível, no entanto em concentrações elevadas ocasionaria danos irreversíveis para as células.

## CONCLUSÃO

O processo de reparação é o resultado cumulativo de diferentes funções celulares como a migração, proliferação e síntese de moléculas

extracelulares, qualquer alteração em algum de esses processos pode levar ao fracasso na reparação tecidual. Tentar entender os processos celulares é uma tarefa difícil, e atualmente os modelos experimentais "in vitro", como a cultura de células, são de grande ajuda para aumentar o conhecimento relativo ao comportamento das principais unidades biológicas nos seres vivos.

O fibroblasto é a principal célula dos tecidos periodontais, portanto é de muita importância conhecer seu funcionamento e as possíveis alterações que ele pode sofrer por diferentes agentes injuriantes. A literatura suporta a hipótese de que os principais produtos do tabaco como a nicotina, cotinina e os aldeídos tem efeitos tóxicos diretos nos fibroblastos do ligamento periodontal e do tecido gengival, e é importante destacar que as evidências mostradas nos trabalhos revisados nos levam a concluir que os fibroblastos são afetados por estas substâncias mediante a alteração dos principais processos celulares como a adesão, morfologia, proliferação e síntese protéica, o que explicaria em parte a plausibilidade biológica da elevada incidência e severidade de doença periodontal destrutiva em fumantes crônicos. Um número superior a 4000 substâncias é derivado do tabaco<sup>25</sup> e é plausível supor que a maioria de efeitos nocivos associados ao tabaco é resultado da interação das diferentes substâncias presentes em sua composição e o ambiente celular, mas ainda são necessários mais estudos para tentar entender este complexo sistema biológico.

## ABSTRACT

The smoking is a major factor for development and progression of periodontal disease. More than 4000 toxins are known to be present in tobacco. It is speculated that a great part of the adverse effects of this product result of its interaction with the cellular components of the periodontium. The fibroblasts are the principal cells of the periodontal tissues and any functional alterations induced by the metabolites of tobacco can cause damage in this tissue. This will render the individual more susceptible to destructive disease, of increasing severity. Recent research demonstrate that nicotine, cotinine and aldehydes alter the attachment and proliferation of fibroblasts cells. Studying the behavior of fibroblasts exposed to these substances can be of great help to the biological mechanism of the destructive periodontal disease in smokers.

**KEY WORDS:** nicotine/adverse effects, cotinine/adverse effects, aldehydes/adverse effects, fibroblasts, smoking.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARMITAGE, A; et al. Absorption and metabolism of nicotine from cigarettes. *Br. Med*, v. 4, p. 313-316, 1975.

2. BERGSTRÖM, J; PREBER H. Tobacco use as a risk fator. *J. Periodont Res*, v. 65, p.545-550, 1994.
3. BJERCKE, R. J; et al.Stereoscopic monoclonal antibodies to nicotine and cotinine and their use in enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Immuno Meth*, v. 90, p. 203-213, 1986.
4. CATTANEO, V; et al. Volatile Components of cigarette smoke: Effect of acrolein and acetaldehyde on human gingival fibroblasts, in vitro. *J. Periodontol*, v.71 p. 425-432, 2000.
5. CHECCHI, L; CIAPETTI, G; MONACO, G. The effects of nicotine and age on replication and viability of human gingival fibroblasts in vitro. *J. Clin. Periodontol*, v. 26, p. 636-642, 1999.
6. CUFF, M. J; et al. The presence of nicotine on root surfaces of periodontal diseased teeth in smokers. *J. Peridontol* , v. 60, p. 564-569, 1989.
7. CURVALL, M; ENZELL C. R. Monitoring absorption by means of determination of nicotine and cotinine. *Arch Toxicol* v. 9 (Supp) p. 88-102, 1986.
8. DARBY, I. B; et al. Microbial comparison of smoker and non-smoker adult and early onset periodontitis patients by polymerase Chain reaction. *J. Clin Periodontol*, v. 27, p. 417-424, 2000.
9. Genco, R. J. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J. Periodontol*, v.67, p. 1041-1049, 1996.
10. GIANNOPOULOU, C; GEINOZ, A; CIMASONI, G. Effects of nicotine on periodontal ligament fibroblast in vitro. *Clin Periodontol*, v. 26, p.49-55, 1999.
11. GONZALEZ, Y. M; et al. Serum cotinine levels, smoking and periodontal attachment loss. *J. Dental Res*, v. 75(2), p. 796-802, 1996.
12. HANES, P. J; SCHUSTER, G. S; LUBAS, S. Binding, uptake and realease of nicotine by human gingival fibroblasts. *J. Periodontol*, v. 62, p. 147-152, 1991.
13. HOLT, P.G; BARTHOLOMAENS, W. N; KEAST, D. Differential toxicity of tobacco smoke to various cell types including those of the immune system. *Aust J. Exp.Biol Med Sci*; v. 52, p. 211-215, 1974.
14. HOLT, P. G; KEAST, D. Environmentally induced changes in immunological function: acute and chronic effects of inhalation of tobacco smoke and other

- atmospheric contaminants in man and experimental animals. *Bacteriol Review*, v. 41, p. 105-110, 1977.
15. JAMES, J. A; SAYERS, N. M; DRUCKER, D; HULL, P. Effects of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblast. *J. Periodontol*, v.70(5), p.518-525, 1999.
  16. KENNY, E. B; et al. The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodont Res*; v.12 , p. 227-32, 1977.
  17. LEONARDI, R; et al. Alteration in alfa 2 integrin immunocytochemical expression on cultured human gingival fibroblasts following nicotine exposure. *Minerva Stomatol*, v. 48, p. 495-499, 1999.
  18. MC GUIRE, J. R; et al. Cotinine in saliva and gingival crevicular fluid of smokers with periodontal disease. *J. Periodontol*, v 60(4), p.176-181, 1989.
  19. NEWSONE, J. R. V; NORMAN, V; KEITH, C. H. Vapor phase analysis of tobacco smoke. *Tobacco Sci*, v. 9, p. 102-110, 1965.
  20. RAULIN, L. A; et al..The effect of nicotine on the attachment of human fibroblast to glass and human root surfaces in vitro. *J Peridontol*, v. 59, p. 318-325, 1988.
  21. RENVERT, S; DAHLEN, G; WIKSTRÖM, M. The clinical and microbiological effects of non-surgical periodontal therapy in smokers and non smokers. *J. Clin Periodontol*, v. 25, p. 153-157, 1997.
  22. SHILOAH, J; PATTERS, M. R; WARING, M. B. The prevalence of pathogenic Periodontal Microflora in Healthy Young Adult Smokers. *J. Periodontol*, v.71, p. 562-567, 2000
  23. TANUR, E; et al. Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblasts surfaces.*J. Periorontol*, v. 71, p. 717-722, 2000.
  24. TIPTON, D. A; DABBOUS, M. K. Effects of Nicotine on Proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblast in vitro. *J. Periodontol*, v. 66 (12), p. 1056-1064, 1995
  25. TONETTI, M. S. Cigarette Smoking and Periodontal Diseases: Etiology and Management of Disease. *Annals of Periodontology*; v.3, p.88-101, 1998.
  26. TROMBELLI, L; SCABBIA, A. Healing response of gingival recession defects following guided tissue regeneration procedures in smokers and non smokers. *J. Clin Periodontol*, v. 24, p. 529-533, 1997.

27. WAYNE, B. K; et al. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J. Periodontol*, v. 67 , p. 675-681, 1996.
28. WEITERG, A. B; CORVESE, D. Oxigen radicals potentiate the genetic toxicity of tobacco specific nitrosamines. *Clin Genet*, v. 43, p 88-91, 1993.
29. Zambon, J. J; et al. Smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol*; v.67, p. 1050-1054, 1996.



---

\* Mestranda em periodontia - FOAr-UNESP

\*\* Prof. Assit. Dr. Disciplina de Periodontia, Dept. Diagnóstico e Cirurgia.  
FOAr-UNESP

