



**Politécnico  
Castelo Branco**

Escola Superior de Saúde  
Dr. Lopes Dias

# **Impacto do Tabagismo na Morfologia Celular da Cavidade Oral Avaliado por Citologia Convencional**

João Francisco Cordeiro Marques

## **Orientadora**

Professora Doutora Carina Alexandra Pereira Valente

Trabalho de Projeto apresentado à Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Ciências Biomédicas Laboratoriais, realizada sob a orientação científica da Professora Adjunta Doutora Carina Valente, do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

**Julho 2025**



## **Composição do júri**

### **Presidente do júri**

Professor Doutor Francisco José Barbas Rodrigues

Professor Adjunto, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, Instituto Politécnico de Castelo Branco

### **Vogais**

Professora Doutora Cláudia Manuela Pereira Córdova Marcos (arguente)

Professora Adjunta, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, Instituto Politécnico de Castelo Branco

Professora Doutora Carina Alexandra Pereira Valente (orientadora)

Professora Adjunta, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, Instituto Politécnico de Castelo Branco



## **Resumo**

O tabagismo é um dos principais fatores de risco para diversas patologias malignas, incluindo o cancro da cavidade oral e doenças periodontais. Este estudo tem como objetivo avaliar as alterações na morfologia das células da cavidade oral em fumadores e não fumadores.

A amostra incluiu 39 participantes (17 fumadores e 22 não fumadores), com idades entre os 18 e os 25 anos, recrutados na Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias. As amostras citológicas foram colhidas da cavidade oral através de esfregaços por citologia convencional e posteriormente analisadas por microscopia ótica e software ImageJ.

Os resultados revelaram diferenças significativas na área celular ( $p = 0,0002$ ) e área nuclear ( $p < 0,000001$ ), com valores superiores nos fumadores em comparação ao grupo controlo. A celularidade também se mostrou aumentada de forma significativa nos fumadores ( $p = 0,0168$ ).

Conclui-se que o tabagismo parece ter impacto a nível celular mesmo com curto tempo de exposição ao cigarro e que a citologia esfoliativa constitui um método eficaz e não invasivo para deteção precoce de alterações celulares induzidas pelo tabagismo. Este estudo destaca a relevância do rastreio morfológico celular em populações jovens e assintomáticas, reforçando a importância de medidas de prevenção e monitorização da saúde oral.

## **Palavras chave**

Tabagismo, cavidade oral, citologia esfoliativa, alterações celulares.



## **Abstract**

Smoking is one of the main risk factors for various malignant pathologies, including oral cavity cancer and periodontal diseases. This study aims to evaluate morphological changes in oral cavity cells in smokers and non-smokers.

The sample consisted of 39 participants (17 smokers and 22 non-smokers), aged between 18 and 25 years, recruited from Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias. Cytological samples were collected from the oral cavity using conventional cytology smears and subsequently analyzed through optical microscopy and ImageJ software.

The results revealed significant differences in cell area ( $p = 0.0002$ ) and nuclear area ( $p < 0.000001$ ), with higher values observed in smokers compared to the control group. Cellularity was also significantly increased in smokers ( $p = 0.0168$ ).

This study concludes that smoking appears to have a cellular-level impact even with a short duration of exposure, and that exfoliative cytology is an effective and non-invasive method for the early detection of smoking-induced cellular changes. This study highlights the relevance of cellular morphological screening in young, asymptomatic populations, reinforcing the importance of oral health prevention and monitoring strategies.

## **Keywords**

Smoking, oral cavity, exfoliative cytology, cellular changes



# Índice

Resumo .....	V
Abstract .....	VII
Lista de tabelas e figuras .....	X
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos .....	XI
<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Materiais e métodos .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Desenho do estudo e amostragem populacional .....</b>	<b>2</b>
<b>2.2. Colheita e processamento da amostra .....</b>	<b>2</b>
<b>2.3. Avaliação dos parâmetros morfológicos .....</b>	<b>3</b>
<b>2.4. Análise estatística .....</b>	<b>3</b>
<b>2.5. Considerações Éticas .....</b>	<b>4</b>
<b>3. Resultados .....</b>	<b>4</b>
<b>3.1. Características da população .....</b>	<b>4</b>
<b>3.2. Características dos fumadores .....</b>	<b>5</b>
<b>3.3. Características citomorfológicas da cavidade oral em fumadores e não fumadores .....</b>	<b>6</b>
<b>4. Discussão .....</b>	<b>9</b>
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>10</b>
<b>6. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>11</b>
<b>7. Anexos .....</b>	<b>13</b>

## Lista de tabelas e figuras

**Tabela 1:** Características da população estudada..... 5

**Tabela 2:** Perfil de consumo tabágico do grupo de fumadores ..... 6

**Tabela S1:** Diferenças nos parâmetros citomorfológicos em amostras de fumadores e não fumadores após exclusão de indivíduos que reportam consumo de álcool e drogas ilícitas superior a 3x/semana..... 13

**Figura 1:** Comparação da celularidade, número de células inflamatórias (neutrófilos polimorfonucleares, PMNs) e halos perinucleares nas amostras da mucosa oral de fumadores (vermelho) e não fumadores (preto). Linhas e barras verdes indicam mediana e intervalo interquartil, respectivamente. \*,  $p < 0.05$ ; ns, não significativo. Teste U de Mann-Whitney..... 7

**Figura 2:** Imagens representativas de celularidade elevada em amostras de fumadores (A), celularidade inferior em amostras de não fumadores (B) e presença mais acentuada de PMNs em amostras de fumadores (C). Coloração de Papanicolaou, ampliação total 400x..... 7

**Figura 3:** Parâmetros morfométricos avaliados em grande ampliação em amostras de citologia da cavidade oral de fumadores (vermelho) e não fumadores (preto). (A) Avaliação da área total da célula, da área do núcleo e da relação núcleo/citoplasma em células de fumadores e não fumadores. (B) Comparação da intensidade da coloração do núcleo (cromasia) entre fumadores e não fumadores. Linhas e barras verdes indicam mediana e intervalo interquartil, respectivamente..... 8

## **Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos**

**DNA:** Ácido desoxirribonucleico

**ESALD:** Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias

**IIQ:** Intervalo interquartil

**NNK:** 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona

**NNN:** N'-nitrosornicotina

**(N/C):** Relação núcleo/citoplasma

**OMS:** Organização Mundial da Saúde

**PMN:** Polimorfonucleares

**TIFF:** Tagged Image File Format



## 1. Introdução

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) mais de 8 milhões de pessoas morrem anualmente por causas associadas ao tabagismo e 1,3 milhões de não fumadores morrem por causas associadas ao tabagismo passivo(1). A OMS alerta também que 9 em cada 10 fumadores começam a fumar antes dos 18 anos (2). Em Portugal, segundo o Instituto Nacional de Estatística, em 2019, 17% da população com mais de 15 anos era fumadora, em que 1,3 milhões de pessoas (14,2%) fumavam diariamente (3).

O tabagismo é um fator de risco para diversas patologias como tumores pulmonares, doenças cardiovasculares e patologias na cavidade oral, nomeadamente cancro da cavidade oral e doenças periodontais (4,5).

O cancro da cavidade oral representa cerca de 2-3% de todos os cancros, sendo que em certas zonas geográficas esta percentagem é mais elevada. O carcinoma espinho-celular, que se origina na mucosa oral, representa cerca de 90% de todas estas neoplasias, sendo que as restantes incluem tumores malignos das glândulas salivares, tumores ósseos, sarcomas, tumores odontogénicos malignos (6).

O consumo de tabaco convencional causa estas condições pela composição tóxica do tabaco, que contém substâncias carcinogénicas como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, nitrosaminas (como NNK e NNN), formaldeído e nicotina. Estes compostos, ao serem metabolizados pelo organismo, criam intermediários reativos que se podem ligar ao DNA, dando origem a mutações que aumentam o risco de aparecimento de tumor (7).

Os cigarros eletrónicos foram desenvolvidos como uma alternativa não terapêutica ao tabagismo convencional, com o objetivo de reduzir os danos causados pelas substâncias presentes nos cigarros tradicionais (8). Embora aqueçam o tabaco em vez de o queimar, estes podem conter aditivos, sabores e compostos químicos nocivos. Mesmo sem efeitos a longo prazo totalmente esclarecidos, já se sabe que estes dispositivos libertam substâncias tóxicas, como formaldeído, metais pesados e nitrosaminas, associadas ao cancro e outras doenças (9).

Diversos estudos relacionam o tabagismo com alterações citomorfológicas na mucosa oral de fumadores de tabaco convencional e eletrónico, demonstrando que há aumento nuclear e da relação núcleo/citoplasma, hipercromasia, pleomorfismo, micronúcleos e membranas irregulares em fumadores (10–14).

Apesar da diversidade de estudos em indivíduos considerados de alto risco, como fumadores intensivos, existe uma escassez evidente de estudos direcionados a populações jovens e assintomáticas, com padrões de consumo menos intensos. Esta ausência de dados é preocupante, uma vez que as alterações celulares podem surgir mesmo antes de existirem sinais clínicos. Tendo em conta que o cancro oral apresenta uma taxa de sobrevivência aos 5 anos inferior a 55% e está

frequentemente associado a elevada morbilidade funcional e estética, a deteção precoce das alterações induzidas pelo tabaco assume particular relevância para melhorar o prognóstico e a qualidade de vida dos doentes (6,10).

A citologia esfoliativa, é uma técnica sensível, rápida e não invasiva que permite a identificação precoce de alterações morfológicas na mucosa oral, podendo ser usada como um preditor precoce de lesões pré-malignas (11,12,15,16).

Assim, este estudo tem como objetivo avaliar as alterações na morfologia das células da cavidade oral em fumadores e não fumadores, em alunos da Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Desenho do estudo e amostragem populacional**

Este transversal e quantitativo estudo envolveu participantes com idades entre 18 e 25 anos, recrutados na ESALD. Foi realizado com 39 participantes, os quais foram agrupados de acordo com o seu consumo tabágico: grupo 1, constituído por 17 fumadores de cigarro convencional e cigarro eletrónico e o grupo 2 constituído por 22 não fumadores (grupo controlo).

Cada participante recebeu, via e-mail, um questionário estruturado com o propósito de recolher informação relativamente a dados sociodemográficos, antecedentes clínicos, hábitos tabágicos e estilo de vida. Os dados obtidos permitiram proceder à aplicação dos critérios de inclusão e exclusão previamente definidos, bem como à alocação dos participantes ao grupo experimental ou ao grupo de controlo, conforme aplicável.

Neste estudo foram aceites indivíduos saudáveis entre os 18-25 anos, fumadores exclusivos de cigarro convencional, fumadores exclusivos de cigarro eletrónico, não fumadores e indivíduos sem histórico de doenças orais graves. Os indivíduos foram considerados fumadores se fumaram pelo menos 1 cigarro por dia nos últimos seis meses. Foram excluídos indivíduos com histórico de doenças orais malignas, uso de próteses dentárias ou aparelhos ortodônticos e uso abusivo de drogas e álcool (diariamente).

### **2.2. Colheita e processamento da amostra**

A amostra foi colhida com recurso a uma escova citológica (nylon), com cinco passagens por região amostrada. As regiões amostradas foram a região dorsal da língua e a região labial interna (lábio inferior). Estas áreas foram escolhidas por serem áreas da cavidade oral em que o revestimento epitelial é não queratinizado. Para a realização do esfregaço, a escova foi passada numa área delimitada 3 cm

x 2,5 cm de uma lâmina de microscópio, em movimentos unidirecionais e com rotação da escova citológica. A delimitação da área em que o esfregaço foi realizado teve como objetivo facilitar a avaliação microscópica e padronizar os esfregaços de modo a poderem ser feitas comparações entre grupos. De seguida, as amostras foram fixadas em etanol a 95% e coradas pela coloração de Papanicolaou. O protocolo utilizado foi adotado do livro *Bancroft's Theory And Practice Of Histological Techniques*, em que, primeiramente, as lâminas devem ser colocadas em etanol 95% por 15 minutos, seguidas de imersão em etanol 70% por 2 minutos. Em seguida, as lâminas são lavadas em água corrente. Segue-se a coloração com hematoxilina de Harris II durante 5 minutos, seguida de uma nova lavagem em água corrente por 2 minutos. A diferenciação das lâminas é realizada numa solução de ácido clorídrico a 0,5% por 10 segundos, seguida de azulamento em água corrente por 5 minutos. As lâminas devem ser então imersas em etanol 70% por 2 minutos, seguidas de duas imersões sucessivas em etanol 95%, cada uma com duração de 2 minutos. Após estas etapas, as lâminas são colocadas em Orange G por 2 minutos, seguidas de duas imersões rápidas em etanol 95% por 30 segundos cada. As lâminas são depois colocadas em EA-50 durante 3 minutos e de seguida em duas imersões rápidas em etanol 95% por 30 segundos cada. Por fim, as lâminas são colocadas em xilol durante pelo menos 1 minuto para que possam ser montadas com o meio de montagem Entellan™(17).

### **2.3. Avaliação dos parâmetros morfológicos**

As amostras foram avaliadas por microscopia ótica recorrendo a duas abordagens. Para avaliação da celularidade, presença de halos perinucleares e número de células inflamatórias, foram avaliados 10 campos de média ampliação (objetiva 10x). A avaliação foi realizada por dois observadores de forma cega e independente. Para avaliação de parâmetros citomorfológicos (área celular total, área nuclear e cromasia nuclear) foi efetuada uma análise quantitativa com recurso ao software ImageJ. Para cada amostra foram adquiridas imagens de 10 campos de grande aumento (objetiva de 40x), cumprindo o critério de celularidade de pelo menos quatro células epiteliais nucleadas por campo (18). As imagens foram gravadas em formato TIFF. Para cada imagem foram analisadas quatro células, tendo sido definidas e medidas, para cada célula, a área total e a área nuclear. As medições foram efetuadas em pixéis. A intensidade média de coloração para a área nuclear definida para cada célula foi também quantificada.

### **2.4. Análise estatística**

De modo a identificar o tipo de distribuição dos dados, recorreu-se ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Consoante o resultado desse teste, aplicaram-se medidas de estatística descritiva apropriadas, em que a média e desvio padrão foram usadas para

variáveis com distribuição normal e mediana e intervalo interquartil para variáveis com distribuição não normal.

Para comparações entre variáveis categóricas foi aplicado o teste exato de Fisher visto que o tamanho da amostra é pequeno.

As comparações entre os grupos Fumadores e Não Fumadores foram realizadas através do teste U de Mann-Whitney visto que as variáveis apresentavam uma distribuição não normal.

Todos os testes estatísticos foram realizados com recurso ao software GraphPad, adotando-se um nível de significância estatística de  $p \leq 0,05$ .

## **2.5. Considerações Éticas**

Este estudo foi validado e mereceu o parecer positivo da Comissão de Ética do Instituto Politécnico de Castelo Branco (parecer nº 204/CE-IPCB/2025). Por outro lado, foi pedida e obtida autorização do Encarregado de Proteção de Dados do IPCB. Por último, de forma a participar no estudo, cada participante assinou o consentimento informado voluntariamente.

## **3. Resultados**

### **3.1. Características da população**

A Tabela 1 apresenta as características sociodemográficas, bem como os hábitos de consumo de álcool e de drogas ilícitas dos 39 participantes do estudo, todos com idades entre 18 e 25 anos.

Entre os participantes, 17 eram fumadores e 22 não fumadores. No grupo de fumadores, 8 eram do sexo masculino e 9 do sexo feminino. Entre os não fumadores, 5 eram do sexo masculino e 17 do sexo feminino.

Em relação ao consumo de bebidas alcoólicas, 4 dos não fumadores afirmaram nunca consumir este tipo de bebida, enquanto nenhum fumador referiu abstinência completa. O consumo ocasional (raramente) foi reportado por 3 fumadores e 11 não fumadores. A frequência de 1 a 2 vezes por semana foi mencionada por 11 fumadores e 7 não fumadores, enquanto apenas 3 fumadores relataram consumir álcool mais de 3 vezes por semana.

Quanto ao consumo de drogas ilícitas, todos os não fumadores afirmaram nunca ter feito uso dessas substâncias. Entre os fumadores, 7 declararam nunca ter consumido, 8 relataram consumo raro, 1 referiu uso de 1 a 2 vezes por semana, e 1 relatou consumo superior a 3 vezes por semana.

Tabela 1- Características da população estudada

Variável	Fumadores (n=17), 43,59%	Não fumadores (n=22), 56,41%	Valor p <sup>a,b</sup>
<b>Idade</b> (média±desvio padrão)	19.76±1.39	19.45±1.60	0.4145 <sup>a</sup>
<b>Sexo</b>			
Masculino	8 (47.1%)	5 (22.7%)	0.1721 <sup>b</sup>
Feminino	9 (52.9%)	17 (77.3%)	
<b>Consumo de álcool</b>			
Nunca	0 (0%)	4 (18,2%)	0.1179 <sup>b</sup>
Raramente	3 (17.65%)	11(50%)	0.0490 <sup>b</sup>
1-2 vezes / semana	11(64.71%)	7(31,8%)	0.0566 <sup>b</sup>
> 3 vezes / semana	3(17.65%)	0 (0%)	0.0744 <sup>b</sup>
<b>Consumo de drogas</b>			
Nunca	7 (41,18%)	22 (100%)	0.0001 <sup>b</sup>
Raramente	8 (47,06%)	0 (0%)	0.0004 <sup>b</sup>
1-2 vezes / semana	1 (5,88%)	0 (0%)	0.4359 <sup>b</sup>
> 3 vezes / semana	1(5,88%)	0 (0%)	0.4359 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Utilizou-se o teste U de Mann-Whitney para avaliar a significância estatística.

<sup>b</sup> Utilizou-se o teste exato de Fisher para avaliar a significância estatística.

### 3.2. Características dos fumadores

No grupo dos fumadores, os indivíduos foram classificados segundo a quantidade de tabaco consumida, o tempo de consumo tabágico e o tipo de tabaco consumido. Estes dados podem ser encontrados na Tabela 2.

Verificou-se que a maioria dos participantes (n = 11) reportou um tempo de consumo entre 1-5 anos, enquanto 4 indivíduos indicaram fumar há mais de 5 anos. Apenas 2 participantes (11,8%) referiram um tempo de consumo inferior a 1 ano, evidenciando uma menor proporção de fumadores recentes no grupo analisado.

Relativamente à quantidade de cigarros consumidos diariamente, observou-se que a maior proporção dos fumadores (47,1%) declarou fumar 1-5 cigarros por dia. Um total de 29,4% dos indivíduos consumia 11-20 cigarros por dia, e 23,5% referiram um consumo entre 6-10 cigarros por dia. Há um padrão de consumo predominantemente baixo a moderado entre os participantes.

**Tabela 2-** Perfil de consumo tabágico do grupo de fumadores.

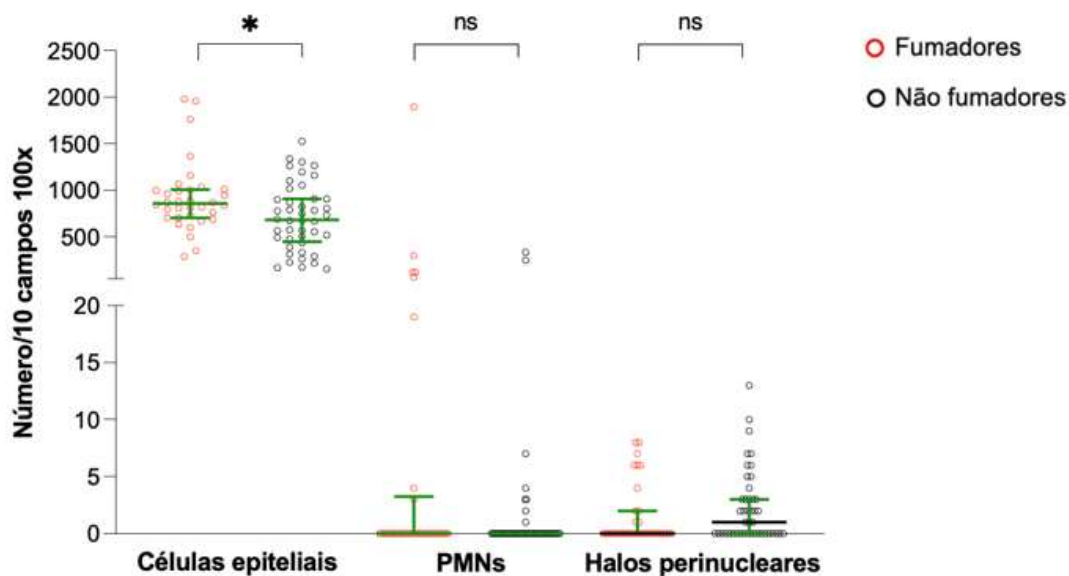
Variável	n	%
<b>Tempo de consumo tabágico</b>		
< 1 ano	2	11,8%
1-5 anos	11	64,7%
> 5 anos	4	23,5%
<b>Número de cigarros por dia</b>		
1-5	8	47,1%
6-10	4	23,5%
11-20	5	29,4%
<b>Tipo de cigarro consumido</b>		
Convencional	6	35,3%
Eletrónico	11	64,7%

Quanto ao tipo de tabaco consumido, constatou-se uma maior proporção do uso de cigarros eletrónicos em comparação com o cigarro convencional.

### 3.3. Características citomorfológicas da cavidade oral em fumadores e não fumadores

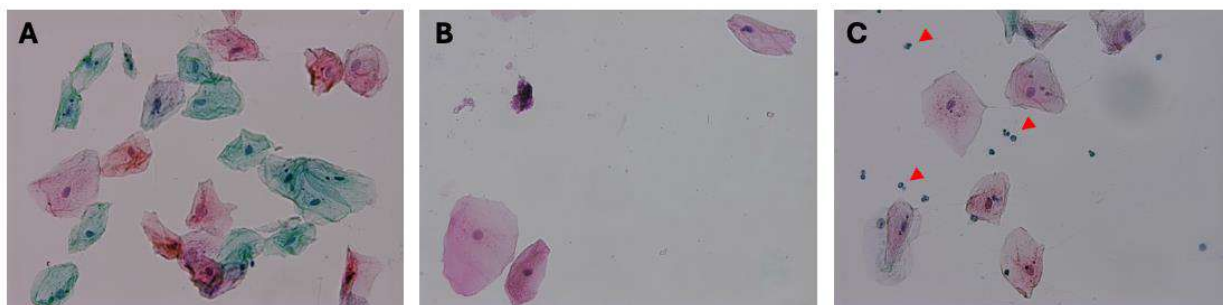
A análise microscópica das amostras de citologia da cavidade oral em média ampliação focou-se na comparação da celularidade, quantidade de células inflamatórias e presença de halos perinucleares entre os dois grupos (Figura 1).

A avaliação microscópica revelou uma diferença estatisticamente significativa na celularidade entre fumadores e não fumadores ( $p = 0,0168$ , Teste U de Mann-Whitney). O grupo dos fumadores apresentou uma mediana de 858 células (intervalo interquartil (IIQ) 288–1980), valor superior ao observado nos não fumadores, cuja mediana foi de 683 células (intervalo interquartil (IIQ) 157- 1526). Estes resultados indicam uma maior abundância celular nas amostras provenientes de indivíduos fumadores (exemplificado nas Figuras 2A e 2B).



**Figura 1.** Comparação da celularidade, número de células inflamatórias (neutrófilos polimorfonucleares, PMNs) e halos perinucleares nas amostras da mucosa oral de fumadores (vermelho) e não fumadores (preto). Linhas e barras verdes indicam mediana e intervalo interquartil, respetivamente. \*,  $p < 0.05$ ; ns, não significativo. Teste U de Mann-Whitney.

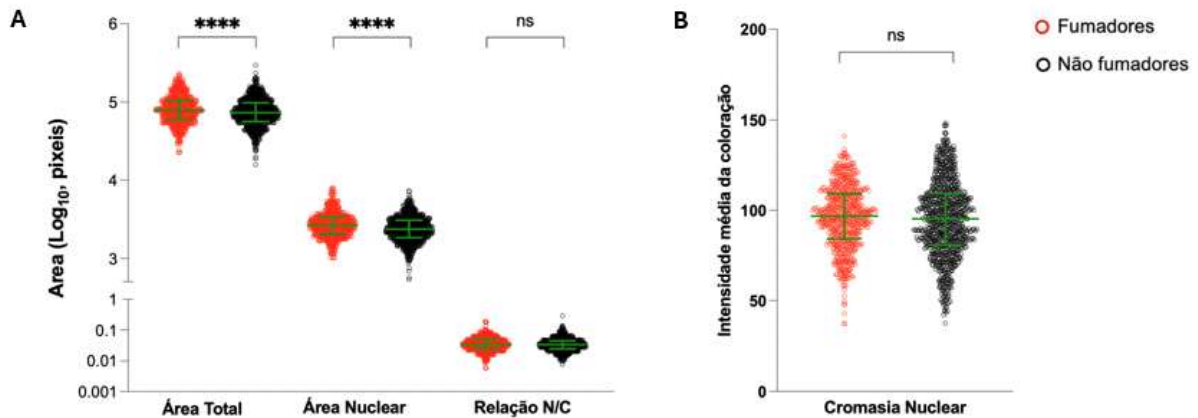
Em relação à contagem de células inflamatórias (PMNs), não se verificou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p = 0,1809$ , Teste U de Mann-Whitney). Em ambos os grupos a mediana foi 0, no entanto, os fumadores apresentaram uma maior variabilidade (IIQ 0–1895) em comparação com os não fumadores (IIQ 0–335), sugerindo uma possível tendência para inflamação mais heterogênea no grupo exposto ao tabaco (exemplificado na Figura 2C).



**Figura 2.** Imagens representativas de celularidade elevada em amostras de fumadores (A), celularidade inferior em amostras de não fumadores (B) e presença mais acentuada de PMNs em amostras de fumadores (C). Coloração de Papanicolaou, ampliação total 400x.

Quanto à presença de halos perinucleares, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p = 0,09285$ , Teste U de Mann-Whitney), embora tenha sido registada uma maior frequência relativa no grupo dos fumadores.

A análise microscópica efetuada em grande ampliação e quantificada por ImageJ foi focada nos parâmetros área total e área nuclear, a partir dos quais se determinou a relação núcleo/citoplasma (N/C), e cromasia nuclear. Estes resultados estão representados na Figura 3.



**Figura 3.** Parâmetros morfométricos avaliados em grande ampliação em amostras de citologia da cavidade oral de fumadores (vermelho) e não fumadores (preto). **(A)** Avaliação da área total da célula, da área do núcleo e da relação núcleo/citoplasma em células de fumadores e não fumadores. **(B)** Comparação da intensidade da coloração do núcleo (cromasia) entre fumadores e não fumadores. Linhas e barras verdes indicam mediana e intervalo interquartil, respetivamente.

A análise morfométrica revelou uma diferença estatisticamente significativa na área celular entre fumadores e não fumadores ( $p = 2,416851e-4$ , Teste U de Mann-Whitney). A mediana da área celular foi superior no grupo dos fumadores (78909 píxeis, IIQ 22454–233894) em comparação com os não fumadores (73340 píxeis, IIQ 15850–296297), indicando uma tendência para células maiores entre os indivíduos expostos ao tabaco.

A área nuclear também foi significativamente superior nos fumadores ( $p = 4,851e-9$ , Teste U de Mann-Whitney), com uma mediana de 2671 píxeis (IIQ 1028–7877), em contraste com 2365 píxeis (IIQ 539–7316) observada nos não fumadores, sugerindo aumento nuclear associado ao hábito tabágico.

Por outro lado, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na cromasia nuclear ( $p = 0,2568$ , Teste U de Mann-Whitney), nem na relação núcleo/citoplasma (N/C) entre os grupos ( $p = 0,06027$ , Teste U de Mann-Whitney), embora esta última se aproxime do limiar da significância estatística.

## 4. Discussão

Este estudo teve como objetivo avaliar as alterações na morfologia das células da cavidade oral em fumadores e não fumadores, em alunos da Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias.

A análise do perfil dos participantes revelou uma homogeneidade geral entre grupos. No entanto, foi identificada diferença significativa entre grupos no consumo de drogas ilícitas e álcool, com maior prevalência entre fumadores. Embora o consumo regular tenha sido baixo, não podemos excluir a hipótese de estes comportamentos atuarem como um fator de confundimento nos resultados obtidos. Harrandah et al. reforçam a importância de controlar estes fatores externos em estudos citomorfológicos (12). No presente estudo, tendo em conta as diferenças observadas entre grupos e o facto de termos definido o consumo de drogas ilícitas e álcool excessivo como ingestão diária destes elementos, decidimos repetir a análise estatística excluindo os indivíduos que reportavam ter ingerido mais de três vezes por semana. Essa análise revelou que as diferenças citomorfológicas encontradas entre amostras de fumadores e não fumadores se mantêm (Tabela S1), razão pela qual esses indivíduos foram mantidos no estudo.

É importante destacar a elevada prevalência do uso de cigarros eletrónicos no grupo de fumadores (64,7%). Estudos recentes indicam que, embora os cigarros eletrónicos apresentem um perfil tóxico diferente do cigarro convencional, estes dispositivos não estão isentos de impacto sobre a mucosa oral, sendo associados a alterações celulares comparáveis às observadas nos fumadores de cigarro tradicional (9).

Foi observada uma celularidade significativamente superior nas amostras de fumadores comparativamente às de não fumadores. Embora não seja diretamente um marcador específico, este aumento de celularidade pode refletir um processo reativo do epitélio oral induzido pela exposição aos componentes do tabaco. Tal como referido por Palakurthy et al., o aumento da descamação celular e proliferação celular pode ser observado em tecidos sujeitos à agressão contínua de agentes tóxicos, como os presentes no fumo do cigarro. Visto isto, o aumento da celularidade pode ser o resultado dessa proliferação (16)

Não foi encontrada diferença significativa na presença de polimorfonucleares (PMN) ou de halo perinuclear, o que pode indicar que o processo inflamatório subjacente ao consumo tabágico, previamente documentado (19), ainda não se encontra amplamente estabelecido, ou que não se manifesta de forma evidente nas fases iniciais da exposição tabágica.

Neste estudo observou-se que a área celular em amostras de fumadores é significativamente superior à de não fumadores. Este resultado contrasta com os resultados obtidos por Seifi et al., em que foi observada uma diminuição da área do citoplasma (19). No entanto, deve ser salientado que o consumo tabágico no grupo de fumadores do estudo de Seifi et al. era intenso e prolongado. Da escassa

literatura existente em fumadores jovens, um estudo refere um aumento da área celular em amostras de fumadores, embora não tenha sido alcançada significância estatística (20). Embora sejam necessários estudos para comprovar esta hipótese, uma possível explicação para este resultado é o aumento da espessura do epitélio em resposta ao fumo do tabaco, previamente documentado, muitas vezes acompanhada de hipertrofia (21), que se traduz num aumento da área celular.

O aumento da área nuclear verificado é consistente com os mecanismos descritos por Xue et al. em que as nitrosaminas específicas do tabaco (NNK, NNN) promovem alterações no DNA e hiperatividade celular, frequentemente expressas como aumento nuclear e hiper cromasia em fases precoces da transformação celular (7). Kokila et al também relataram um aumento acentuado da área nuclear entre fumadores em relação a não fumadores (22).

Quanto à razão núcleo/citoplasma (N/C) e cromasia nuclear, o presente estudo identificou uma tendência para valores mais elevados nos fumadores, mas sem alcançar significância estatística ( $p = 0,06027$ ), e uma diferença não significativa, respetivamente. Já Harrandah et al. identificaram um aumento significativo dessa razão em todos os grupos de fumadores. Isto pode ser explicado pela natureza precoce das alterações celulares nesta população jovem com consumo tabágico relativamente recente e pouco intenso (12).

Por fim, a utilização da citologia esfoliativa como método de avaliação mostrou-se adequada, pois permitiu identificar alterações precoces e não invasivas numa população sem tabagismo intenso, características que tornam especialmente adequada para monitorização de indivíduos jovens ou assintomáticos com comportamentos que aumentam o risco de cancro da cavidade oral.

## **5. Conclusão**

O presente estudo evidenciou que o tabagismo, mesmo em populações jovens e com consumo tabágico ligeiro, promove alterações morfológicas significativas nas células da mucosa oral. Foi possível observar um aumento estatisticamente significativo na área celular e nuclear entre fumadores em comparação com não fumadores, o que sugere uma resposta adaptativa ou lesiva da mucosa oral à exposição a agentes tóxicos presentes no tabaco, incluindo nos cigarros eletrónicos.

A utilização da citologia esfoliativa demonstrou ser uma ferramenta não invasiva, acessível e eficaz na identificação precoce de alterações morfológicas associadas ao consumo de tabaco. Estes achados reforçam a necessidade de estratégias preventivas e de rastreio em populações jovens, mesmo antes do aparecimento de sinais clínicos evidentes. No entanto, deve ser considerado realizar estudos com uma amostra maior e com seguimento dos participantes ao longo do tempo, com o objetivo de aprofundar a compreensão dos efeitos cumulativos do tabagismo na saúde oral de populações jovens.

## 6. Referências Bibliográficas

1. WHO report on the global tobacco epidemic, 2023 Protect people from tobacco smoke fresh and alive.
2. TI-Youth Manipulation (2022).
3. Inquérito Nacional de Saúde-2019.
4. Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence. *Lung Cancer* [Internet]. 2004;45:3–9. Available from: [www.elsevier.com/locate/lungcan](http://www.elsevier.com/locate/lungcan)
5. Ford PJ, Rich AM. Tobacco Use and Oral Health. *Addiction*. 2021 Dec 1;116(12):3531–40.
6. GUIA PARA PROFISSIONAIS DE SAÚDE | INTERVENÇÃO PRECOCE NO CANCRO ORAL.
7. Xue J, Yang S, Seng S. Mechanisms of cancer induction by tobacco-specific NNK and NNN. Vol. 6, *Cancers*. MDPI AG; 2014. p. 1138–56.
8. Schwarzmeier LÂT, da Cruz BS, Ferreira CCP, Carvalho BF do C, Alves MGO, Lima Carta CF, et al. E-cig might cause cell damage of oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2021 Apr 1;131(4):435–43.
9. Cichońska D, Kusiak A, Goniewicz ML. The Impact of E-Cigarettes on Oral Health—A Narrative Review. Vol. 12, *Dentistry Journal*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
10. Salih MM, Tamr TA, Alamri AS, Khalifa EH. Impact of smoking on oral mucosa: A cytological and cellular proliferation study. *Tissue Cell*. 2025 Apr 1;93.
11. Parmar ND, Master N, Gupta DS. Study of Effect of Smoking on Cytomorphometry of Buccal Mucosal Cells among Smokers in South Gujarat Region. *National Journal of Clinical Anatomy*. 2020 Jul 1;9(3):90–6.
12. Harrandah A, Bahatheq J, Mandourah M, Kaki W, Alandonisi A, Subahi M, et al. Effect of different types of smoking on oral health and on cellular changes in oral mucosa. *Saudi Dental Journal*. 2024 Jun 1;36(6):880–6.
13. Pop AM, Coroş R, Stoica AM, Monea M. Early diagnosis of oral mucosal alterations in smokers and e-cigarette users based on micronuclei count: A cross-sectional study among dental students. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Dec 1;18(24).
14. Devadoss S, Raveendranath M, Kathiresan T, Ganesan K. Genotoxic effect of various forms of tobacco on oral buccal mucosa and nuclear changes as a biomarker. *J Pharm Bioallied Sci*. 2021 Nov 1;13(6):S1141–8.
15. Palakurthy P, Kulkarni PG, Nandan RK, Rao TM, Reddy DSP, Muddana K. Cytological changes in normal oral mucosa of individuals with tobacco habits: A

- cytomorphometric study. *Journal of Contemporary Dental Practice*. 2017 Aug 1;18(8):722–7.
16. Mehrotra R. The role of cytology in oral lesions: A review of recent improvements. *Diagn Cytopathol*. 2012 Jan;40(1):73–83.
  17. Suvarna KS, Layton C, Bancroft JD. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques E-Book*. 2019.
  18. Cibas E& DBarbara. *Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates*, 5th edition. . 2020.
  19. Seifi S, Feizi F, Mehdizadeh M, Khafri S, Ahmadi B. Evaluation of cytological alterations of oral mucosa in smokers and waterpipe users. Vol. 15, *CELL JOURNAL(Yakhteh)*. 2014.
  20. mix trade. Effect of Smoking on the Oral Mucosa of Young Individuals: Cytomorphometric Analysis.
  21. Gültekin SE, Sengüven B, Karaduman B. The Effect of Smoking on Epithelial Proliferation in Healthy and Periodontally Diseased Marginal Gingival Epithelium. *J Periodontol*. 2008 Aug;79(8):1444–50.
  22. Kokila S, Prasad H, Rajmohan M, Srichinthu KK, Mahalakshmi L, Shanmuganathan S, et al. Evaluation of Micronuclei and Cytomorphometric Changes in Patients with Different Tobacco Related Habits Using Exfoliated Buccal Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2021 Jun 1;22(6):1851–5.

## 7. Anexos

**Tabela S1-** Diferenças nos parâmetros citomorfológicos em amostras de fumadores e não fumadores após exclusão de indivíduos que reportam consumo de álcool e drogas ilícitas superior a 3x/semana.

Parâmetro	Objetiva	Fumadores (mediana,(IIQ))	Não Fumadores (mediana, (IIQ))	Valor p <sup>a</sup>
<b>Celularidade</b> (células/10 campos)	10x	858 (288-1980)	683 (157- 1526)	<b>0.0344</b>
<b>PMN</b> (células/10 campos)	10x	0 (0-1895)	0 (0-335)	0.3258
<b>Halo perinuclear</b> (halos/10 campos)	10x	0 (0-8)	1 (0-13)	0.2601
<b>Área celular</b> (píxeis)	40x	78902 (22454- 233894)	73340 (15850-296297)	<b>4.018e-4</b>
<b>Área nuclear</b> (píxeis)	40x	2618.5 (1028-7877)	2365 (539-7316)	<b>1.746e-5</b>
<b>Relação N/C</b>	40x	0.03375 (0.0059- 0.1912)	0.0337 (0.0077-0.2947)	0.4721
<b>Cromasia nuclear</b> (intensidade média)	40x	95812 (37435-133761)	95299 (37.619-148.377)	0.8516

<sup>a</sup> Teste U de Mann-Whitney