

Sommario

INTRODUZIONE	2
CAPITOLO 1. CENNI STORICI ED EPIDEMIOLOGI	3
1.1 IL TABACCO TRINCIATO	5
1.2 LA SIGARETTA ELETTRONICA (E-CIG).....	6
1.3 I DISPOSITIVI A TABACCO RISCALDATO (HTP - <i>HEATED TOBACCO PRODUCTS</i>).....	7
CAPITOLO 2: EFFETTI SISTEMICI DEL FUMO	9
2.1 DANNI DERIVATI DALL'USO DEL TABACCO.....	9
2.1.1 <i>Infezioni broncopolmonari e tumori</i>	9
2.1.2 <i>Infarto e cardiopatie ischemiche</i>	10
2.2 DANNI DERIVANTI DALL'USO DI ECG	18
CAPITOLO 3. CORRELAZIONE ABITUDINE AL FUMO E M.P.	23
CAPITOLO 4. MATERIALI E METODI	36
CAPITOLO 5: RISULTATI	39
CAPITOLO 6. DISCUSSIONE	47
CONCLUSIONI	52
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	53

INTRODUZIONE

Il fumo esercita, oggi più che mai, un'attrattiva irresistibile sui giovani. Non è un caso, infatti, che la maggior parte dei fumatori ha iniziato proprio in età adolescenziale. Da una recente indagine, condotta dall'Istituto Superiore di Sanità, è emerso che la metà dei minorenni italiani ha almeno provato a fumare e circa il 20% è un tabagista abituale. Anche se esiste una piccola percentuale dei ragazzini italiani, che accende la prima sigaretta addirittura alle scuole elementari (9-10 anni), la maggior parte inizia fra medie e superiori, in piena adolescenza.

Non sembra esserci invece una differenza di genere: sia le ragazze che i ragazzi fumano ugualmente. Alcune discrepanze si riscontrano nelle abitudini al fumo, come il consumo di tabacco o sigarette elettroniche.

Infatti, sono le ragazze ad essere fumatrici abituali di sigaretta tradizionale rispetto ai coetanei maschi, mentre la sigaretta elettronica è abitualmente usata di più dai ragazzi (22% vs 13%).

Ma se fino a qualche anno fa in commercio erano disponibili solo le Sigarette Tradizionali, dal **2010**, la sigaretta elettronica è entrata a far parte del mercato italiano. Sono sempre più i giovani in età adolescenziale a far uso di questi nuovi dispositivi, credendo inconsciamente che siano più salutari rispetto alle tradizionali sigarette a base di Tabacco ed effettivamente ad oggi, non ci sono degli studi attendibili che vanno a confermare o a smentire tale dubbio; proprio per questo, l'obiettivo di tale studio è quello di andare ad indagare quali siano gli effetti avversi a livello della salute sistemiche e in particolar modo, le problematiche che ne conseguono sulla salute Orale mettendo a confronto i diversi dispositivi attualmente in vendita tra di loro.

CAPITOLO 1. CENNI STORICI ED EPIDEMIOLOGI

Il consumo di tabacco (tabagismo) rappresenta uno dei più grandi problemi di sanità pubblica a livello mondiale ed è uno dei maggiori fattori di rischio nello sviluppo di patologie neoplastiche, cardiovascolari e respiratorie.

Il tabacco provoca più decessi di alcol, aids, droghe, incidenti stradali, omicidi e suicidi messi insieme. Il fumo di tabacco, in particolare, è una causa nota o probabile di almeno 27 malattie, tra le quali broncopneumopatie croniche ostruttive e altre patologie polmonari croniche, cancro del polmone e altre forme di cancro, cardiopatie, vasculopatie.(A)

Secondo i dati dell'OMS (B), il fumo di tabacco è la più grande minaccia per la salute e il primo fattore di rischio delle malattie croniche non trasmissibili a livello mondiale, con circa un miliardo di fumatori, di cui circa l'80% vive in Paesi a basso e medio reddito, nei quali il carico di malattia e mortalità collegato al tabacco è più pesante. Il 70% dei consumatori inizia a fumare prima dei 18 anni di età e il 94% prima dei 25 anni.

Mortalità per fumo

L'OMS (B) stima che ogni anno, **nel mondo**, più di 8 milioni di persone muoiono a causa del consumo di tabacco. La maggior parte dei decessi correlati al tabacco si verifica nei paesi a basso e medio reddito, che sono spesso bersaglio di intense interferenze e marketing dell'industria del tabacco.

Il tabacco può anche essere mortale per i non fumatori. L'esposizione al fumo passivo è stata anche implicata in esiti negativi per la salute, causando 1,2 milioni di morti ogni anno. Quasi la metà di tutti i bambini respira aria inquinata dal fumo di tabacco e 65.000 bambini muoiono ogni anno a causa di malattie legate al fumo passivo. Fumare durante la gravidanza può portare a diverse condizioni di salute per tutta la vita per i bambini.

Nell'Unione Europea il consumo di tabacco rimane il più grande fattore di rischio evitabile per la salute, ed è responsabile di 700.000 decessi ogni anno. Circa il 50% dei fumatori muore prematuramente, con conseguente perdita media di 14 anni di vita per fumatore. Il consumo di tabacco è la principale causa di cancro prevenibile, con il 27% di tutti i tumori attribuiti al consumo di tabacco. Inoltre, i fumatori hanno anche più

probabilità di soffrire di una serie di malattie a causa del loro uso di tabacco, tra cui cardiovascolari e problemi respiratori.

In Italia si stima che siano attribuibili al fumo di tabacco oltre 93.000 morti (il 20,6% del totale di tutte le morti tra gli uomini e il 7,9% del totale di tutte le morti tra le donne) con costi diretti e indiretti pari a oltre 26 miliardi di euro (Tabacco Atlas sesta edizione). Per quanto riguarda i tumori, il tabacco è il fattore di rischio con maggiore impatto a cui sono riconducibili almeno 43.000 decessi annui. **(B)**

Quasi un italiano su quattro (il 24,2% della popolazione) è un fumatore: una percentuale che non era stata mai più registrata dal 2009. Dopo un lungo periodo di stagnazione si assiste quest'anno a un incremento di 2 punti percentuali: i fumatori, infatti, erano il 22% nel 2019, ultimo anno di rilevazione pre-pandemica. La tendenza rilevata nel triennio 2017-2019 che vedeva una costante diminuzione delle fumatrici, non viene invece confermato nel 2022: quest'anno, infatti, si assiste a un incremento nella percentuale dei fumatori che riguarda entrambi i sessi. In aumento anche le persone che fumano sigarette a tabacco riscaldato: 3,3% del 2022 rispetto al 1,1% del 2019, ma più di una persona su tre (il 36,6%) le considera meno dannose di quelle tradizionali. Sono questi i dati più significativi del report dell'ISS diffuso oggi in occasione della Giornata mondiale senza tabacco di domani, promossa dall'OMS. Il tema proposto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità per il 2022 è focalizzato sull'impatto del tabacco sul pianeta: dalla coltivazione, alla produzione, alla distribuzione e ai rifiuti. La campagna mira, inoltre, a evidenziare gli sforzi dell'industria del tabacco per "apparire ecosostenibile" e migliorare la propria reputazione e quella dei suoi prodotti commercializzandoli come rispettosi dell'ambiente.

Sono 12,4 milioni i fumatori in Italia e rappresentano il 24,2% della popolazione. Gli ex fumatori sono il 14,9% della popolazione italiana e i non fumatori il 60,9%. La prevalenza più alta di fumatori di sesso maschile si registra nella fascia d'età compresa tra i 25 e i 44 anni (42,9), mentre nella fascia d'età 45-64 anni si registra la prevalenza più alta tra le donne (24,5%). Oltre i 65 anni troviamo le prevalenze più basse in entrambi i sessi. **(C)** Tra i fumatori di sesso maschile si registra anche la percentuale più alta di chi fuma più di 20 sigarette al giorno (25,6% rispetto al 13,4% delle donne) mentre tra le fumatrici la percentuale più bassa di chi fuma meno di 9 sigarette al giorno (36,0% rispetto al 31,4% degli uomini). Quasi la metà dei giovani fumatori nella fascia d'età 15-24 anni (49,8%)

fuma meno di 9 sigarette al giorno, sebbene il 45,5% di essi consumi tra le 10 e le 19 sigarette/die.

Si fumano in media 11,5 sigarette al giorno. Il consumo medio giornaliero di sigarette si conferma in diminuzione, sebbene tale diminuzione consista di fatto nella riduzione di 2 sigarette in 10 anni (erano 13,6 sigarette/die nel 2011), con ancora il 20,4% di fumatori che consumano più di 20 sigarette al giorno.

Rispetto all'area geografica, la prevalenza di fumatori è più alta al Sud in entrambi i sessi: 32,6% negli uomini, 21,6% nelle donne.

Si fumano principalmente sigarette confezionate (84,9%) e sigarette fatte a mano (14,9%), sebbene queste percentuali siano in diminuzione rispetto a quanto registrato nel 2019 (90,2% per le sigarette tradizionali, 18,3% per le sigarette fatte a mano). Le sigarette fatte a mano sono significativamente più diffuse tra i giovani di sesso maschile e residenti nelle regioni del Centro Italia. (C)

A partire dal 2014 PASSI (D) ha iniziato a raccogliere informazioni anche sull'uso di altri prodotti immessi sul mercato:

1.2 La sigaretta elettronica (dal 2014),

1.1 Il tabacco trinciato (cioè sigarette confezionate a mano con tabacco sciolto, dal 2015)

1.3 I dispositivi a tabacco riscaldato (dal 2018).

1.1 Il tabacco trinciato

Negli ultimi anni le vendite di tabacchi trinciati sono andate aumentando nell'Unione europea e anche in Italia. La loro maggiore diffusione è in parte spiegata dal minor costo (determinato da una minore pressione fiscale rispetto a quella imposta sulle sigarette confezionate) ma anche dal falso preconcetto che fumare sigarette confezionate a mano con tabacco sciolto sia meno dannoso per la salute, per l'uso di un tabacco più naturale e con meno additivi rispetto a quello utilizzato nelle sigarette confezionate industrialmente. In realtà i danni alla salute sono gli stessi. Per cui è grande la preoccupazione che il ricorso alle più economiche sigarette rollate a mano possa rendere debole una delle misure di contrasto al tabagismo più efficace, la pressione fiscale e l'aumento dei prezzi al consumo delle sigarette confezionate, che riduce la domanda e la prevalenza di fumatori. Ancora

più grave è la possibilità che, in virtù del minor costo dei trinciati, segmenti della popolazione, come i meno abbienti o i più giovani, diventino insensibili alle politiche fiscali dei prezzi, e possano migrare verso questo prodotto più economico ma altrettanto dannoso per la salute, contribuendo così anche all'incremento delle disuguaglianze sociali nel tabagismo. Nel biennio 2021-2022 poco meno del 15% dei fumatori intervistati dichiara di utilizzare esclusivamente o prevalentemente sigarette confezionate a mano con tabacco trinciato. Utilizzato più frequentemente dai giovani fumatori 18-24enni (26%) e mediamente più istruiti (20% fra i laureati), ma fra le persone più mature per età, l'uso dei trinciati è prerogativa dei meno abbienti. I dati annuali confermano un aumento progressivo e significativo di chi usa questo tipo di prodotti, dall'11% del 2015 al 15% del 2022. (D)

1.2 La sigaretta elettronica (e-cig)

La sigaretta elettronica è un dispositivo che, riscaldando una soluzione di una sostanza (in genere glicole propilenico o glicerolo con o senza nicotina o aromi), produce aerosol; l'inalazione di questo aerosol consente di provare sapore e sensazione simili a quelle provocate dal fumo di tabacco, con la differenza sostanziale che, mancando la combustione, il rischio cancerogeno è teoricamente più basso. Ciononostante, il rischio di dipendenza da nicotina resta lo stesso, dal momento che in pochi utilizzano questo dispositivo senza il ricorso all'aggiunta di nicotina liquida. A partire dalla loro immissione sul mercato nel 2006, in Italia si è verificato un forte interesse da parte di fumatori alla ricerca di alternative meno nocive al tabacco, o di un ausilio per smettere di fumare, con un conseguente incremento nelle vendite. D'altra parte, a causa della novità del prodotto, della varietà delle sostanze impiegate e della rapidità della sua diffusione è stato ed è tuttora difficile ottenere prove certe sulla loro sicurezza a lungo termine e sulla loro efficacia per smettere di fumare. Nel biennio 2021-2022 l'uso della sigaretta elettronica coinvolge mediamente poco più del 3% della popolazione, ma è più frequente fra i più giovani di 18-24 anni (6%). I dati annuali mostrano un lento e modesto aumento dell'uso della sigaretta elettronica fra i residenti in Italia che passa da poco meno del 2% del 2014 al 4% nel 2022. Dai dati della GYTS (*Global Youth Tobacco Survey*) (E) sull'uso delle sigarette elettroniche tra i giovani, risulta che sono più che raddoppiati gli studenti che la utilizzano

passando dallo 0% nel 2010, all'8,4% del 2014 al 17,5% del 2018; in particolare sono i ragazzi a usarla abitualmente di più (21,9%) rispetto alle ragazze (12,8%). Sono quasi triplicati gli studenti che fanno uso esclusivamente di sigarette elettroniche dal 2,9% nel 2014 all'8,2% nel 2018 mentre se consideriamo gli utilizzatori duali che fanno uso sia di sigarette tradizionali che elettroniche arriviamo a una prevalenza del 27,9% in aumento rispetto al 2014 (26,3%). Il 76% dei giovani (13-15 anni) afferma inoltre di avere facilmente accesso a questo tipo di prodotto la cui vendita è però vietata a chi ha meno di 18 anni. (E)

1.3 I dispositivi a tabacco riscaldato (HTP - *Heated Tobacco Products*)

Si tratta di un prodotto entrato nel mercato solo recentemente, nel 2016 (per la prima volta in Giappone, con un grande boom di vendite) Funziona inserendo una piccola sigaretta di tabacco all'interno un apparecchio che scalda il tabacco senza bruciarlo. Per questa ragione viene pubblicizzato come un prodotto meno nocivo alla salute, alternativo alla sigaretta. Tuttavia, essendo questo dispositivo a base di tabacco espone comunque alla dipendenza da nicotina, sostanza naturalmente contenuta nelle foglie del tabacco. Dal 2018 PASSI (D) ha iniziato a raccogliere informazioni sull'uso di questo prodotto che in Italia è ancora appannaggio di pochissime persone, meno del 3% nel biennio 2021-2022, ma in aumento significativo dallo 0,5% del 2018 al 3,4% nel 2022. I numeri sono troppo contenuti per evidenziare differenze significative o un profilo particolare di consumatori di questo prodotto ma mettono già in luce un uso più frequente fra i più giovani di 18-24 anni (6%).

Utilizzo composito di sigarette tradizionali e di dispositivi elettronici (e-cig e/o HTP) Interessanti sono i dati sull'utilizzo composito dei diversi prodotti commercializzati dalle multinazionali del tabacco, dalla sigaretta tradizionale alla sigaretta elettronica (che non prevede l'uso di tabacco ma di nicotina dosabile) fino ai più recenti dispositivi a di tabacco riscaldato (HTP). Questi dati mettono in luce come l'adozione di dispositivi elettronici non sembri rappresentare una scelta verso l'abbandono della sigaretta tradizionale (cui viene attribuito un rischio maggiore per la salute a causa della combustione del tabacco e della presenza della nicotina contenuta nel tabacco), ma piuttosto l'occasione per mantenere questa cattiva abitudine e fare un uso congiunto dei diversi prodotti.

Nel biennio 2021-2022 a fronte di una quota di fumatori pari al 24% fra i 18-69enni, il 20% riferisce un uso esclusivo di sigarette tradizionali e il 4% dichiara sia di fumare sigarette tradizionali che di utilizzare un dispositivo elettronico (fra e-cig e/o HTP); a questi si aggiunge una quota di persone (3%) che fa invece un uso esclusivo di dispositivi elettronici (e-cig e/o HTP) rimanendo comunque esposta ai rischi di dipendenza da nicotina e ai rischi residuali della combustione del tabacco (comunque presente anche nelle HTP). Il trend che si osserva dal momento in cui PASSI ha iniziato ad indagare l'uso dei nuovi dispositivi elettronici immessi sul mercato (2014 per la e-cig e 2018 per HTP) mostra una riduzione costante della quota di chi utilizza esclusivamente sigarette tradizionali a favore di un aumento di coloro che utilizzano sia sigarette tradizionali che dispositivi elettronici; cui si aggiunge poi una quota, anche questa in lenta crescita di coloro che utilizzano solo dispositivi elettronici. (C)

CAPITOLO 2: EFFETTI SISTEMICI DEL FUMO

2.1 DANNI DERIVATI DALL'USO DEL TABACCO

L'assunzione costante e prolungata di tabacco è in grado di incidere sulla durata della vita media oltre che sulla qualità della stessa: 20 sigarette al giorno riducono di circa 4,6 anni la vita media di un giovane che inizia a fumare a 25 anni. Ovvero per ogni settimana di fumo si perde un giorno di vita. Si stima che di 1.000 maschi adulti che fumano uno morirà di morte violenta, sei moriranno per incidente stradale, 250 saranno uccisi dal tabacco per patologie ad esso correlate. Gli organi colpiti dal fumo di tabacco sono molteplici: l'apparato broncopolmonare e quello cardiovascolare sono i più bersagliati. Il Center for Disease Control and Prevention - CDC degli USA (A) ha identificato 27 malattie fumo correlate. Ogni malattia ha un particolare rischio correlato al fumo. La gravità dei danni fisici dovuti all'esposizione (anche passiva) al fumo di tabacco, è direttamente proporzionale all'entità complessiva del suo abuso.

Più precisamente sono determinanti:

1. Età di inizio
2. Numero di sigarette giornaliere
3. Numero di anni di fumo
4. Inalazione più o meno profonda del fumo.

2.1.1 Infezioni broncopolmonari e tumori

Il fumo è una principale causa di:

1. Bronchite acuta e, alla lunga, bronchite cronica (presenza di tosse ed escreato per almeno tre mesi all'anno per 2 anni consecutivi) ed enfisema (abnorme allargamento degli alveoli con distruzione delle loro pareti)
2. Episodi asmatici ed infezioni respiratorie ricorrenti aumentano per incidenza e gravità. Gli idrocarburi policiclici aromatici contenuti nel "catrame" e il Polonio 210 sono invece i principali responsabili dello sviluppo di tumori, polmonari e non solo.

3. Tumore polmonare - si stima che il fumo sia responsabile in Italia del 91% di tutte le morti per cancro al polmone negli uomini e del 55% nelle donne, per un totale di circa 30.000 morti l'anno. Secondo L'Organizzazione Mondiale della Sanità (A) il 90-95% dei tumori polmonari, l'80-85% delle bronchiti croniche ed enfisema polmonare ed il 20-25% degli incidenti cardiovascolari, sono dovuti al fumo di tabacco.

2.1.2 Infarto e cardiopatie ischemiche

Il fumo è la causa principale di infarto e di malattie coronariche in uomini e donne e si associa al 30% delle morti causate da malattie coronariche, ad un aumentato rischio di morte improvvisa, a una aumentata mortalità perioperatoria in pazienti con by pass coronarico.

- Infarto miocardio - si verifica quando l'irrorazione sanguigna del muscolo cardiaco diminuisce o viene a mancare in seguito all'occlusione di una o più arterie coronariche. Colpisce più di duecentomila italiani all'anno e in un caso su tre conduce alla morte. Il fumo di sigaretta aumenta il rischio di aterosclerosi e di infarto miocardico perché danneggia le cellule che rivestono internamente i vasi arteriosi, favorendo la formazione di placche ostruttive e di trombi.
- Cardiopatia ischemica - è causata dal monossido di carbonio e dalla nicotina; è una delle malattie più frequenti nei paesi progrediti. I fumatori corrono un rischio di ammalarsi che è più del doppio di quello dei non fumatori. Si stima che il 20-25% degli incidenti cardiovascolari siano legati al consumo di sigarette. Il fumo, poi, stimolando una parte del nostro sistema nervoso (adrenergico) può favorire la vasocostrizione o gli spasimi delle arterie (soprattutto delle coronarie).

Smettendo di fumare il rischio si riduce dopo solo un anno di astinenza. Dopo 20 anni diventa simile, ma sempre un po' superiore a quello di chi non ha mai fumato.

Il fumo di sigaretta facilita non solo l'arteriosclerosi delle coronarie, ma di tutte le arterie. Questo provoca, specialmente nei fumatori, numerose malattie. Eccone alcune:

- Ictus - Si manifesta con perdita di conoscenza, perdita di feci e urine. Può portare alla morte o determinare la paralisi di una parte del corpo. L'ictus è al terzo posto fra le cause di morte negli U.S.A. ed anche in Italia è molto frequente. Il rischio di incidenti di questo tipo aumenta del doppio o del quadruplo tra i fumatori. Smettendo di fumare il rischio si riduce drasticamente già dopo un anno. Dopo 5-10 anni diventa sovrapponibile a quello di chi non ha mai fumato.
- Aneurisma aortico - è una dilatazione anormale di questa importantissima arteria. E' pericoloso perché può facilmente rompersi e la sua rottura provoca la morte immediata. Chi soffre di aneurisma aortico non dovrebbe fumare, perché i decessi per rottura sono 6 volte più numerosi tra i fumatori che tra i non fumatori.
- Danni sulla sessualità maschile - Il fumo di sigaretta è un fattore di rischio importantissimo nello sviluppo sia dell'aterosclerosi che della disfunzione erettile del pene. In un importante Studio condotto in Massachusetts (Massachusetts Male Aging Study - MMAS) (A) si è riscontrato che il fumo di sigaretta amplifica notevolmente il rischio di impotenza, specie quando associato a patologie cardiovascolari e relative terapie farmacologiche. Nei soggetti tra i 40 e i 70 anni l'incidenza di impotenza variava tra il 5% e il 15%. Nei pazienti trattati per una patologia cardiaca la probabilità di una impotenza completa era del 56% tra i fumatori e del 21% tra i non fumatori. Tra i pazienti ipertesi in terapia medica, quelli che fumavano avevano una incidenza di impotenza completa del 20%, mentre i non-fumatori avevano un rischio di impotenza dell'8.5%, comparabile con quello della popolazione generale (9.6%). Ovviamente però non tutti i fumatori sono impotenti, benché il tabacco sia nefasto sia per l'erezione che per la qualità del liquido seminale. Ma il tabacco non ha solo un effetto dannoso a livello vascolare, favorendo la formazione di ateromi in tutte le arterie, esso ha anche un ruolo diretto sul tessuto erettile del pene. L'elasticità del tessuto erettile e quindi la sua capacità di dilatarsi diminuisce nei forti fumatori, che spesso hanno una erezione molto meno duratura. Questo effetto negativo è stato verificato in numerosi studi sperimentali che hanno mostrato come il fumo di una sola sigaretta sia in grado di danneggiare la qualità dell'erezione. L'eliminazione del fumo di sigaretta (presente nel 75% dei soggetti giunti alla nostra osservazione per Disfunzione Erettile) in questa patologia deve quindi essere considerata la terapia

di prima linea ("first-line therapy") della disfunzione erettile, oltreché una delle misure più importanti nella prevenzione dell'aterosclerosi. Per il medico, inoltre, la terapia della disfunzione erettile del pene è l'argomentazione più importante per indurre un paziente a smettere di fumare. La prospettiva di migliorare le prestazioni sessuali costituisce una motivazione fortissima per far abbandonare al fumatore la sua tossicodipendenza. Il fumo inoltre può ridurre la fertilità mediante riduzione della densità dello sperma, del numero e della mobilità degli spermatozoi.

- Invecchiamento della pelle - Il fumo accelera l'invecchiamento della pelle e provoca un aumento dell'irsutismo del volto e della raucedine con un rischio relativo per le forti fumatrici (+ di 10 sigg./die) di 5,6 per l'irsutismo del volto e di 14,2 per la raucedine.
- Demenza - Recenti studi, evidenziano che il tabagismo, con l'andare del tempo, aumenta il rischio di problemi mentali. Secondo un gruppo di ricercatori dell'Università di Londra (A) il vizio del fumo, se protratto per lungo tempo (anche durante la cosiddetta "età d'argento"), aumenta notevolmente il rischio di un declino mentale. I risultati della ricerca, infatti, hanno evidenziato che i soggetti fumatori sono maggiormente soggetti ad un danneggiamento dei vasi sanguigni, compresi quelli cerebrali. Il fumo, una volta introdotto, causa un restringimento ed un indurimento delle arterie, compromettendo l'apporto di ossigeno al cervello. Il "vizio della sigaretta", pertanto, con il passare degli anni, non danneggia solo bronchi e polmoni; al contrario sembra colpire e deteriorare anche le funzioni cerebrali.
- Effetti sul cavo orale e sull'estetica - Il fumo diminuisce le difese immunitarie nei confronti della placca batterica; Determina un ingiallimento della dentina; Aumenta il rischio di gengiviti; Promuove l'insorgenza del cancro della bocca
- Danni del fumo in gravidanza Il fumo influisce negativamente sull'apparato riproduttivo femminile, provoca menopause più precoci di circa 2 anni rispetto alle non fumatrici in quanto il fumo altera la normale produzione di ormoni sessuali femminili.. Una donna gravida che fuma ha un aumentato rischio di aborti di bambini nati morti, e di avere neonati sottopeso (- 200 g. in media). Il fumo

durante la gravidanza può causare un ritardo di crescita e di sviluppo mentale oltre che polmonare (capacità respiratoria inferiore del 10%) del bambino.

- Effetti su altri organi. Il fumo aumenta il rischio di cancro: della vescica, del fegato, della laringe, dell'esofago, del pancreas. Il fumo è inoltre un fattore di rischio per lo sviluppo e la progressione di un precoce danno renale diabetico (albuminuria) e per il peggioramento della retinopatia nei giovani soggetti diabetici.
- Effetti del fumo passivo sulla salute. Numerosi e rigorosi studi hanno dimostrato che l'inquinamento atmosferico è responsabile di 1/4 delle malattie respiratorie. È ormai ampiamente dimostrato che l'esposizione al fumo di tabacco ambientale (FTA) costituisce secondo la Environmental Protection Agency (EPA) (3) "uno dei più diffusi e pericolosi fattori inquinanti dell'aria degli ambienti confinati" "un rischio sanitario significativo per i non fumatori. Il Surgeon General del USA e la National Academy of Sciences sono giunti alla conclusione che anche il fumo passivo è in grado di indurre il cancro polmonare nei fumatori e che i figli di genitori fumatori hanno una maggiore incidenza di polmoniti, di bronchiti e crisi asmatiche rispetto ai figli di genitori non fumatori (riferimento, da dove hai preso il loro parere?). Secondo questi rapporti il fumo passivo provoca ogni anno negli USA quasi 5.000 decessi per cancro del polmone nei non fumatori. In Italia il fumo passivo sarebbe responsabile di un migliaio di morti l'anno. Anche gli studi epidemiologici più ottimisti valutano che il rischio cumulativo di morte per tumore polmonare sia di un morto ogni 1.000 persone esposte al fumo passivo. Questo rischio pur essendo enormemente inferiore a quello dei fumatori attivi (in cui è dell'ordine di 380 morti ogni 1.000 persone fumatrici). Tuttavia, è decisamente poco accettabile. Recentemente si è vista una stretta correlazione tra fumo passivo e rinofaringiti con otiti purulenti dei bambini. I figli dei fumatori vanno incontro molto più frequentemente degli altri (38% in più). Oltre alle malattie respiratorie al fumo passivo si segnala anche per un aumentato rischio per le malattie coronariche e degli attacchi cardiaci del 20% (soprattutto a causa della nicotina e del monossido di carbonio). (A)

Circa 2 miliardi di persone in tutto il mondo usano prodotti del tabacco, principalmente sotto forma di sigarette, con malattie legate al fumo di tabacco che provocano almeno 4

milioni di morti globali all'anno.(1) Drammatico aumento delle malattie associate al fumo di sigaretta o all'uso del tabacco, tra cui malattie cardiovascolari, malattie polmonari ostruttive croniche (BPCO), morbo di Crohn e varie forme di cancro(2), implicando il potenziale ruolo dannoso del fumo nell'insorgenza di malattie umane. Prove emergenti suggeriscono che i fattori ambientali svolgono un ruolo influente nel plasmare le comunità microbiche associate all'uomo e le risposte immunitarie. Il fumo attivo o l'esposizione al fumo passivo sono associati alla colonizzazione da parte di batteri potenzialmente patogeni. (3) Tuttavia, in un'epoca in cui i microbi non solo causano malattie infettive acute, ma sono anche sempre più riconosciuti come agenti eziologici o fattori di rischio per malattie croniche tra cui tumori (4) e disturbi neurologici (5), è importante avere una profonda comprensione dell'effetto del fumo sul microbioma nelle malattie. Studi massicci hanno dimostrato gli impatti avversi sulla salute del tabacco sui cambiamenti fisiopatologici sistemici che possono portare a malattie, sono stati associati a sostanze chimiche, metalli pesanti, particolato e altri costituenti del tabacco (6). Tuttavia, una scarsità di studi ha studiato i microbi nel tabacco negli ultimi anni, e questo può essere incriminato come fattori causali nelle malattie associate al fumo. Prima dei progressi nella tecnologia di sequenziamento del DNA, il golden standard di identificazione del metodo di coltura dei microbi, è stato utilizzato per identificare gli *agglomerans Pantoea, Acinetobacter calcoaceticus* e specifiche specie di *Pseudomonadaceae* come *P. fluorescens* e *Stenotrophomonas maltophilia* in foglie di tabacco fresco o altre specie in fiocchi di tabacco singoli o particelle fini di tabacco (7). Le sigarette prodotte nell'Unione europea contenevano 15 diverse classi di batteri. Sapkota et al. (8) hanno rivelato un'ampia diversità batterica nelle sigarette, che vanno dai microrganismi del suolo e commensali a potenziali agenti patogeni umani, tra cui *Acinetobacter, Bacillus, Burkholderia, Clostridium, Klebsiella* e *Pseudomonas aeruginosa*. Molti degli organismi rilevati sono in grado di causare polmonite, batteriemie, malattie di origine alimentare, meningite, endocardite e infezioni del tratto urinario.(8)

	Riferimento	Origine	Campione	Microbi arricchiti	Microbi impoveriti
Orale	[37]	Umano	Placca sottogengivale	Specie: <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>F. naviforme</i> , <i>Filifactor alocis</i> , <i>Dialister microaerophilus</i> , <i>Desulfobulbus</i> sp. clone R004, <i>Megasphaera sueciensis</i> , <i>M. geminatus</i> , <i>M. elsdenii</i> , <i>M. micronuciformis</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>A. guillouiae</i> , <i>A. schindleri</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>A. haemolyticus</i> , <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> , <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>	Specie: <i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>Granulicatella elegans</i> , <i>G. adiacens</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>A. israelii</i> , <i>A. dentalis</i> , <i>Neisseria subflava</i> , <i>Hemophilus parainfluenzae</i>

Tab.I Alterazioni del microbioma nei fumatori sani.

Fumo e microbioma nel cavo orale, delle vie aeree, dell'intestino e in alcune malattie sistemiche.

Un'altra possibilità per il meccanismo attraverso il quale i fumatori attuali possono avere diverse comunità batteriche può essere correlata alle difese antimicrobiche compromesse a causa della natura immunosoppressiva del tabacco. È stato osservato che il fumo di tabacco influisce sul sistema immunitario periferico su diversi livelli, tra cui una diminuzione dell'attività delle cellule natural killer, un aumento della conta dei globuli bianchi e una maggiore suscettibilità alle infezioni.(9) Il fumo aumenta il numero di macrofagi, neutrofili, eosinofili e mastociti, diminuisce il numero di cellule dendritiche delle vie aeree e altera la funzione dei macrofagi e dei neutrofili.(10)L'espansione dei macrofagi e dei neutrofili ha dimostrato una compromissione delle funzioni fagocitarie per l'eliminazione efficiente di batteri o patogeni, come evidenziato dalla ridotta produzione di superossido e dall'espressione dei recettori di superficie (ad esempio TLR2) che è importante per il riconoscimento e la risposta ai batteri gram-positivi(11).

Pertanto, l'immunosoppressione correlata al fumo potrebbe consentire la colonizzazione di nuovi batteri. È anche possibile che i vantaggi metabolici della formazione di biofilm e una maggiore aderenza all'epitelio siano conferiti a determinate espansioni di taxa in un ambiente fumoso. L'esposizione al fumo di sigaretta potrebbe aumentare la

formazione di biofilm da parte di batteri specifici(12). Il biofilm è una matrice polimerica autogenerata che isola lo pneumococco e altri patogeni microbici dalla difesa dell'ospite e dagli antibiotici, promuovendo la persistenza batterica(13). Mutepe et al. (14) ha scoperto che l'aumento della formazione di biofilm di *Streptococcus pneumoniae* e l'inattivazione della pneumolisina indotta dall'esposizione al condensato del fumo di sigaretta possono favorire la colonizzazione microbica e la persistenza, essendo entrambi precursori essenziali della malattia pneumococcica. Allo stesso modo, in un altro studio, le osservazioni sull'aumento della formazione di biofilm di *Staphylococcus aureus* e dell'aderenza delle cellule umane in presenza di fumo di sigaretta (CS) indicano il ruolo degli effetti bioattivi di CS sul microbiota residente nella patogenesi dell'infezione respiratoria negli esseri umani esposti a CS.(14) Questi risultati suggeriscono che il fumo di sigaretta può promuovere la colonizzazione e la persistenza di specifici taxa batterici nel corpo umano attraverso la formazione di biofilm, contribuendo alle infezioni in diverse parti del corpo. Il "microambiente" può anche essere rilevante per quanto riguarda l'influenza del fumo su particolari membri del microbiota, come l'ossigeno, il pH e la produzione di acido. La tensione dell'ossigeno è un importante promotore dei cambiamenti nella comunità batterica, con batteri microaerofili e anaerobici in grado di predominare a causa della minore ossigenazione(15). Shanahan et al. (16) ha dimostrato una riduzione dell'abbondanza relativa *Prevotella* e *Neisseria* spp. e una maggiore abbondanza relativa di *Firmicutes*, principalmente *Streptococcus* spp., e *Veillonella* spp., insieme al genere *Rothia* (*Actinobacteria*) nel tratto gastrointestinale superiore dai fumatori attuali, rispetto a quello di persone che non hanno mai fumato. Le differenze osservate in *Neisseria*, *Streptococcus* e *Rothia* spp. nei fumatori attuali hanno indicato l'implicazione di cambiamenti nella tensione dell'ossigeno. In questo studio (16), alterazioni nella secrezione di bicarbonato duodenale (17) e pH più basso (18) nei fumatori possono anche fornire una pressione selettiva sulla crescita di *Neisseria*, che è uno dei capnofili e sensibile alle condizioni acide (19), mentre *Streptococcus* e *Rothia* spp. sono acidogenici e tolleranti agli acidi.

Malattie	Riferimento	Origine	Campione	Microbi arricchiti	Microbi impoveriti
Periodontitis	[60]	Umano	Campione di placca sottogengivale	Generi: <i>Fusobacterium</i> , <i>Fretibacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Corynebacterium</i> , TM7, <i>Filifactor</i>	Generi: <i>Prevotella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Aggregatibacter</i> , <i>Veillonellaceae</i> GQ422718 , <i>Haemophilus</i> , <i>Prevotellaceae</i>

Tab.II Influenza del fumo sul microbioma in alcune malattie;

Fumo e microbioma nel cavo orale, delle vie aeree, dell'intestino e in alcune malattie sistemiche.(20)

Secondo la discussione appena citata, potremmo raggiungere la conclusione di meccanismi del fumo di sigaretta per influenzare il microbioma attraverso cambiamenti nell'omeostasi immunitaria, formazione di biofilm, tensione dell'ossigeno o attraverso il contatto diretto con i microbi che conteneva, e questi meccanismi possono essere coinvolti nel verificarsi di varie malattie (Fig.1) (20)

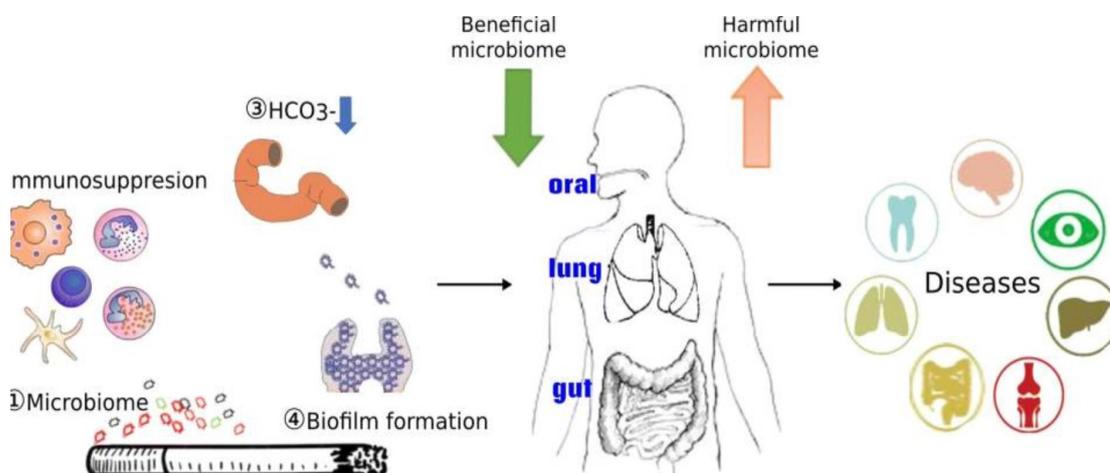


Fig.1 Sintesi schematica che illustra i possibili meccanismi della disbiosi del microbioma indotta dal fumo e il suo possibile ruolo nelle diverse malattie.

Smoking and microbiome in oral,airway,gut and some systemic disease.

2.2 DANNI DERIVANTI DALL'USO DI ECG

Non c'è dubbio che la concentrazione di ingredienti nell'aerosol delle sigarette elettroniche sia significativamente inferiore a quella delle sigarette combustibili, ma questo non significa che sia "vapore innocuo". Come descritto, le sigarette elettroniche sono una nuova fonte di alte concentrazioni di particelle di dimensioni subcroniche e gli utenti sono sottoposti a un modello insolito e originale di esposizione per inalazione poiché il modello di inalazione delle sigarette elettroniche in termini di lunghezza, volume e frequenza di sbuffo è diverso da quello delle sigarette convenzionali. L'aerosol generato "*in vitro*" ha dimensioni delle particelle nell'intervallo 100-600 nm, simili alle sigarette convenzionali. Altri studi hanno descritto una distribuzione granulometrica bimodale: 11-25 nm e p 96-175 nm (21). Un rapporto ha stimato che $6,25 \times 10$ (22) particelle generate sarebbero depositate nel sistema respiratorio mentre la maggior parte delle deposizioni di particelle si verificherebbe nella regione alveolare (23). Sono state descritte particelle ultrafini, <100 nm, per causare danni al DNA, espressione di citochine pro-infiammatorie e produzione di radicali liberi dell'ossigeno (22). Tra i contenuti dell'aerosol sopra descritti, potenti agenti cancerogeni come NNN e NNK sono stati identificati nei vapori generati da una diversa marca di sigarette elettroniche (24). I TSNA sono legati alla stagionatura e alla lavorazione del tabacco, o eventualmente con l'aggiunta di aromi di tabacco (25). La formaldeide, l'acetaldeide e l'acroleina sono ben noti potenti irritanti e tossici e sono stati trovati superiori al livello raccomandato dall'Istituto nazionale per la sicurezza e la salute sul lavoro per l'esposizione a breve termine (26). Vi è inoltre una crescente preoccupazione per la presenza di metalli pesanti negli e-liquid come potenziali agenti cancerogeni (25). I componenti aromatizzanti delle sigarette elettroniche sono i principali contributori alla produzione di specie carboniliche. In un rapporto, il diacetile (DA, l'aroma artificiale più noto) e l'acetil-propionile sono stati trovati nel 28,3% di un campione di e-liquidi. Queste sostanze sono state associate a bronchiolite obliterante che causano malattia polmonare ostruttiva (23). Le concentrazioni di nicotina nel vapore della sigaretta elettronica variano più ampiamente rispetto al fumo di sigaretta convenzionale. La maggior parte degli e-liquid, anche quelli etichettati come "senza nicotina", contengono nicotina e il 60-70% della nicotina è quella rilasciata dall'aerosol (27). Le etichette degli e-liquid riportano la concentrazione di

nicotina, ma questo è impreciso. Goniewicz et al. (24) hanno stimato una media di 82,8 mg di nicotina per 100 ml di aerosol in una cartuccia di nicotina da 18 mg e in quelle sigarette elettroniche in cui 15 boccate equivalgono a fumare una sigaretta. Una sigaretta tipica fornisce circa 2 mg di nicotina al suo fumatore e la dose letale LD 50 è di₆₀ mg. Le prove supportano che la disponibilità di nicotina nelle sigarette elettroniche è efficace per saturare i recettori cerebrali e per evitare i sintomi dell'astinenza (28). I cambiamenti sistemici e delle vie aeree osservati dopo l'esposizione all'aerosol della sigaretta elettronica possono essere spiegati da diversi meccanismi, alcuni dei quali sono ancora oggetto di dibattito e ricerca:

1. L'esposizione alle aldeidi (formaldeide e acroleina) è stata associata ad alterata risposta epiteliale, ipersecrezione di muco, attivazione e degranolazione dei neutrofili e induzione dell'apoptosi dei neutrofili (29).
2. Le esposizioni all'aerosol delle e-cig inducono risposte ossidative e infiammatorie misurabili nelle cellule e nei tessuti polmonari e nelle cellule epiteliali bronchiali causano tossicità acuta e riducono la risposta antivirale (30). Gli utenti di sigarette elettroniche mostrano un aumento della secrezione di proteine nell'espettorato correlato alle funzioni di difesa innate dei leucociti, all'infiammazione bronchiale e al danno strutturale. Questi includono elastasi neutrofila, proteinasi 3, azurocidin 1 e mieloperossidasi così come altre proteine secondarie dei granuli di neutrofili (29).
3. L'esposizione alla sigaretta elettronica induce l'aggregazione piastrinica e sovraregola l'espressione di CD41, CD42b e CD62p, indipendentemente dal contenuto di nicotina e dal tempo di esposizione probabilmente dovuto al particolato fine. Questi fatti possono essere i tratti distintivi delle malattie cardiovascolari e di altre malattie sistemiche (31).
4. Le sigarette elettroniche sono state collegate a danni polmonari e sistemici (Tab V), con prove coerenti e plausibilità biologica che i costituenti dell'aerosol delle sigarette elettroniche causano irritazione delle vie aeree, bronchite, tosse, catarro, broncocostrizione, disfunzione piastrinica e cambiamenti cancerogeni tra gli altri (Fig.2).

	Componenti	Danni potenziali
Materiale metallico	Batterie ed elemento riscaldante: filo di nicromo (80% nichel, 20% cromo), kanthal, ferro, cromo, alluminio, ceramica, silice.	Cancerogeno, respiratorio e tossico per la riproduzione; malattie respiratorie e disfunzione autoimmune.
E-liquidi	Nicotina	Le concentrazioni variano da 0 a 50 mg/ml. Compromettere la difesa antibatterica, alterare l'attivazione dei macrofagi.
	Pirolisi di grezzi: uno o miscela solvente (PG o VG)	La miscela PG/VG ha prodotto più ROS rispetto ai due da soli, con conseguente infiammazione, citotossicità e aumento della permeabilità delle cellule endoteliali.
	Aromi (a tema tabacco, mentolo, caramelle, bevande)	"Irritanti primari" La cannella aumenta la citochina IL-8 Diacetile: bronchiolite obliterante Non tutti sono stati testati per la sicurezza quando inalati.
Aerosol	TSNA, NNN	Potenti agenti cancerogeni
	Acroleina	Aumentare il rischio di cancro ai polmoni, asma, BPCO.
	Glicidolo	Probabile cancerogeno
	Formaldeide	Risposta epiteliale e aumento della secrezione di mucina
	COV	Irritazione, mal di testa, danni agli organi
	IPA	Sostanze cancerogene

PG: glicole propilenico, VG: glicerina vegetale, ROS: specie reattive dell'ossigeno, TSNA: nitrosammine specifiche del tabacco, NNN: N-nitrosornicotina, BPCO: broncopneumopatia cronica ostruttiva, COV: composti organici volatili, IPA: idrocarburi policiclici aromatici.

Tab.III. Componenti delle Sigarette Elettroniche e potenziali danni.

Respiratory Impact of Electronic Cigarettes and low risk.

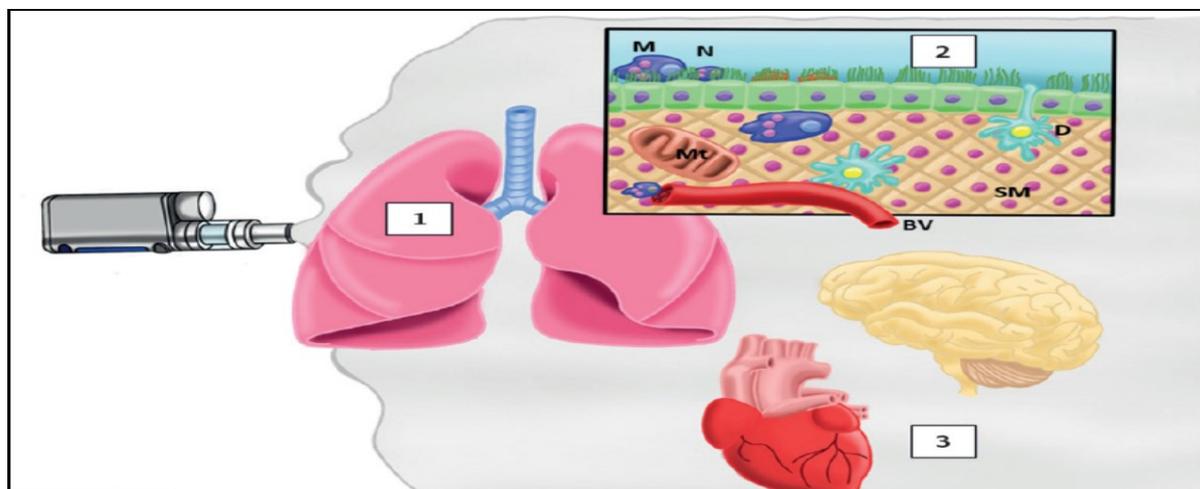


Figura 2. Probabili meccanismi di anomalie polmonari con la sigaretta elettronica. La combinazione tra alta temperatura e diversi componenti dell'e-aerosol, incluso il particolato (1), ha il potenziale di generare effetti pro-infiammatori, produzione di specie reattive dell'ossigeno nei polmoni con varie conseguenze come iperreattività delle vie aeree, aumento della resistenza delle vie aeree, diminuzione dell'attività antimicrobica, diminuzione dello sviluppo alveolare, interruzione endoteliale e frammentazione dei fibroblasti (2). I cambiamenti sistemici sono prodotti dalla nicotina con aumenti della frequenza cardiaca e della pressione sanguigna, nonché una dipendenza con tutte le conseguenze tra cui tolleranza, desiderio, astinenza e passaggio a sigarette normali o inalazione di altri liquidi contenenti altre droghe (3).

Fig. 2 Probabili meccanismi di anomalie polmonari con la Sigaretta Elettronica

Respiratory Impact of Electronic Cigarettes and low risk

La nicotina induce la stimolazione del sistema nervoso simpatico, con tachicardia, aumento della pressione sanguigna e della gittata cardiaca, che porta ad un aumento del consumo di ossigeno miocardico e vasocostrizione dei vasi sanguigni cutanei e coronarici (32). L'aumento dell'attività simpatica cardiaca associata al fumo regolare è stato descritto 20 anni fa e, ultimamente, sono stati osservati effetti simili per la sigaretta elettronica, nonché lo stress ossidativo e la segnalazione l'inflammatione. Recentemente, sono state riportate prove dell'impatto della sigaretta elettronica sulla salute cardiovascolare (33). Esistono prove considerevoli che sostanze cancerogene e alcuni composti che causano danni al DNA e mutagenesi sono stati rilevati negli aerosol delle sigarette elettroniche, ma finora non vi sono prove disponibili che l'uso di sigarette elettroniche sia associato a cancro, sviluppo fetale anormale o difetti immunitari che portano ad un aumento del rischio di infezioni respiratorie. Tuttavia, il periodo di osservazione dal massiccio lancio delle sigarette elettroniche è troppo breve per analizzare l'insorgenza del cancro. D'altra parte, di solito c'è un intervallo di tempo tra la descrizione degli impatti tossicologici su modelli *in vitro* o *in vivo* e la descrizione dei risultati clinici o epidemiologici. La diversità dei dispositivi e delle esposizioni è anche un ostacolo per classificare l'esposizione. (34) Altri rischi segnalati associati all'uso di sigarette elettroniche includono esplosioni di dispositivi, avvelenamento accidentale e intenzionale con PG e sovradosaggio di nicotina nei bambini, aumento delle cellule progenitrici endoteliali circolanti e potenziale danno endoteliale acuto e dermatite da contatto da nichel(23). Sebbene emergono prove di effetti avversi mediani e a lungo termine dell'esposizione alle sigarette elettroniche sul sistema respiratorio, è auspicabile rivedere e monitorare i risultati intermedi, come alterazioni della struttura e della funzione polmonare e sintomi respiratori (34). La maggior parte delle informazioni proviene da utenti doppi (tabacco da fumo e sigarette elettroniche) o da individui che passano completamente dal fumo di tabacco convenzionale alle sigarette elettroniche, evitando così un confronto valido tra utenti di e-cigs e individui non esposti (23). Studi su utenti sani di sigarette elettroniche hanno rivelato un aumento dello stress ossidativo, della carenza di ossido nitrico e della disfunzione endoteliale / vascolare; L'esposizione acuta e di breve durata al PG in aerosol da generatori di fumo artificiale ha provocato sintomi oculari e respiratori e funzionalità polmonare deleteria in pazienti sani non asmatici, ma questa evidenza, in contrasto con l'effetto del fumo di tabacco, è considerata marginale (35). L'esposizione all'aerosol della

sigaretta elettronica è stata associata a sintomi respiratori in individui sani, cambiamenti nella fisiologia respiratoria e nella difesa dell'ospite e con un aumento dei sintomi nell'asma, nella fibrosi cistica (FC) e nella BPCO (23). Vi è una crescente evidenza che gli adolescenti che sono stati esposti alle sigarette elettroniche hanno più spesso tosse e catarro (OR 2.1, 95% CI 1.8-2.5) (36). Gli adolescenti che usano più frequentemente le sigarette elettroniche riferiscono non solo sintomi respiratori ma anche assenteismo scolastico. L'esposizione delle vie aeree al vapore di sigaretta elettronica contenente nicotina inibisce la clearance mucociliare bronchiale e nasale, con la produzione di tosse e sintomi rino-nasali, rispetto agli individui non esposti all'aerosol della sigaretta elettronica. L'esposizione a breve termine alla sigaretta elettronica con e senza nicotina negli adulti sani aumenta la resistenza delle vie aeree e riduce l'ossido nitrico nell'aria espirata (ossido nitrico esalato frazionato, FeNO) (34). Questa evidenza è coerente con un rapporto che ha rivelato una diminuzione della funzione polmonare (diminuzione del volume espiratorio forzato in un secondo [FEV₁], FEV₁ / capacità vitale forzata; e aumento della resistenza al flusso d'aria) dopo esposizione a PG aerosolizzato in esseri umani sani(23). Finora, non ci sono prove a sostegno della sicurezza a lungo termine né miglioramenti della funzione polmonare nei fumatori che passano alle sigarette elettroniche, come osservato in Quitters. Recenti evidenze riportano infiammazione parenchimale e bronchiale, danno polmonare e tossicità (ad esempio, polmonite lipoide), nonché compromissione della segnalazione dell'infiammazione sistemica e meccanismi di difesa associati all'esposizione alle sigarette elettroniche (29). Gli ENDS, e in particolare le sigarette elettroniche, sono dispositivi che depositano efficacemente la nicotina nel cervello e generano dipendenza da nicotina. Questi aerosol per sigarette elettroniche contengono meno tossine rispetto al fumo di tabacco, ma un comparatore di sicurezza deve essere la respirazione di aria pulita. C'è una crescente evidenza della presenza di una varietà di prodotti tossici nei liquidi vaporizzanti nelle sigarette elettroniche che provocano effetti deleteri chimici, morfologici e funzionali in modelli in vitro e in vivo (31). Le evidenze di danno respiratorio acuto e tossicità sono in evoluzione, ma mancano ancora dati sugli effetti a medio e lungo termine e modelli di standardizzazione per confrontare i diversi dispositivi (37).

CAPITOLO 3. CORRELAZIONE ABITUDINE AL FUMO E M.P

La malattia parodontale è una delle malattie più comuni del cavo orale che colpisce fino al 90% della popolazione mondiale.(38) Sono stati condotti numerosi studi sui potenziali meccanismi per cui il fumo di tabacco può predisporre alla malattia parodontale e sembra che il fumo possa influenzare la vascolarizzazione, il sistema immunitario umorale e il sistema immunitario e infiammatorio cellulare e avere effetti in tutta la rete di citochine e molecole di adesione. (39) Il fumo è stato identificato come un importante fattore di rischio nello sviluppo e nella progressione della malattia parodontale. È essenziale valutare l'influenza del fumo sulla microflora sottogengivale che è il principale fattore eziologico della malattia, per chiarire il contributo del fumo alla malattia parodontale. Pertanto, questo articolo esamina gli attuali risultati della ricerca sull'impatto del fumo sulla microflora sottogengivale e discute diversi potenziali meccanismi. Gli approcci molecolari mirati e basati sulla coltivazione producono risultati controversi nel determinare la presenza o l'assenza di differenze indotte dal fumo nella prevalenza o nei livelli di alcuni patogeni parodontali, come il "complesso rosso". Tuttavia, cambiamenti sostanziali nella microflora sottogengivale dei fumatori, indipendentemente dalla loro condizione parodontale (salute clinica, gengivite o parodontite), sono stati dimostrati in recenti studi sul microbioma. La letteratura disponibile suggerisce che il fumo facilita l'acquisizione precoce e la colonizzazione dei patogeni parodontali, con conseguente comunità microbica sottogengivale "a rischio di danno" nel parodonto sano. Nelle malattie parodontali, la microflora sottogengivale nei fumatori è caratterizzata da una comunità arricchita da patogeni con una minore resilienza rispetto a quella nei non fumatori, che aumenta la difficoltà di trattamento. I cambiamenti biologici nei patogeni chiave, come *Porphyromonas gingivalis*, insieme alla risposta immunitaria inefficace dell'ospite per la clearance, potrebbero contribuire ad alterazioni della microflora sottogengivale nei fumatori. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per fornire prove solide dei meccanismi sottostanti.(38) Il fumo rimane una dipendenza molto diffusa in molte popolazioni in tutto il mondo, nonostante la crescente consapevolezza dei suoi effetti dannosi sulla salute generale.(1) Il numero di fumatori è di > 1,1 miliardi (1 su 7) a livello globale ora, e oltre 8 milioni di persone muoiono ogni anno a causa del fumo. Come uno dei cinque principali fattori di rischio per il carico globale della malattia, il fumo è responsabile di varie malattie, tra cui cancro,

malattie cardiovascolari, broncopneumopatia cronica ostruttiva e malattia parodontale(40). La malattia parodontale, nota anche come malattia gengivale, comprende una serie di disturbi infettivi polimicrobici (come gengivite e parodontite) che colpiscono i tessuti di supporto dei denti (gengiva, osso alveolare e legamento parodontale). È la causa più comune di perdita dei denti e contribuisce anche alle malattie sistemiche. Il fumo è stato riconosciuto come un importante fattore di rischio per la malattia parodontale, influenzando la prevalenza, la gravità, la progressione e la risposta al trattamento della malattia, seconda solo alla placca dentale. Studi epidemiologici hanno presentato un rischio significativamente più elevato di malattia parodontale nei fumatori rispetto ai non fumatori, e l'aumento del rischio è proporzionale alla durata e al tasso di fumo(41). I fumatori mostrano una predisposizione clinicamente distinta alla malattia parodontale, con tasche più profonde, perdita di attaccamento più estesa e grave, maggiori livelli di distruzione ossea e un più alto tasso di perdita dei denti(42). Inoltre, il fumo esercita un'influenza negativa sugli esiti clinici del trattamento delle terapie non chirurgiche e chirurgiche, nonché sul successo a lungo termine del posizionamento dell'impianto(43). La forza di un'associazione sia negli studi caso-controllo che in quelli prospettici può essere misurata dal rischio relativo, che è spesso espresso in termini di odds ratio. Sono stati riportati numerosi studi trasversali sull'effetto del fumo sulla salute parodontale, con odds ratio generalmente nell'ordine di 2 a 6. Uno dei più grandi studi sui fattori di rischio per la malattia parodontale è stato quello intrapreso nella contea di Erie, nello stato di New York (39). Coinvolgendo 1361 soggetti di età compresa tra 25 e 74 anni, questo studio ha dimostrato che coloro che fumavano erano a maggior rischio di subire gravi perdite ossee rispetto a quelli che lo facevano. In un'indagine svedese su 155 pazienti con malattia parodontale, una percentuale significativamente più alta è risultata essere fumatori rispetto alla popolazione in generale, e il rapporto di rischio è stato riportato come 2,5(45). Dopo aver controllato fattori confondenti come età, sesso, placca e calcolo, in uno studio su 615 adulti americani, le probabilità di avere una profondità media di sondaggio di almeno 3,5 mm in un sestante posteriore selezionato casualmente sono state riportate come cinque volte maggiori per i fumatori rispetto ai non fumatori. [46] Considerando gli effetti deleteri ben consolidati del fumo sulla salute parodontale, è di grande importanza comprendere i meccanismi sottostanti, che rimangono in gran parte poco chiari. È ampiamente accettato che sia la microflora parodontale che la risposta dell'ospite svolgono ruoli critici

nell'inizio e nella progressione della malattia parodontale(47). Notevole attenzione è stata focalizzata sugli effetti del fumo sulla risposta dell'ospite in studi precedenti, che dimostrano che il fumo aumenta la suscettibilità dell'ospite e il rischio di infezione inducendo disfunzione immunitaria(48). Tuttavia, è ancora necessario effettuare una valutazione più dettagliata degli effetti del fumo sulla microflora sottogengivale che causa la malattia infettiva.

L'eziologia microbica della malattia parodontale è stata al centro dell'attenzione nel corso degli anni e sono state proposte varie ipotesi(49). Ciononostante, *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), un batterio asaccarolitico Gram-negativo pigmentato nero dal phylum *Bacteroidetes*, è stato a lungo considerato come un importante patogeno coinvolto nell'inizio e nella progressione della malattia parodontale. *P. gingivalis* ha dimostrato di avere un profondo effetto sia sulla quantità che sulla composizione del microbiota orale, anche a bassa abbondanza, agendo come potenziale attivista della comunità(50). Con una varietà di fattori di virulenza (come i ben noti gingipains), *P. gingivalis* può manipolare la risposta immunitaria dell'ospite con diverse strategie, portando infine alla malattia parodontale(51). Pertanto, gli effetti *in vitro* del fumo sono stati per lo più studiati utilizzando *P. gingivalis* come patogeno modello(52). Il fumo generato dalla combustione del tabacco è una miscela complessa, dinamica e reattiva di oltre 5000 sostanze chimiche, con proprietà citotossiche, mutagene, cancerogene o antigeniche.[53] Nel rapporto del 2004 del Surgeon General degli Stati Uniti, *The Health Consequences of Smoking* (54), sono state elencate quattro conclusioni principali:

- Il fumo danneggia quasi tutti gli organi del corpo, causando molte malattie e riducendo la salute dei fumatori in generale.
- Smettere di fumare ha benefici immediati e a lungo termine, riducendo i rischi di malattie causate dal fumo e migliorando la salute in generale.
- Fumare sigarette con tenori di catrame e nicotina inferiori misurati meccanicamente non apporta alcun chiaro beneficio per la salute.

- L'elenco delle malattie causate dal fumo è stato ampliato e includere l'aneurisma dell'aorta addominale, la leucemia mieloide acuta, la cataratta, il cancro cervicale, il cancro del rene, il cancro del pancreas, la polmonite, la *parodontite* e il cancro allo stomaco. Questi sono in aggiunta alle malattie precedentemente note per essere causate dal fumo, tra cui tumori della vescica, dell'esofago, della laringe, del polmone, dell'orale e della gola, malattie polmonari croniche, malattie coronariche e cardiovascolari, nonché effetti riproduttivi e sindrome della morte improvvisa del lattante. (54)

La nicotina, un potente alcaloide parasimpaticomimetico, è il costituente più noto con una natura altamente coinvolgente. È considerato uno dei principali contributori allo sviluppo della dipendenza ed è responsabile dell'uso diffuso e della difficoltà di smettere di fumare(55). Pertanto, la nicotina e il suo principale metabolita cotinina sono stati ampiamente utilizzati per studiare l'influenza del fumo sui microrganismi parodontali(56). Inoltre, l'estratto di fumo di sigaretta (CSE) e il condensato di fumo di sigaretta (CSC) sono anche soluzioni rappresentative del fumo di sigaretta per condurre il test biologico in vitro, in cui vengono considerati i costituenti non nicotinici(57).

Diversi studi(56) hanno testato gli effetti della nicotina e della cotinina sulla crescita di sette specie di batteri orali tra cui *P. gingivalis* a concentrazioni di 400, 100, 25, 6,25, 1,5 e 0,4 µg / ml, che erano in accordo o superiori ai livelli fisiologici di nicotina e cotinina trovati nella saliva e nel liquido crevicolare gengivale(58); Tuttavia, la nicotina e la cotinina non hanno alterato i modelli di crescita di nessuno dei batteri testati. Allo stesso modo, la crescita di *P. gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) e *Filifactor alocis* (*F. alocis*) ha dimostrato di non essere influenzata dall'esposizione al CSE a concentrazioni di 0,5, 2 e 4 µg / mL equivalenti di nicotina(59). I batteri sono dotati di sofisticati meccanismi per adattarsi a complessi cambiamenti ambientali e quindi garantire un'adeguata crescita e sopravvivenza all'interno dell'ospite(60).Coerentemente con questo, mentre la crescita dei patogeni parodontali non risulta essere direttamente influenzata dal fumo, si osservano alcuni cambiamenti nei fattori di virulenza dei batteri (Tab.IV). Il CSE ha modificato il fenotipo di *P. gingivalis* sovraregolando l'espressione genica dell'antigene fimbriale maggiore (FimA), inducendo l'espressione proteica della mem-

brana esterna RagA e RagB, sopprimendo la produzione di polisaccaridi capsulari e neutralizzando la risposta proinfiammatoria alla successiva stimolazione TLR2(59). Tuttavia, la maggior parte degli effetti sono stati invertiti quando i batteri esposti al CSE sono stati sub-coltivati in un mezzo fresco senza CSE. Pertanto, *P. gingivalis* sembra rispondere in modo reversibile al CSE come stress ambientale. Nel loro insieme, questi studi suggeriscono che i patogeni parodontali possono resistere alla complessa miscela di tossine nel fumo alterando i loro fattori di virulenza. (38)

Referenze	Stimolo	Agenti patogeni	Principali risultati
Baek et al., 2012	Nicotina	<i>Pg</i>	L'esposizione alla nicotina ha cambiato il modello di espressione delle proteine a basso peso molecolare di <i>Pg</i> .
Zeller et al., 2019	CSE	<i>Pg, ff, fn</i>	L'esposizione al CSE ha cambiato la produzione di acidi grassi a catena corta.
Bagaitkar et al., 2010	CSE	<i>Pg</i>	L'esposizione al CSE ha sovraregolato il <i>Pg</i> FimA, soppresso la produzione di polisaccaridi capsulari e creato condizioni che promuovono la formazione di biofilm.
Bagaitkar et al., 2009	CSE	<i>Pg</i>	L'esposizione al CSE ha alterato l'espressione genica (come i geni legati allo stress ossidativo e di riparazione del DNA) e le proteine della membrana esterna (come i fattori di virulenza RagA e RagB) di <i>Pg</i> .
Bondy-Carey et al., 2013	CSE	<i>Pg</i>	L'esposizione al CSE ha influenzato la produzione di <i>Pg</i> Kgp e Rgp gingipain legata alle cellule in modo specifico del ceppo.
Bagaitkar et al., 2011	CSE	<i>Pg, Sg</i>	L'esposizione al CSE ha aumentato la proteina totale <i>Pg</i> FimA, promosso la formazione di biofilm a doppia specie <i>Pg-Sg</i> e diminuito la capacità pro-infiammatoria (TNF- α , IL-6) dei biofilm <i>Pg</i> .

CSE, estratto di fumo di sigaretta; *Pg*, *Porphyromonas gingivalis*; *Ff*, *Alcalis filifattore*; *Fn*, *Fusobacterium nucleatum*; *Sg*, *Streptococcus gordonii*.

*Tab IV. Effetti del fumo sui fattori di virulenza dei principali agenti patogeni.
The Impact of Smoking on Subgingival Microflora: From Periodontal Health to Disease (38)*

Gli effetti del fumo sulle funzioni microbiche dell'interazione patogeno-cellula ospite costituiscono un'altra parte importante degli studi in vitro (tre principali focus di ricerca sono riassunti in Tab. V). (61)

Focus sulla ricerca	Principali risultati (riferimenti)
Colonizzazione batterica e invasione	<p>L'esposizione batterica alla cotinina ha aumentato l'associazione e l'invasione di <i>Pg</i> alle cellule epiteliali umane (cellule KB) (Cogo et al., 2009).</p> <p>L'esposizione cellulare alla nicotina e alla cotinina ha alterato la colonizzazione di <i>Aa</i> e <i>Pg</i> nelle cellule epiteliali gengivali umane primarie in modo specie-dipendente (Teughels et al., 2005).</p> <p>La CSC ha aumentato l'invasione di <i>Pg</i> verso le cellule epiteliali gengivali umane (Ca9-22) solo l'esposizione batterica e cellulare è stata eseguita (Imamura et al., 2015).</p>
Produzione di citochine/risposta infiammatoria	<p>Nicotina e <i>Pg</i> LPS hanno sinergicamente sovraregolato la produzione di IL-6 e IL-8 negli HGFC (Wendell e Stein, 2001).</p> <p>La combinazione di nicotina e <i>Pg</i> LPS ha alterato l'espressione di GRO-α, IL-7, IL-10, IL-15, RANTES e IFN-γ negli HGFC (Almasri et al., 2007).</p> <p>Nicotina e <i>Pg</i> LPS hanno indotto sinergicamente gli effetti infiammatori inducendo NO e PGE₂ e aumento dell'espressione delle proteine iNOS, COX-2 e HO-1 nelle HPDLC (Pi et al., 2010).</p> <p>La nicotina e la cotinina hanno ridotto le risposte superossido dei neutrofili stimolati con <i>Pg</i> LPS (Matthews et al., 2012).</p> <p>La nicotina ha inibito la risposta infiammatoria degli HUVEC stimolati con <i>Pg</i> LPS (An et al., 2014).</p>
Degradazione del collagene/distruzione del tessuto parodontale	<p>Gli effetti combinati di CSC e <i>Pg</i> hanno aumentato la degradazione del collagene mediata da HGFC distruggendo l'equilibrio tra MMP e TIMPs (Zhang et al., 2010).</p> <p>La nicotina e il <i>Pg</i> hanno avuto un effetto di dipendenza sulla degradazione del collagene mediata da HGFC influenzando la produzione di MMP e TIMPs (Zhou et al., 2007).</p> <p>La nicotina e la <i>Pg</i> LPS hanno promosso la distruzione del tessuto parodontale inducendo PGE₂, produzioni di MMP-2 e MMP-9 e aumento delle espressioni delle proteine MMP-2, MMP-9, COX-2 e HIF-1α nelle HPDLC (Kim et al., 2012).</p> <p>La nicotina e la <i>Pg</i> LPS hanno stimolato il riassorbimento osseo alveolare aumentando le MMP e l'espressione di PA di tipo tissutale negli osteoblasti (Katono et al., 2009).</p>

Tab. V Sintesi degli studi in vitro sugli effetti del fumo sulle funzioni microbiche per l'interazione patogeno-ospite. The Impact of Smoking on Subgingival Microflora: From Periodontal Health to Disease. (38)

Pertanto, a causa delle differenze nel disegno dell'esperimento tra diversi studi, come le concentrazioni dei materiali e delle cellule testate, non è stato possibile trarre conclusioni certe sulla base degli studi attuali per quanto riguarda la possibile correlazione tra la colonizzazione cellulare batterica dei patogeni parodontali e l'esposizione al fumo(38). Date le differenze negli stati clinici e immunologici dell'ambiente sottogengivale nei fumatori e nei non fumatori, sarebbe ragionevole proporre che anche la microflora sottogengivale presenti differenze tra questi due tipi di soggetti. Tuttavia, i dati sull'effetto del fumo sulla microflora sottogengivale sono incoerenti nei primi studi. Alcuni di loro non hanno trovato alcuna differenza nella microflora sottogengivale tra fumatori e non fumatori con diverse condizioni parodontali, concludendo che il fumo ha avuto effetti insignificanti sulla microflora sottogengivale(62). Al contrario, altri hanno riportato una maggiore prevalenza di parodontite e conteggio dei patogeni parodontali nei fumatori, a seconda della quantità e della durata del fumo di sigaretta(63). I risultati contrastanti di

questi studi potrebbero essere in parte spiegati dalla sensibilità e specificità dei metodi microbiologici utilizzati, tra cui coltura, sonde di DNA, reazione a catena della polimerasi (PCR), real-time PCR e ibridazione DNA-DNA . La differenza tra fumatori e non fumatori nella profondità del sondaggio potrebbe anche essere una spiegazione in quanto i fumatori hanno tasche parodontali più profonde rispetto ai non fumatori, che potrebbero confondere l'effetto del fumo sui patogeni parodontali.[64] I fumatori hanno da 2,5 a 3,5 volte maggiore rischio di grave perdita dell'attaccamento parodontale(65). I calcoli del rischio hanno suggerito che il 40% dei casi di parodontite cronica può essere attribuito al fumo, con un aumento dell'odds ratio di 5,4 per la parodontite cronica nei fumatori(66). La parodontite nei fumatori si presenta anche in modo diverso rispetto ai non fumatori. I fumatori hanno maggiore profondità di sondaggio(67), tasche più profonde e più perdita di attaccamento, inclusa una maggiore recessione gengivale(68). I fumatori hanno anche una maggiore perdita di osso alveolare(67) e più denti con coinvolgimento della forcazione (69). I fumatori tendono anche ad avere un livello più elevato di perdita dei denti rispetto ai non fumatori dopo aver regolato l'igiene orale, l'età, il sesso e il livello socioeconomico(68). L'effetto del fumo sui tessuti parodontali è dose-dipendente. Sia la quantità di consumo giornaliero che la durata del fumo sono correlate. I fumatori hanno una maggiore prevalenza di gengivite ulcerosa necrotizzante acuta. [70] Poiché è ormai noto che la microflora sottogengivale è molto più diversificata di quanto si sospettasse in precedenza(71), e in combinazione con i limiti dei tradizionali metodi molecolari mirati (menzionati sopra) per l'identificazione batterica, non era noto in precedenza se il fumo potesse causare cambiamenti qualitativi e quantitativi nella microflora sottogengivale. Una nuova tecnologia per il rilevamento del microbioma mediante sequenziamento 16S è stata applicata per identificare l'associazione del fumo e della microflora sottogengivale negli ultimi anni, aprendo nuovi orizzonti per una comprensione completa di se e come queste comunità sono colpite. (Tab.VI) presenta una sintesi degli studi clinici (pubblicati tra il 2010 e il 2019) sugli effetti del fumo sulla microflora sottogengivale utilizzando campioni di placca sottogengivale di soggetti con diverse condizioni parodontali. Studi che combinano condizioni sistemiche (come diabete mellito e gravidanza)(72) o utilizzando tessuto di granulazione dall'area sottogengivale (73) come campioni sono stati trovati anche ma sono stati esclusi in questa recensione. Come mostrato nella Tab. VI e Figura

3, mentre risultati contraddittori sono stati riportati da studi che impiegano metodi molecolari mirati tradizionali, le comunità microbiche sotto gengivali alterate dovute al fumo in diverse condizioni parodontali sono state generalmente rivelate utilizzando il sequenziamento 16S. [74]

TABELLA 3

Studi clinici in relazione agli effetti del fumo sulla microflora sottogengivale (pubblicati tra il 2010 e il 2019).

Referenze	Condizione parodontale coinvolta	Tecniche di laboratorio	Microorganismi presi di mira	Risultati principali (fumatori vs non fumatori)
Heikkinen et al., 2012	/	SC1	<i>Aa, Pg, Tj, Pi, Pn, Td</i>	Maggiore prevalenza di <i>Pi, Tj e Td</i> nelle fumatrici.
Kubota et al., 2011	CP	SC1	<i>Aa, Pg, Pi, Tj, Fh/Fp, Td, Cr</i>	Maggiore prevalenza di <i>Cr</i> e minore prevalenza di <i>Aa</i> nei fumatori.
Guglielmetti et al., 2014	CP	PCR quantitativa	<i>Aa, Pg, Tj, Td</i>	Maggiori quantità di <i>Pg, Aa e Tj</i> nei fumatori; un'associazione significativa tra il fumo e la presenza di <i>Aa</i> .
Karasneh et al., 2017	Sano, CP	SC1	25 specie	Nessuna differenza tra fumatori e non fumatori in stato di salute; <i>Ta</i> più alto nei fumatori con parodontite.
Lanza et al., 2016	CP, AP	PCR ad alta purezza	<i>Pg, Tj, Td, Pi, Aa</i>	Nessuna differenza.
Bizzarro et al., 2013	CP da moderata a grave	Cultura PCR quantitativa Sequenziamento 16S	<i>Aa, Pg, Pi, Tj, Pm, Fn, Cr</i> <i>Aa, Pg, Pi, Tj, Pm, Fn, Td</i> Comunità	Nessuna differenza. Nessuna differenza. Maggiore abbondanza di <i>Fusobacterium, Prevotella, e Selenomonas</i> nei fumatori; un cluster è stato identificato da PCoA composto principalmente da fumatori (80%) con una minore diversità tassonomica.
Mason et al., 2015	Sano	Sequenziamento 16S	Comunità	I profili microbici dei fumatori e dei non fumatori erano diversi a tutti i livelli tassonomici; un microbioma altamente diversificato, ricco di agenti patogeni, povero di commensali e anaerobico nei fumatori.
Kumar et al., 2011	Sano	Sequenziamento 16S	Comunità	Una colonizzazione iniziale altamente diversificata e relativamente instabile di biofilm sottogengivali nei fumatori, con più patogeni parodontali di <i>Fusobacterium, Cardiobacterium, Synergistes e Selenomonas</i> .
Yu et al., 2017	Sano	Sequenziamento 16S	Comunità	La diversità microbica e la composizione non erano significativamente diverse dallo stato di fumo.
Joshi et al., 2014	Gengivite sana	Sequenziamento 16S	Comunità	Una colonizzazione patogenetica precoce che ha portato ad un arricchimento prolungato dei patogeni con patogeni parodontali nel biofilm e a una minore resilienza dell'ecosistema nei fumatori.
Shchipkova et al., 2010	CP da moderata a grave	Sequenziamento 16S	Comunità	Maggiore abbondanza di <i>Parvimonas, Fusobacterium, Campylobacter, Bacteroides e Treponema</i> e livelli più bassi di <i>Veillonella, Neisseria e Streptococcus</i> nei fumatori.

Tab. VI Studi clinici in relazione agli effetti del fumo sulla microflora sottogengivale (Pubblicati tra il 2010 e il 2019) The Impact of Smoking on Subgingival Microflora: From Periodontal Health to Disease

(38)

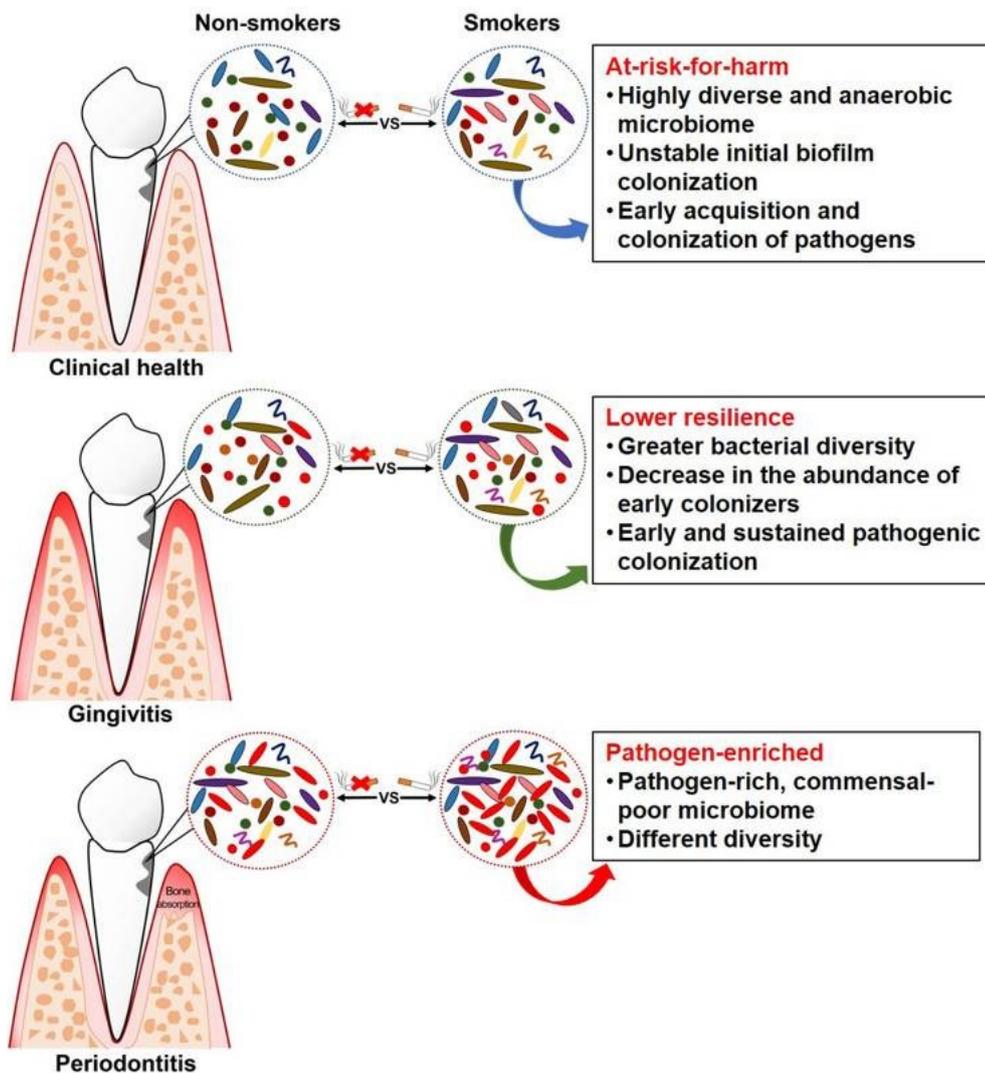


Fig. 3 Sintesi schematica dei risultati clinici della microflora sottogengivale nei fumatori. *The Impact of Smoking on Subgingival Microflora: From Periodontal Health to Disease*

Studi clinici sulla salute hanno rivelato alcune firme "malsane" nella microflora sottogengivale dei fumatori anche senza alcuna manifestazione clinica(75). La microflora sottogengivale dei fumatori era caratterizzata da un microbioma altamente diversificato, ricco di agenti patogeni, povero di commensali e anaerobico, che si pensa sia più strettamente correlato a una comunità associata alla malattia. Inoltre, i fumatori parodontalmente sani hanno avuto una colonizzazione iniziale molto diversificata e relativamente instabile di biofilm sottogengivali e una precoce acquisizione e colonizzazione di patogeni parodontali appartenenti ai generi *Fusobacterium*, *Cardiobacterium*, *Synergistes* e *Selenomonas*(76) Pertanto, il fumo può svolgere un ruolo nella creazione di una comunità microbica sottogengivale "a rischio di danno", rendendo l'ambiente sottogengivale più incline

alla distruzione parodontale.(38)

La gengivite è un precursore necessario della paradontite.(77). Uno studio longitudinale condotto su soggetti, ha esaminato e confrontato la microflora sottogengivale in fumatori e non fumatori in diversi stadi clinici(78). In questo studio, i fumatori hanno dimostrato una maggiore diversità batterica sottogengivale rispetto ai non fumatori durante la gengivite naturale e lo stato di risoluzione dalla malattia alla salute. I fumatori avevano anche un inizio precoce di infiammazione clinicamente visibile rispetto ai non fumatori, che è stato attribuito alla colonizzazione patogena precoce, portando ad un arricchimento prolungato dei patogeni con patogeni parodontali. Ciò è coerente con altri risultati nei fumatori, indicando che la gengivite è preceduta da una diminuzione dell'abbondanza dei primi colonizzatori, come i generi *Streptococcus* e *Veillonella*, e da un aumento dell'abbondanza di parodontopatogeni, come i generi *Treponema* e *Selenomonas*.(79) La capacità di un ecosistema di affrontare le perturbazioni mantenendosi in uno stato stazionario in cui le specie principali e le funzioni chiave sono mantenute è definita come resilienza, che svolge un ruolo importante nella suscettibilità alle malattie.(80) Tuttavia, i fumatori hanno dimostrato una maggiore abbondanza di specie patogene, suggerendo che la microflora sottogengivale nei fumatori aveva una minore resilienza in quanto non riuscivano a mantenersi nello stato originale quando si trattava di perturbazioni, aumentando così il rischio di malattie future. (78)

Differenze nelle comunità batteriche tra fumatori e non fumatori sono state rilevate anche a diversi livelli tassonomici in altri studi(81), con variazioni nei tipi di batteri identificati. A livello generale, il *Fusobacterium*, come il batterio più frequentemente identificato, era più abbondante nei fumatori rispetto ai non fumatori, che è stato suggerito essere uno dei principali determinanti dello spostamento della comunità batterica sottogengivale indotto dal fumo (82) . Il *Fusobacterium*, in particolare il *F. nucleatum*, svolge un ruolo critico nel biofilm sottogengivale a causa del suo ruolo di "specie ponte" tra i microrganismi e della sua capacità immunosoppressiva locale (83), contribuendo così alla progressione e alla gravità della malattia parodontale. Altri batteri che sono costantemente associati alla malattia parodontale includono *Parvimonas*, *Treponema*, *Filifactor* e *Bacteroides*(84) . Tuttavia, c'è un risultato contrastante per quanto riguarda l'abbondanza di due generi comuni, cioè *Streptococcus* e *Veillonella*.(82) Poiché le specie *Veillonella* e *Streptococcus* sono note per essere abbondanti nei biofilm associati alla salute (85) , la maggiore

abbondanza nei fumatori è stata ipotizzata essere il risultato dell'interazione batterica(82). Poiché i fumatori hanno diverse eziologie e manifestazioni cliniche delle malattie parodontali rispetto ai non fumatori, non sorprende che rispondano anche in modo diverso al trattamento parodontale. (38)

L'influenza negativa del fumo sulla risposta alle terapie parodontali è stata precedentemente esaminata attraverso parametri clinici, come il sanguinamento al sondaggio (BoP) e la profondità della tasca (PD)(86). Più recentemente, alcuni risultati microbiologici riguardanti la risposta al trattamento parodontale nei fumatori suggeriscono inoltre gli effetti avversi del fumo. Sebbene i parametri clinici siano migliorati sia nei pazienti con parodontite fumatori che non fumatori dopo terapia non chirurgica e/o chirurgica, nei fumatori è stata osservata una riduzione inferiore e una maggiore prevalenza post-terapia di patogeni parodontali, inclusi i ben noti batteri "red-complex" e "orange-complex(87). E' stato anche segnalato che i fumatori sono più suscettibili al ripristino di un biofilm sottogengivale patogeno rispetto ai non fumatori dopo la desquamazione e la pianificazione delle radici (SRP) perché una significativa diminuzione delle specie patogene è stata osservata solo nei non fumatori 180 giorni dopo il trattamento(88). È quindi razionale utilizzare agenti antimicrobici aggiuntivi, localmente o sistemicamente, nel trattamento parodontale dei fumatori sulla base dell'evidenza che i patogeni sottogengivali sembrano essere più difficili da eliminare nei fumatori dopo terapia non chirurgica e chirurgica(38). Marchioni et al(89) ha dimostrato che la doxiciclina somministrata localmente ha promosso l'eliminazione di *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) e *P. gingivalis* in una percentuale maggiore di siti rispetto alla SRP convenzionale nei fumatori con parodontite cronica. Allo stesso modo, SRP da solo era inefficace nel ridurre i conteggi o le proporzioni dei batteri "rosso-complesso" o "complesso arancione" negli attuali fumatori con parodontite, mentre una combinazione di minociclina e SRP ha ridotto significativamente entrambi(90). L'uso aggiuntivo di metronidazolo e amoxicillina per via sistemica nel trattamento SRP dei fumatori con parodontite cronica ha anche portato ai cambiamenti più benefici nel profilo microbico sottogengivale riducendo la conta media e le proporzioni dei patogeni parodontali, come *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*, e aumentando le proporzioni di specie compatibili con l'ospite (91). È stato anche studiato l'effetto microbiologico della terapia fotodinamica antimicrobica aggiuntiva sul trattamento parodontale non chirurgico; tuttavia, non è stata identificata alcuna differenza. (92)

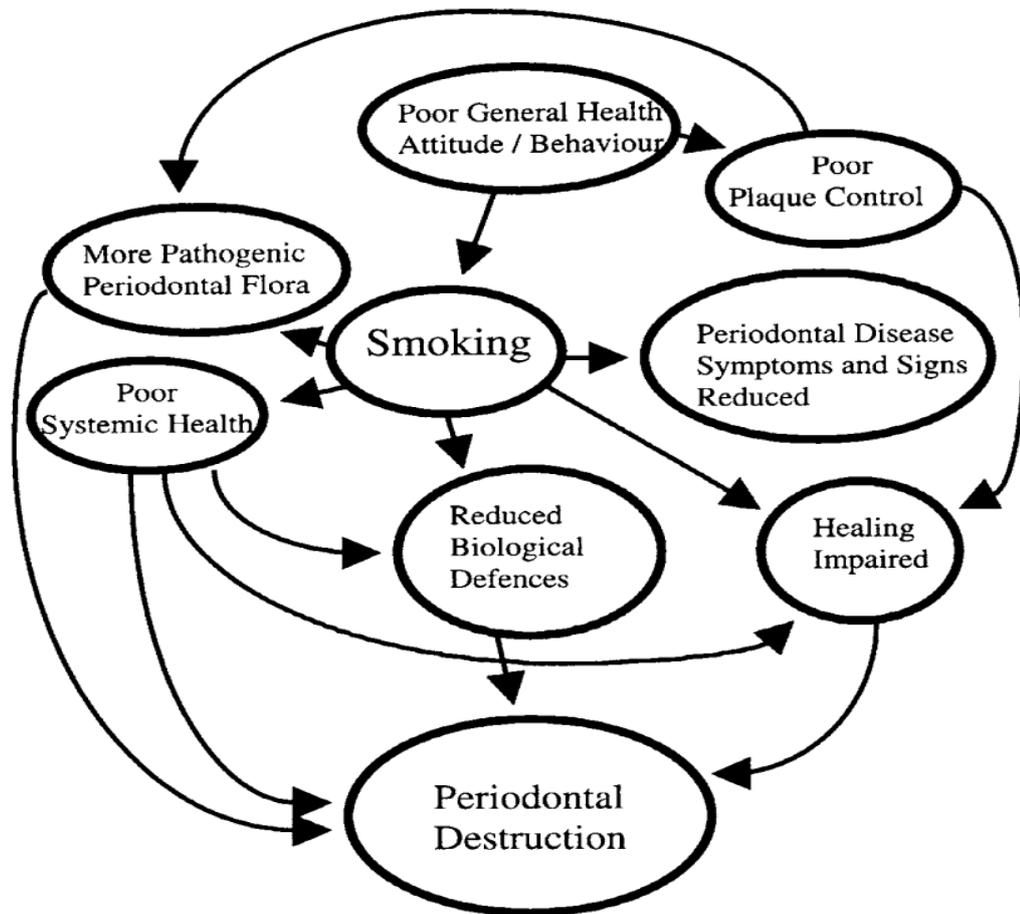


Figure. A diagram summarizing the interactions between smoking and other factors which could ultimately lead to periodontal destruction.

Fig.4 Diagramma che sintetizza le interazioni tra fumo e altri fattori che potrebbero portare alla distruzione paradontale. Smoking and periodontal disease- Zee KY. (93)

Il Workshop mondiale sulla Classificazione delle malattie e delle condizioni parodontali e peri-implantari, che ha avuto luogo a Chicago nel novembre 2017, organizzato dall'American Academy of Periodontology (AAP) e dall'European Federation of Periodontology (EFP) (94), ha stabilito che il fumo insieme al diabete rientra tra i modificatori di grado della parodontite, con aumento del rischio di perdita di attacco da due a otto volte, rispetto ai pazienti non fumatori.

La maggioranza dei casi clinici di parodontite si presenta con un ampio range di manife-

stazioni fenotipiche riconducibili a differenze di suscettibilità ed esposizione alla malattia. In funzione di tale eterogeneità, nel nuovo schema classificativo, la parodontite viene analizzata dettagliatamente mediante un sistema multidimensionale basato su stadio e grado di malattia. Esso consente sia la descrizione della presentazione clinica del caso sia l'analisi di fattori che influenzano non solo terapia e prognosi ma anche possibili ripercussioni su salute orale e sistemica, permettendo una diagnosi individualizzata per il singolo paziente e fluida, cioè modificabile e rivedibile nel tempo anche in base ai risultati terapeutici. La classificazione si esprime con una combinazione di uno dei 4 stadi ed uno dei 3 gradi.

<p>c. Grades: Evidence or risk of rapid progression⁴, anticipated treatment response⁵</p> <p>i. Grade A: Slow rate of progression</p> <p>ii. Grade B: Moderate rate of progression</p> <p>iii. Grade C: Rapid rate of progression</p>
--

Fig.5 Classificazione del Grado. (93)

Il “grado” fornisce informazioni supplementari sulle caratteristiche biologiche della malattia, definisce il tasso di progressione e la presenza di fattori di rischio che possono influenzare questa progressione e la risposta del paziente alla terapia.

	Progression		Grade A: Slow rate	Grade B: Moderate rate	Grade C: Rapid rate
Primary criteria <i>Whenever available, direct evidence should be used.</i>	Direct evidence of progression	Radiographic bone loss or CAL	No loss over 5 years	<2 mm over 5 years	≥2 mm over 5 years
	Indirect evidence of progression	% bone loss / age	<0.25	0.25 to 1.0	>1.0
		Case phenotype	Heavy biofilm deposits with low levels of destruction	Destruction commensurate with biofilm deposits	Destruction exceeds expectations given biofilm deposits; specific clinical patterns suggestive of periods of rapid progression and/or early onset disease
Grade modifiers	Risk factors	Smoking	Non-smoker	<10 cigarettes/day	≥10 cigarettes/day
		Diabetes	Normoglycemic/no diagnosis of diabetes	HbA1c <7.0% in patients with diabetes	HbA1c ≥7.0% in patients with diabetes

Tab. VII Classificazione del Grado. (93)

Fumo e/o diabete se rilevanti, determinano definitivamente il grado in maniera indipendente dal criterio primario. (93)

CAPITOLO 4. MATERIALI E METODI

L'obiettivo primario del presente studio è stato quello di valutare gli effetti dell'uso di sigarette elettroniche nella salute gengivo - parodontale rispetto al consumo di sigarette tradizionali.

Per valutare le condizioni di salute parodontale sono stati utilizzati i seguenti indici:

1. Il Full-Mouth Bleeding Score (FMBS), tramite l'utilizzo di una sonda parodontale PCU15 su 6 siti di ogni dente.
Il sanguinamento viene valutato come presente o assente ed espresso in %, in linea con altri lavori che hanno indagato sullo stato di salute orale dei fumatori (97;98)
2. La Profondità di Sondaggio (PD), esaminato anche in un altro studio (99)
3. Perdita di attacco clinico (CAL).

Inoltre sono stati posti degli obiettivi secondari volti a valutare il controllo di placca batterica attraverso la misurazione della presenza di Biofilm tramite il Full-Mouth Plaque Score (FMPS) espresso in % su 6 siti, in linea con la recente letteratura sullo stesso tema.(97;98;99).

Il livello dello stress ossidativo attraverso analisi *ORAC* (Capacità Antiossidativa del Campione) e *SOD* (Super Ossido Dismutasi) in linea con i protocolli presenti negli studi.(94;95).

Il campione è stato suddiviso in 4 gruppi, come è stato fatto nello studio di Tatullo (97).

Nel dettaglio è stato utilizzato un acronimo per ogni gruppo:

1. *GF*, Gruppo Fumatori, rientrano in questa categoria soggetti che utilizzavano Sigarette tradizionali
2. *GFENC*, Gruppo Fumatori Sigaretta Elettronica a Vapore.
3. *GFEC*, Gruppo Fumatori Sigarette a Combustione, chiamate comunemente "Iqos".
4. *GC*, Gruppo Controllo, rientrano in questa categoria soggetti che non fumavano alcun dispositivo.

Il campione è stato selezionato seguendo i criteri d'inclusione di seguito elencati:

-Età > 18 anni

-Salute generale Sistemica buona

-Pazienti fumatori e non fumatori

Sono stati esclusi, in linea con lo studio di Tatullo (97):

-Gravidanza e Allattamento

-Pazienti che assumono abitualmente più di due farmaci

-Pazienti con Malattie Sistemiche correlate con la MP (Diabetici,Cardiopatici,Oncologici etc.)

-Pazienti Ortodontici

Tutti i pazienti, venivano informati attraverso la consegna di un consenso informato, sulle varie procedure, i materiali e le tempistiche in modo dettagliato. Al fine di effettuare un corretto prelievo salivare, ad ogni persona, veniva chiesto di sospendere l'alimentazione liquida e solida, esentarsi dal fumo, evitare l'uso di gomme da masticare, non spazzolare i denti e/o fare risciacqui con colluttori ed infine sottrarsi dall'uso di prodotti cosmetici (es. burro cacao, lucidalabbra etc.) almeno due ore prima del prelievo salivare, in linea con i protocolli presenti in letteratura (100). Sono stati esaminati in un range d'orario preciso, dalle 8.00 alle 13.00 per omogenizzare la valutazione di tutti i valori biochimici.

Ad ogni paziente, è stato chiesto di compilare due moduli, rispettivamente per il consenso dei dati personali e il consenso alla partecipazione dello studio Osservazionale. Successivamente, sono stati sottoposti ad un'anamnesi [Allegato 4] e subito alla raccolta del campione salivare con l'utilizzo delle Salivette, ogni persona veniva invitata a masticare per due minuti un cottoncino bianco insipido, al termine dei 120 secondi, l'operatore inseriva l'oggetto all'interno della provetta, aiutandosi con una pinza e sistemava il tutto in un porta campioncini trasferito manualmente all'intero di un congelatore a -20° nel reparto di Anatomia Patologica presso l'Ospedale di Torrette. Per la determinazione della capacità antiossidante totale, è stato preso in considerazione il TEST ORAC.

Quest'ultimo misura la capacità di una molecola antiossidante, di prevenire la perdita del segnale di fluorescenza della sonda fluorescina,eliminando i radicali perossilici generati dalla decomposizione termina del 2,2' – azobis (2-metilpropilammide) dicloridrato (AAPH).

Come standard viene utilizzato il TROLOX (analogo idrosolubile della vitamina E) ed i risultati ottenuti dai campioni vengono espressi in milligrammi equivalenti di trolox su

millimetri (mg trolox/ml).

Per la curva standard preparare sei diluizioni (S1-6) di trolox (tab.VIII):

S1	S2	S3	S4	S5	S6
5 μ m	25 μ m	50 μ m	100 μ m	200 μ m	300 μ m

Tab. VIII Preparazione Curva standard

1. Pesare 125mg di Trolox e sciogliere in DMSO fino ad un volume finale di 50ml, per ottenere uno stock madre di 10Mm. Partire da questa soluzione per effettuare le diluizioni in successione in PBS.
2. Preparare uno stock di fluoresceina 0.08 Mm (sciogliendo la polvere in DMSO), da diluire in PBS prima dell'analisi per ottenere una soluzione 0.008 uM.
3. Preparare la soluzione di AAPH (150mM), sciogliendone 0,407g in PBS e portando a volume di 10ml.
4. Preparare la piastrine con doppia copia in Bianco, di ogni standard e di ogni campione.

	BIANCO	STANDARD	CAMPIONI
PBS	25 μ m	/	/
Trolox(standard)	/	25 μ m	/
Campione	/	/	25 μ m
Fluoresceina	150 μ l	150 μ l	150 μ l

Tab IX Preparazione alla tabella curva standard

1. Pre-incubare la piastrina a 37° per 10 minuti.
2. Aggiungere in ogni pozzetto 25 μ l di soluzione AAPH (150Mm)
3. Leggere l'assorbenza a 765nm.
4. Eseguire allo spettrofotometro una cinetica di 3h con letture ogni 5 minuti a 530nm.

Gli indici biometrici FMPS, FMBS, CAL e PD sono stati raccolti in una cartella parodontale.

CAPITOLO 5: RISULTATI

Da un campione iniziale di 70 Soggetti, alla fine dello studio sono stati selezionati 44 persone divise in 4 gruppi come mostra la tabella.

GC	GFS	GFENC	GFEC
10	14	10	10
TOT. 44			

Tab.IX Suddivisione in gruppi dal campione totale

I pazienti hanno tutti un'età compresa tra i 20 anni e i 30 anni. (Fig.6)

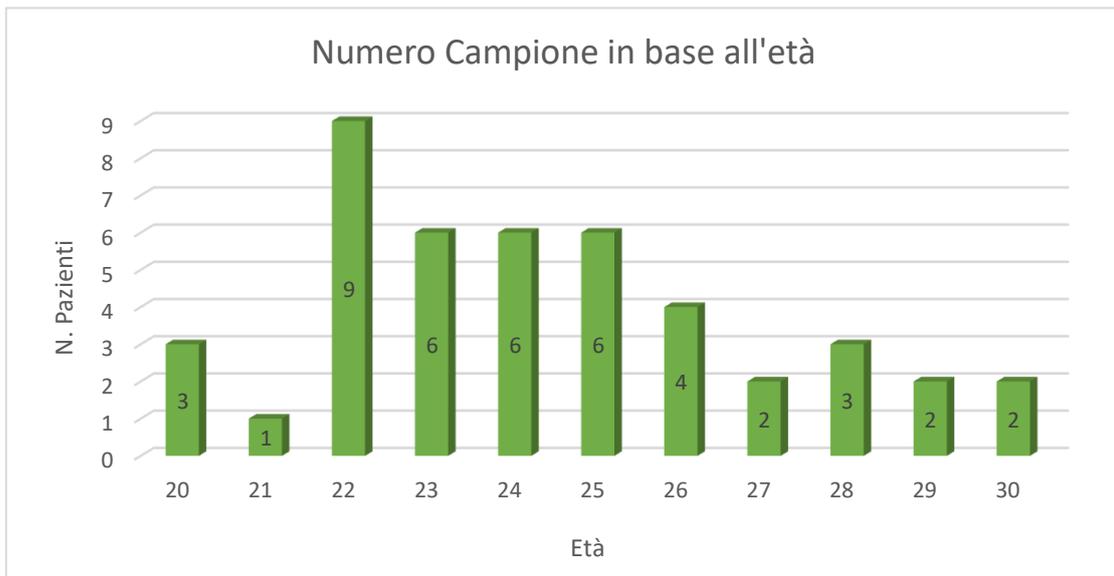


Fig.6 Numero Campione in base all'età

L'età media per ogni gruppo non presenta differenze significative.

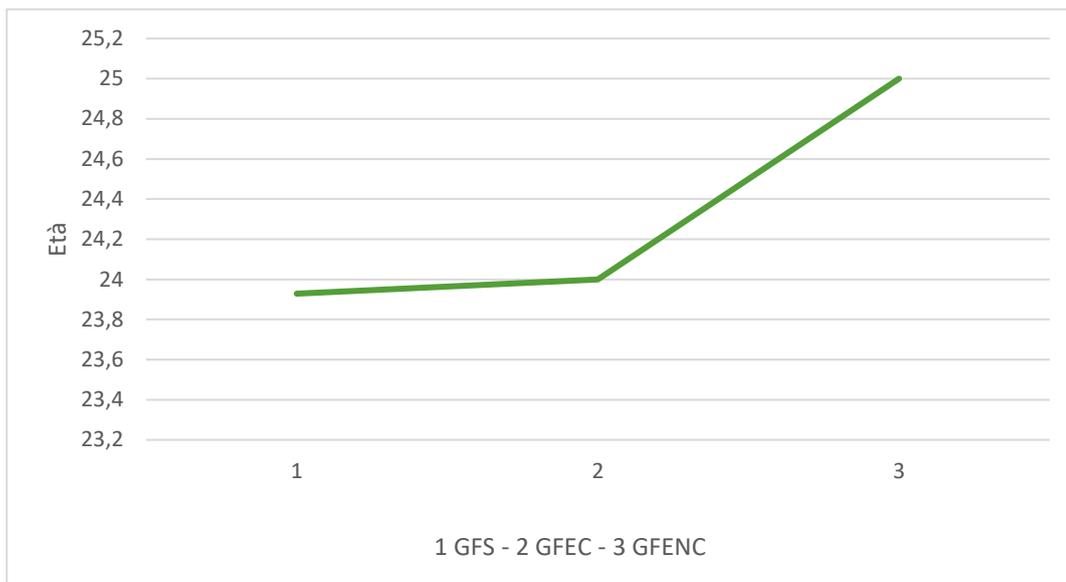


Fig.7 Medie dell'età in relazione ai dispositivi.

Dal grafico in Fig.7 risulta che:

I pazienti GFS hanno un'età media uguale a 23,9 anni, quelli GFEC è di 24 anni e GFENC hanno un'età media uguale a 25 anni.

Il campione è composto per il 52% da Uomini e per il 48% da Donne.

Femmine	Maschi
21	23



Fig.8 Sesso del campione

Il grafico in fig.8 mostra la distribuzione del sesso in base all'utilizzo dei diversi dispositivi.

Le Sigarette Tradizionali (GFS) sono più utilizzate dagli Uomini rispetto alle Donne, con un rapporto 5:9.

Le Sigarette Elettroniche a Combustione (GFEC) al contrario, sono più ricercate dal Genere Femminile rispetto al genere Maschile, con un rapporto 9:1.

Infine, le Sigarette Elettroniche a Vapore (GFENC) sono più consumate dai Ragazzi rispetto alle Ragazze, con un rapporto 8:2.

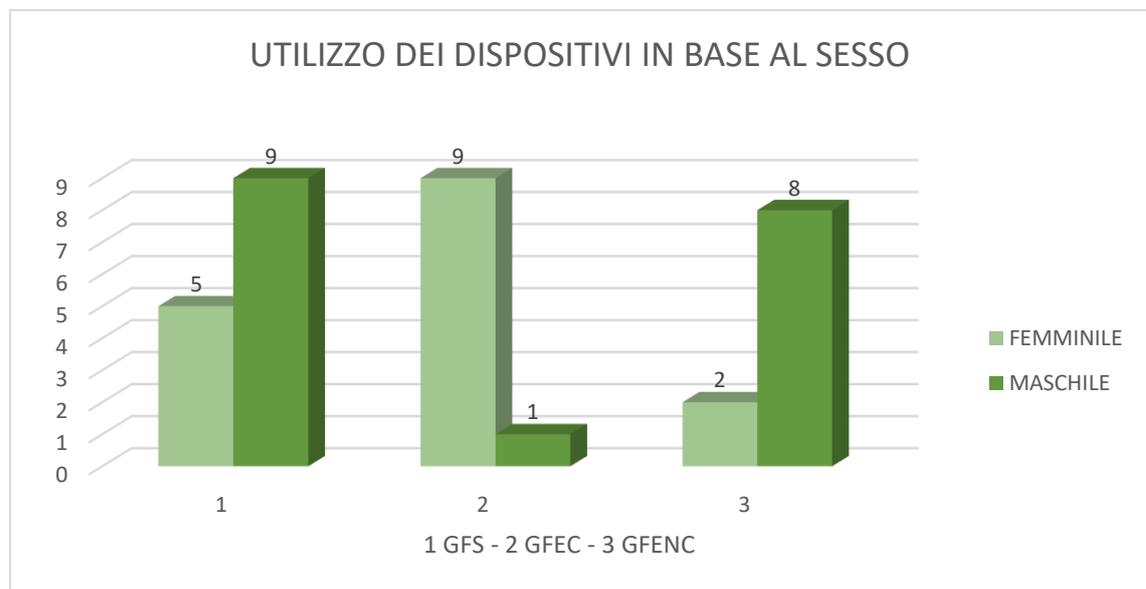


Fig.9 Utilizzo dei dispositivi in base al Sesso

Analizzando il Primo Gruppo, GFS, è emerso che la Somma dei singoli FMPS espressi in % diviso il numero Totale di Pazienti ha dato come quoziente 88%.

Stessa identica procedura è stata svolta per andare a esaminare le medie del FMBS con quoziente al 34% , il PD<4mm al 17% , il PD>/5mm al 7% e il CAL al 3%.

I dati biometrici e gli indici di salute emersi dall'analisi del campione sono illustrati nella tabella X.

GFS(Media in %)				
FMPS	FMBS	PD</4mm	PD>/5mm	CAL
88%	34%	17%	7%	5mm
GFEC(Media in %)				
FMPS	FMBS	PD</4mm	PD>/5mm	CAL
77%	16%	7%	2&	3mm
GFENC(Media in %)				
FMPS	FMBS	PD</4mm	PD>/5mm	CAL
83%	16%	11%	3%	4mm
GC(Media in %)				
FMPS	FMBS	PD</4mm	PD>/5mm	CAL
76%	20%	5%	1%	2mm

Tab. X Media in % dei dati biometrici e indici di salute per dispositivo.

La tab. XI è stata sviluppata a seguito della rilevazione della capacità anti-ossidativa del campione. Per ogni paziente, *L'orac*, espresso in *Tolox equivalenti*, è stato misurato in doppio.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<0,000	<0,000	49,452	50,64	56,345	51,116	67,279	73,222	93,901	95,565	44,222	35,19
B	<0,000	<0,000	70,132	68,705	100,082	98,655	229,628	246,029	105,786	106,499	58,247	56,107
C	16,649	24,969	77,738	78,689	43,747	43,747	76,549	72,271	64,902	62,05	54,206	53,968
D	54,443	64,189	152,851	155,466	48,501	45,173	77,976	76,787	52,542	48,739	58,722	61,574
E	116,007	115,77	171,391	174,719	134,786	130,982	86,533	73,697	72,033	65,853	116,24 5	113,86 8
F	201,104	214,177	94,377	92,713	97,705	97,942	104,598	99,131	96,041	96,516	77,262	72,509
G	287,864	289,528	57,296	62,05	88,91	95,09	70,845	66,328	122,901	121,475	72,746	66,566
H	56,82	56,107	92,951	95,09	103,647	97,467	82,016	75,123	89,861	87,008	48,976	43,272

Tab. XI Risultati OPAC misurato in doppio per ogni singolo Paziente.

Le colonne contenenti i valori standard, rappresentate in bianco della Tab. XI, sono indicate nella Fig.10

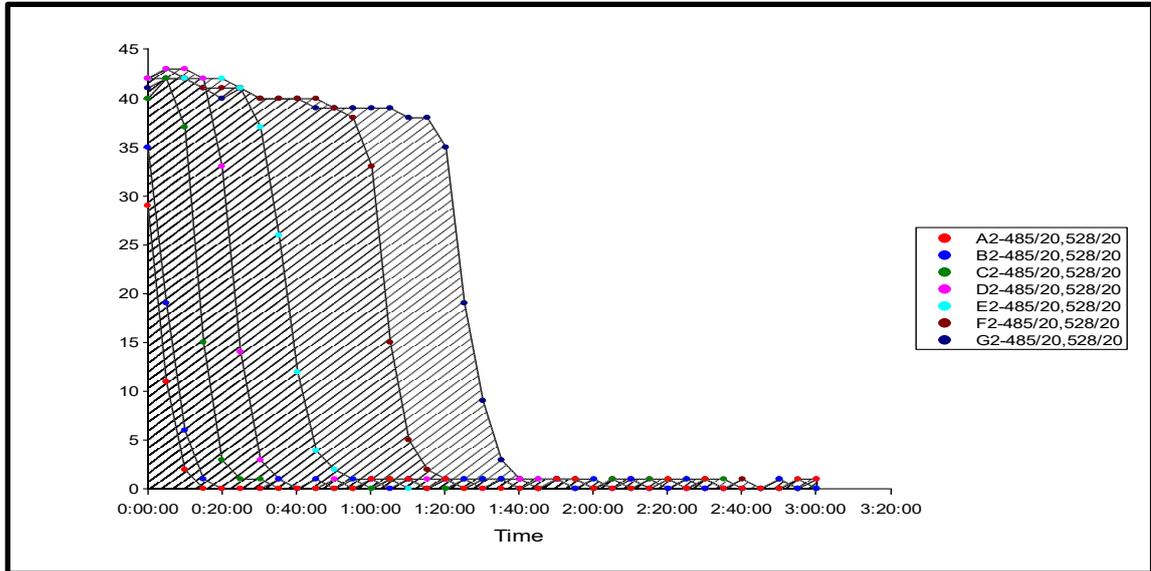


Fig.10 Valori Campioni Standard con concentrazioni diverse e crescenti; Viene calcolata l'Area al di sotto della curva.

Per ogni gruppo, sono stati attribuiti due valori e da quest'ultimi è stata ricavata una media, la somma di queste medie ha dato come risultante un valore intermedio totale. Inoltre, di fianco alle varie tabelle qui sotto rappresentate, a parità di campione, è stato descritto il tempo di utilizzo e se attualmente o nel passato il paziente avesse fatto uso di altri apparecchi.

GFENC				
CAMPIONE	VALORE 1	VALORE 2	MEDIA	MEDIA TOT
1	56,82	56,107	56,46	74,84
8	57,296	62,05	59,67	
9	92,951	95,09	94,02	
16	88,91	95,09	92	
21	77,976	76,787	77,38	
22	86,533	73,697	80,11	
24	70,845	66,328	68,58	
26	93,901	95,565	94,73	
29	52,542	48,739	50,64	

Tab.XII Media valori Orac (trolox equivalenti) nel campione GFENC.

GFENC		
CAMPIONE	TEMPO UTILIZZO	PURO (SI/NO)
1	2 anni	NO,13 ANNI GFS
8	2 anni	SI
9	2 anni	NO,6 ANNI GFS
16	2 anni	NO,11 ANNI GFS
21	2 anni	SI
22	1 anno	NO,6 ANNI GFS
24	3 anni	NO,7 ANNI GFS
26	1 anno	NO,2 ANNI GFS
29	2 anni	NO,13 ANNI GFS

Tab. XIII Campione Puro (SI/NO); Tempo utilizzo dispositivo.

GFEC				
CAMPIONE	VALORE 1	VALORE 2	MEDIA	MEDIA TOT.
3	70,132	68,705	69,41	84,71
7	94,377	92,713	93,54	
10	56,345	51,116	53,73	
15	97,705	97,942	97,82	
18	67,279	73,222	70,25	
23	104,598	99,131	101,86	
30	72,033	65,853	68,94	
32	122,901	121,475	122,18	

GFEC		
CAMPIONE	TEMPO UTILIZZO	PURO (SI/NO)
3	3 anni	NO,9 anni GFS
7	4 anni	NO,5 anni GFS
10	5 anni	SI
15	3 anni	GFS tutt'oggi
18	6 anni	SI
23	6 anni	GFS tutt'oggi
30	2 anni	SI
32	3 anni	SI

Tab.XIV Media valori Orac (trolox equivalenti) nel campione GFEC

Tab.XV Campione Puro (SI/NO); Tempo utilizzo dispositivo.

GFS				
CAMPIONE	VALORE 1	VALORE 2	MEDIA	MEDIA TOT.
2	49,452	50,64	50,04	106,77
4	77,738	78,689	78,21	
5	152,851	155,466	154,15	
6	171,391	174,719	173,055	
11	100,082	98,655	99,36	
12	43,747	43,747	43,747	
14	134,786	130,982	132,88	
19	229,628	246,029	237,82	
20	76,549	72,271	74,41	
25	82,016	75,123	78,56	
27	105,786	106,499	106,14	
28	64,902	62,05	63,47	
31	96,041	96,516	96,27	

GFS		
TEMPO UTILIZZO	FREQUENZA	TEMPO UTILIZZO
2	2 anni	2/gg
4	2 anni	2/gg
5	5 anni	10/gg
6	4 anni	6/gg
11	2 anni	5/gg
12	7 anni	6/gg
14	4 anni	15/gg
19	14 anni	15/gg
20	8 anni	3/gg
25	7 anni	6/gg
27	1 anno	3/gg
28	9 anni	10/gg
31	2 anni	1/gg

Tab.XVI Media valori Orac (trolox equivalenti) nel campione GFS

Tab. XVII Frequenza e tempo di utilizzo del dispositivo

GC				
CAMPIONE	VALORE 1	VALORE 2	MEDIA	MEDIA TOT.
13	48,501	45,173	46,837	68,41
17	103,647	97,467	100,557	
33	44,222	35,19	39,706	
34	58,247	56,107	57,177	
35	54,206	53,968	54,087	
36	58,722	61,574	60,148	
37	116,245	113,868	115,0565	
38	77,262	72,509	74,8855	
39	72,746	66,566	69,656	
40	48,976	43,272	46,124	
41	89,861	87,008	88,4345	

Tab.XVIII Media valori Orac(trolox Equivalenti) nel campione GC

Infine, è stata esaminata la Super Ossido Dismutasi(SOD).

Come per l'ORAC, è stata calcolata la media complessiva in ciascun gruppo.

GC	
Campione	SOD activity (U/ml)
13	1,87
17	1,83
33	1,47
34	0,57
35	0,72
36	0,87
37	0,88
38	4,75
39	0,52
40	1,45
41	1,44
TOTALE MEDIA	1,48

Tab. XIX Valore SOD activity del campione GC.

GFENC	
Campione	SOD activity (U/ml)
1	1,09
8	0,9
9	1,88
16	3,87
21	1,52
22	3,5
24	1,19
26	1,45
29	1,98
TOTALE MEDIA	2,17

Tab. XX Valore SOD activity del campione GFENC.

GFEC	
Campione	SOD activity (U/ml)
3	1,62
7	1,03
10	2,05
15	1,9
18	0,73
23	2,13
30	1,19
32	1,3
TOTALE MEDIA	1,49

Tab. XXI Valore SOD activity del campione GFEC.

GFS	
Campione	SOD activity (U/ml)
2	1,69
4	2,29
5	1,23
6	5,02
11	2,47
12	1,91
14	2,31
19	7,54
20	1,09
25	1,21
27	1,09
28	1,11
31	1,61
TOTALE MEDIA	2,35

Tab. XXII Valore SOD activity del campione GFEC.

CAPITOLO 6. DISCUSSIONE

Dallo studio effettuato è emerso che l'accumulo di placca è maggiore nei soggetti GFS (fumatori di sigarette tradizionali) rispetto ai gruppi GC (Gruppo non fumatori), GFEC (Gruppo fumatori sigarette a combustione) e GFENC (Gruppo fumatori sigarette a vapore) in linea con lo studio di Mahmoud Rouabhia (99) dove è emerso che l'FMPS era significativamente più alto nei fumatori di tabacco seguiti dagli utenti di sigarette elettroniche, rispetto ai non fumatori.

Il grafico in Fig. 11 mostra l'indice di placca distribuito in base al dispositivo.

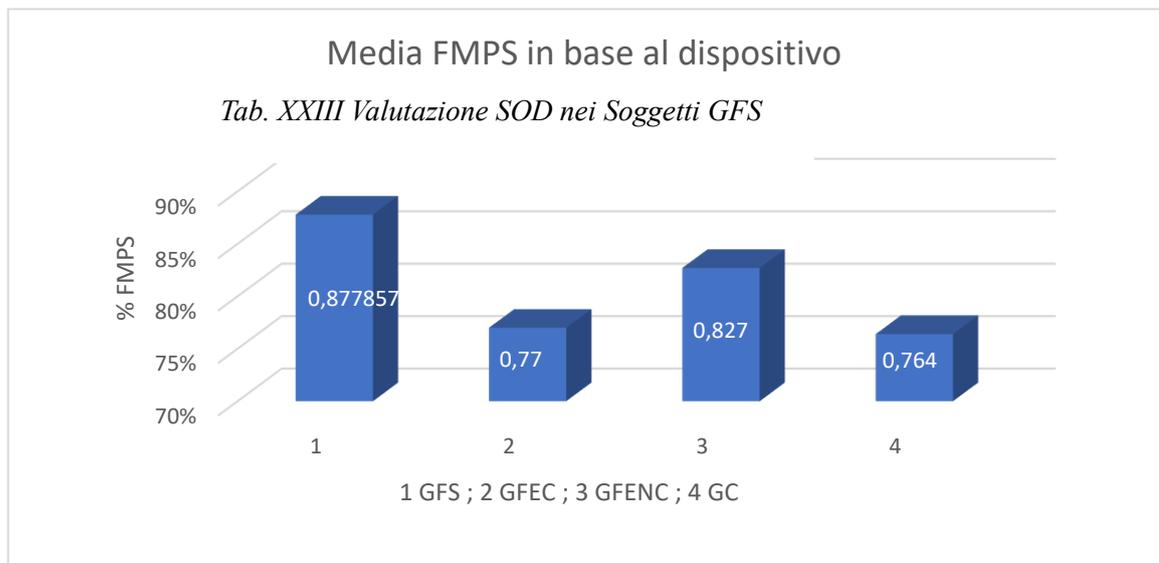


Fig. 11 Media FMPS in base al dispositivo.

Inoltre, l'FMBS è risultato essere maggiore, come per l'FMPS, nei soggetti fumatori di sigarette di tabacco seguiti dal Gruppo di Pazienti non fumatori e infine, a parità di %, ci sono i due gruppi GFEC e GFENC.

Un risultato non perfettamente in linea con lo studio descritto da Gozde Isik Andrikopoulos (98).

Nel suo elaborato è stato riscontrato che quando i fumatori sono passati dalle sigarette alle e-cigs per 2 settimane, c'è stato un aumento statisticamente significativo

dell'infiammazione gengivale, percentuale di siti con BOP; una direzione simile a quella che si verifica quando i fumatori smettono di fumare, e un aumento del volume GCF, sulla base di questo studio, è improbabile che la nicotina sia l'unico reagente causante della costrizione gengivale e della riduzione del BOP poiché sia le sigarette che le e-cig forniscono una fonte di nicotina.

Il grafico in Fig. 12 indica l'indice di sanguinamento dei 4 gruppi a confronto.

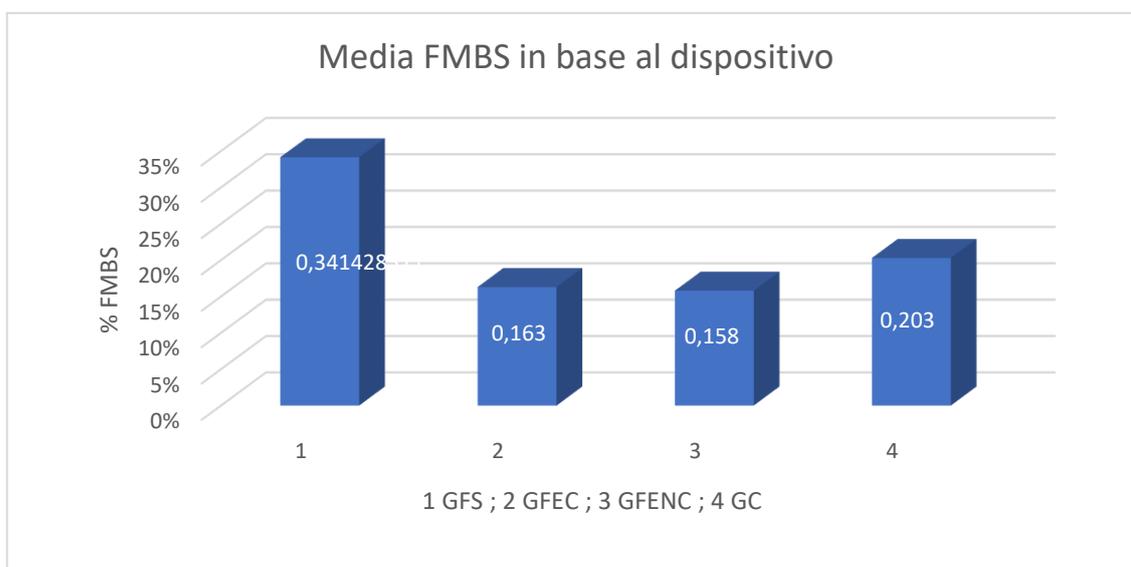


Fig 12 Media FMBS in base al dispositivo.

Il terzo indice che è stato esaminato per valutare la salute gengivo-parodontale dei vari gruppi è il PD (Profondità di Sondaggio).

Nello specifico, sono stati analizzati separatamente i siti con $PD < 4\text{mm}$ e siti con $PD > 5\text{mm}$ e per entrambi i valori è risultato essere maggiore nei GFS messo a confronto con i non fumatori e gli e-cigs.

Tale valutazione è stato fatto nello studio di M. Rouabhia (90) il quale ha rilevato che i soggetti fumatori di sigarette tradizionali hanno percentuali di profondità di sondaggio maggiori rispetto a pazienti fumatori di sigarette elettroniche e rispetto ai non fumatori. I grafici in Fig. 13 e in Fig. 14 mostrano l'andamento in % del PD nei 4 gruppi.

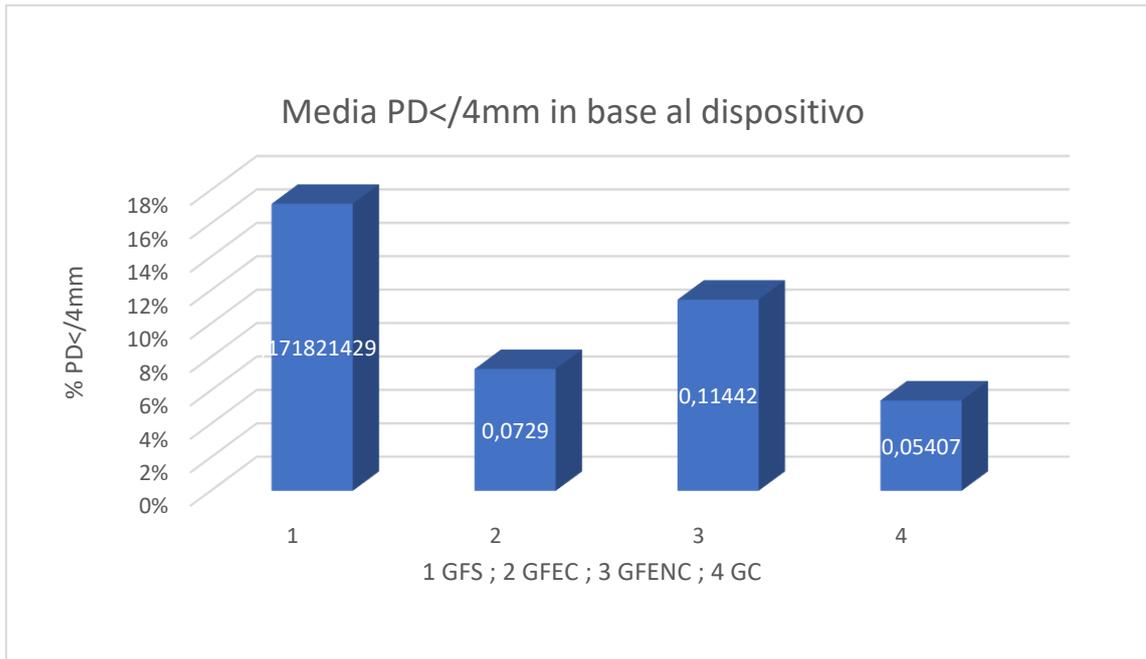


Fig. 13 Media PD</4mm in base al dispositivo.

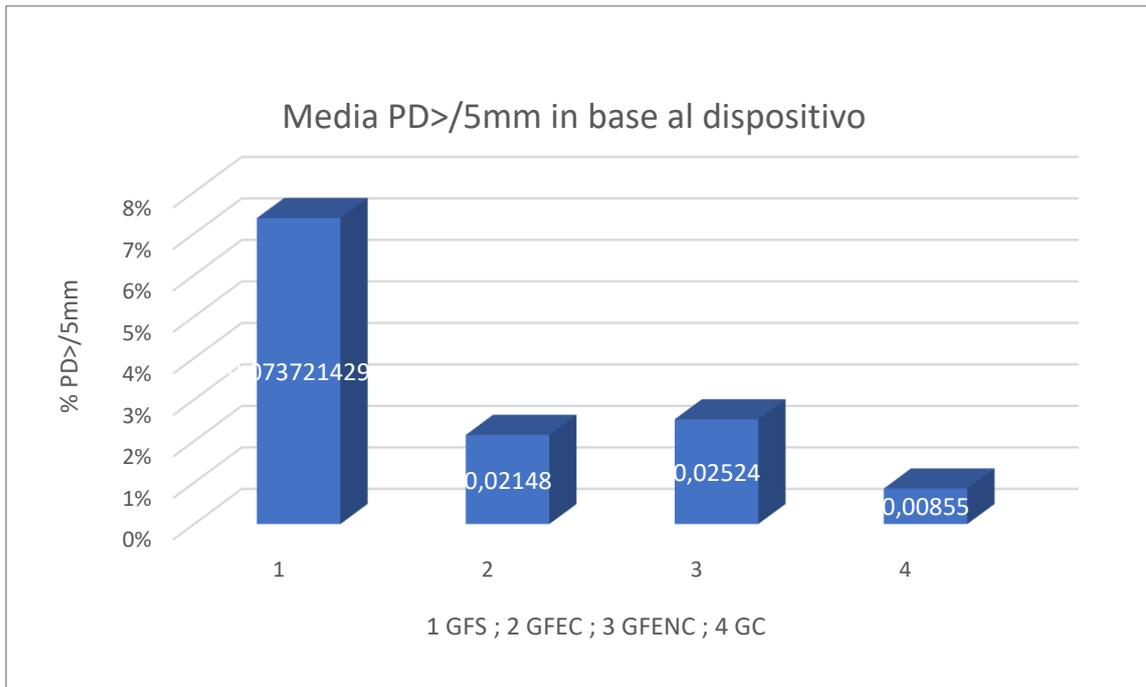


Fig 14 Media PD>/5mm in base al dispositivo.

Infine, l'ultimo parametro preso in considerazione per valutare la salute paradontale è il Livello di attacco clinico (CAL) espresso in mm.

In linea con i risultati dimostrati precedentemente, i GFS hanno un livello di attacco clinico superiore rispetto ai 3 gruppi messi a confronto.

Il grafico in Fig. 15 rappresenta l'andamento del CAL nei 4 gruppi.

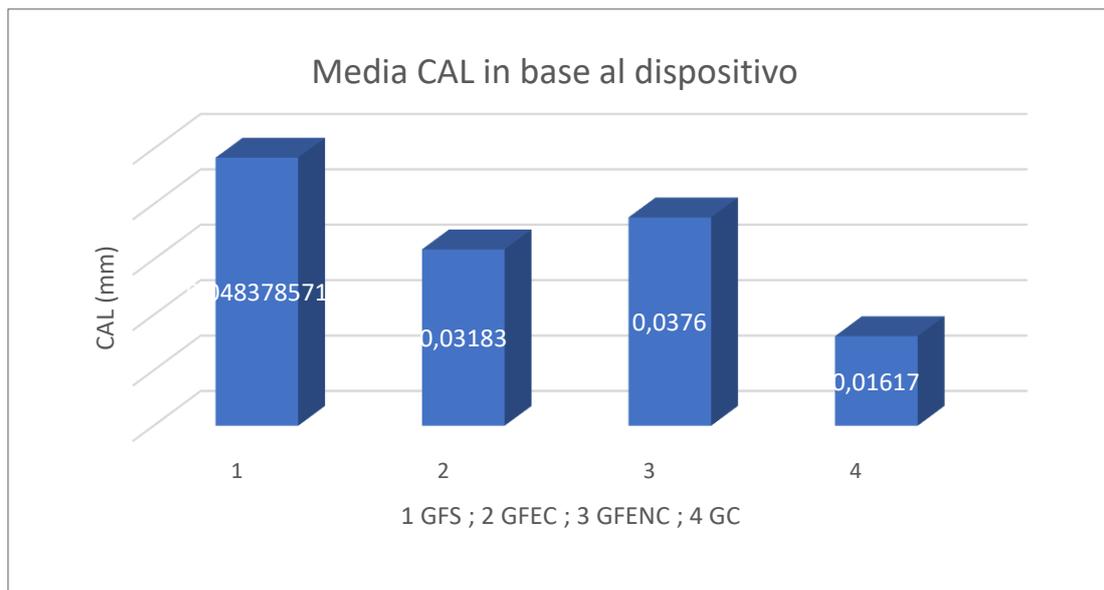


Fig. 15 Media CAL in base al dispositivo.

Il livello dello stress ossidativo è stato riscontrato con l'ORAC (Capacità di assorbimento radicale dell'ossigeno) e con il SOD (Super ossido-dismutasi).

Confrontando i fumatori di sigaretta tradizionale con i fumatori di sigaretta elettronica e i non fumatori è emerso che sia il SOD che l'ORAC hanno rispettivamente i valori più alti nei GFS rispetto ai GC,GFENC e GFEC.

Questa tesi non trova riscontro nell'articolo pubblicato da [Dominika Cichońska](#) (95) secondo cui il valore del TEAC (capacità antiossidante equivalente Trolox) nel gruppo degli utenti di sigarette elettroniche è stato di 1,3 mM (0,04), nel gruppo degli utenti di sigarette tradizionali è stato di 1,2 mM (0,05) e tra i non fumatori è stato di 1,5 mM (0,03). I valori di TEAC tra gli utenti di sigarette elettroniche e i fumatori di sigarette tradizionali erano inferiori rispetto al gruppo dei non fumatori, stesso principio per i valori di TAOS (stato antiossidante totale).

I grafici in Fig. 16 e in Fig.17 mostrano l'andamento dell'ORAC nei 4 gruppi.

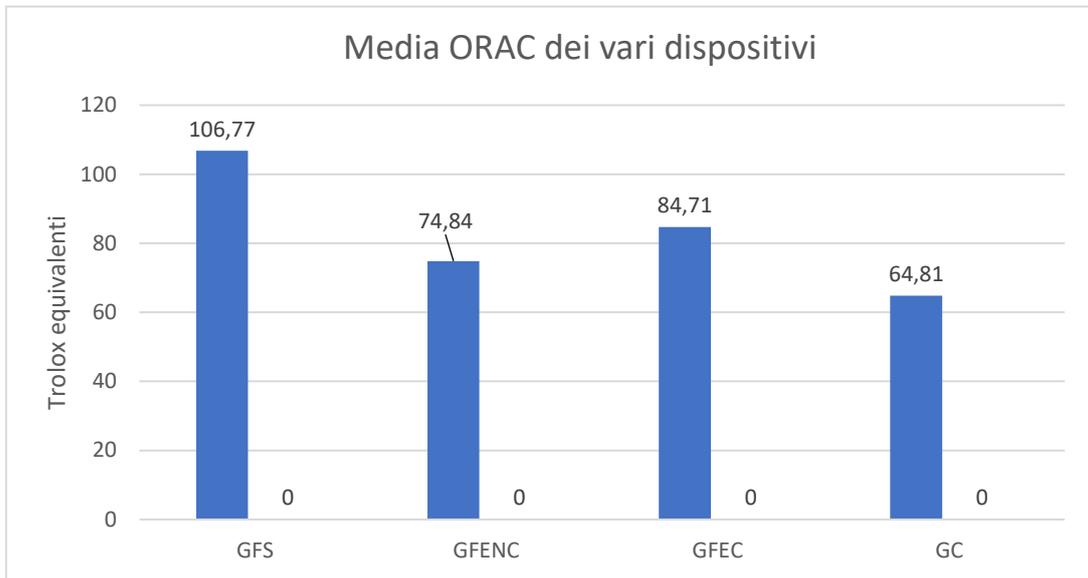


Fig. 16 Media ORAC dei vari dispositivi.

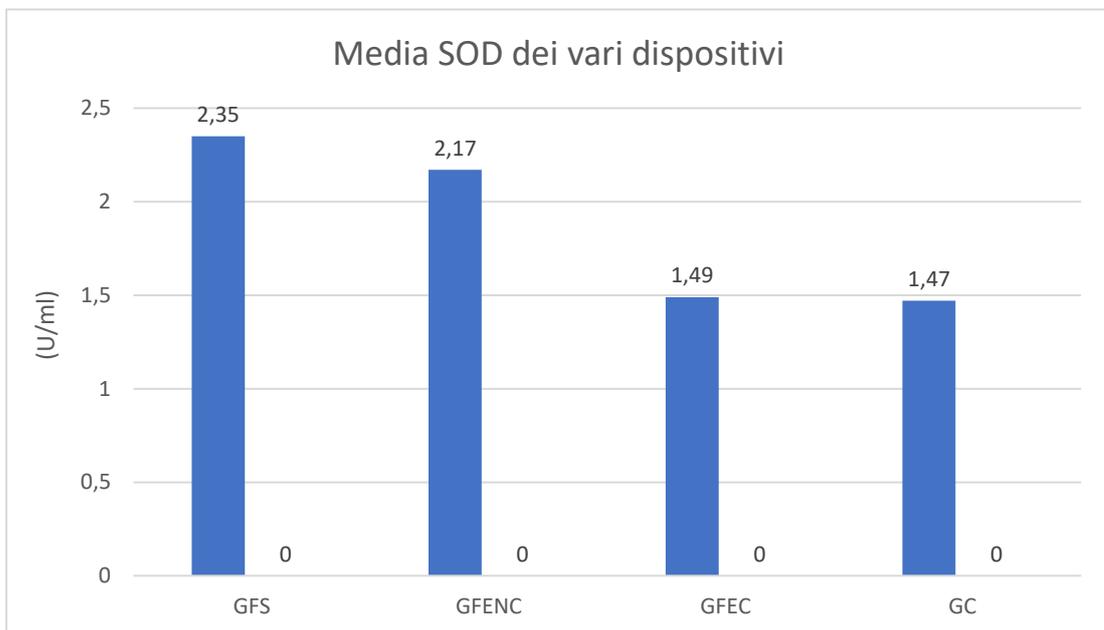


Fig. 17 Media SOD dei vari dispositivi.

CONCLUSIONI

Il presente studio si è posto l'obiettivo di valutare gli effetti dell'uso di sigarette elettroniche nella salute gengivo-parodontale rispetto al consumo di sigarette tradizionali. Da questa ricerca, è emerso che i fumatori di sigarette tradizionali hanno maggior accumulo di placca e infiammazione gengivale rispetto ai non fumatori e ai fumatori di sigarette elettroniche, a prescindere dalla quantità di nicotina presente nei vari dispositivi. Inoltre, l'uso delle sigarette elettroniche influisce negativamente sulla capacità antiossidante della saliva, a confronto ai non fumatori ed in misura ridotta rispetto ai fumatori di sigarette tradizionali, ciò potrebbe presentare un importante rischio clinico di disturbi del cavo orale.

I risultati ottenuti, vanno ad avvalorare i dati ricavati dagli studi pubblicati precedentemente ma saranno necessarie ulteriori analisi per confermare o smentire ciò che è stato dichiarato.

Sarebbero auspicabili programmi di prevenzione nelle scuole le quali possono contribuire in modo sostanziale al miglioramento dello stato di salute e al rafforzamento delle risorse personali e sociali delle future generazioni.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- (1) DeMarini DM. Genotossicità del fumo di tabacco e del condensato di fumo di tabacco: una revisione. 2004
- (2) Durazzo TC, Mattsson N, Weiner MW. Neuroimaging della malattia di Alzheimer I: fumo e aumento del rischio di malattia di Alzheimer: una revisione dei potenziali meccanismi. *Alzheimer Demente*. 2014
- (3) Ruscello I, Gober AE. Recupero di potenziali agenti patogeni e batteri interferenti nel rinofaringe di fumatori e non fumatori. *Petto*. 2005
- (4) Correa P. Infezioni batteriche come causa di cancro. *J Natl Cancer Inst*. 2003
- (5) chulz JD, Hawkes EL, Shaw CA. Tossine cicadee, *Helicobacter pylori* e parkinsonismo: glucosidi del colesterolo come denominatore comune. *Ipotesi mediche*. 2006
- (6) Esseri umani IWGotEoCRt Fumo di tabacco e fumo involontario. *IARC Monogr Eval Cancerogeno Rischi Hum*. 2004
- (7) Larsson L, Szponar B, Ridha B, Pehrson C, Dutkiewicz J, Krysinska-Traczyk E, Sitkowska J. Identificazione di componenti batterici e fungini nel tabacco e nel fumo di tabacco. *Tob Induc Dis*. 2008
- (8) Sapkota AR, Berger S, Vogel TM. Patogeni umani abbondanti nel metagenoma batterico delle sigarette. *Prospettiva della salute dell'ambiente*. 2010

- (9) . Jaspers I. Effetti del fumo di sigaretta sui meccanismi immunitari innati nella mucosa nasale. Potenziali effetti sul microbioma. *Ann Am Thorac Soc.* 2014
- (10) Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effetti del fumo di tabacco sull'immunità, l'infiammazione e l'autoimmunità. *J Autoimmun.* 2010
- (11) Droemann D, Goldmann T, Tiedje T, Zabel P, Dalhoff K, Schaaf B. L'espressione del ricevitore 2 toll-like è diminuita sui macrofagi alveolari nei fumatori di sigarette e nei pazienti con BPCO. *Respir Res.* 2005
- (12) Kulkarni R, Antala S, Wang A, Amaral FE, Rampersaud R, Larussa SJ, Planet PJ, Ratner AJ. Il fumo di sigaretta aumenta la formazione di biofilm di *Staphylococcus aureus* attraverso lo stress ossidativo. *Infetta Immun.* 2012
- (13) Oggioni MR, Trappetti C, Kadioglu A, Cassone M, Iannelli F, Ricci S, Andrew PW, Pozzi G. Passaggio dalla vita planctonica a quella sessile: un evento importante nella patogenesi pneumococcica. *Mol Microbiol.* 2006
- (14) Mutepe ND, Cockeran R, Steel HC, Theron AJ, Mitchell TJ, Feldman C, Anderson R. Effetti del condensato del fumo di sigaretta sulla formazione del biofilm pneumococcico e sulla pneumolisina. *Eur Respir J.* 2013
- (15) Mason MR, Preshaw PM, Nagaraja HN, Dabdoub SM, Rahman A, Kumar PS. Il microbioma sottogengivale di corrente clinicamente sano e mai fumatore. *ISME J.* 2015
- (16) Shanahan ER, Shah A, Koloski N, Walker MM, Talley NJ, Morrison M, Holtmann GJ. Influenza del fumo di sigaretta sul microbiota associato alla mucosa duodenale umana. *Microbioma.* 2018.
- (17) Boral MC. Studi sull'effetto eritropoietico del plasma di rospi anemici sia con che senza testicolo. *Endokrinologie.* 1979

- (18) Isenberg JI. Il fumo di sigaretta inibisce la secrezione di bicarbonato della mucosa duodenale stimolata dall'acido. *Ann Stagista Med.* 1993.
- (19) Murthy SN, Dinoso VP, Jr, Clearfield HR, Chey WY. Variazioni seriali del pH nel bulbo duodenale durante il fumo 2006
- (20) Smoking and microbiome in oral, airway, gut and some systemic diseases. Chunroing Huang 2019
- (21) Zhang Y, Sumner W, Chen DR. Le distribuzioni granulometriche *in vitro* negli aerosol di sigaretta elettronica e convenzionale suggeriscono modelli di deposizione comparabili. *Nicotina Tob Res.* 2013
- (22) Murthy SN, Dinoso VP, Jr, Clearfield HR, Chey WY. Variazioni seriali del pH nel bulbo duodenale durante il fumo 2004.
- (23) Chun LF, Moazed F, Calfee CS, Matthay MA, Gotts JE. Tossicità polmonare delle sigarette elettroniche. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2017
- (24) Goniewicz ML, Knysak J, Gawron M, et al. Livelli di agenti cancerogeni e tossici selezionati nel vapore delle sigarette elettroniche. *Controllo Tob.* 2014
- (25) Hess CA, Olmedo P, Navas-Acien A, et al. Le sigarette elettroniche come fonte di metalli tossici e potenzialmente cancerogeni. *Ambiente Res.* 2017
- (26) Herrington JS, Myers C. Soluzioni per sigarette elettroniche e profili aerosol risultanti. *J Chromatogr A.* 2015
- (27) Cai H, Wang C. Revisione grafica: il lato oscuro redox delle sigarette elettroniche; esposizione agli ossidanti e preoccupazioni per la salute pubblica. *Redox Biol.* 2017

- (28) Vansickel AR, Weaver MF, Eissenberg T. Valutazione clinica di laboratorio della responsabilità per abuso di una sigaretta elettronica. *Dipendenza*. 2012
- (29) Reidel B, Radicioni G, Clapp PW, et al. L'uso della sigaretta elettronica provoca una risposta immunitaria innata unica nel polmone, che comporta una maggiore attivazione neutrofila e un'alterata secrezione di mucina. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018
- (30) Lerner CA, Sundar IK, Yao H, et al. I vapori prodotti dalle sigarette elettroniche e dagli e-juice con aromi inducono tossicità, stress ossidativo e risposta infiammatoria nelle cellule epiteliali polmonari e nel polmone di topo. *PLoS Uno*. 2015
- (31) Hom S, Chen L, Wang T, et al. L'attivazione piastrinica, l'adesione, l'infiammazione e il potenziale di aggregazione sono alterati in presenza di estratti di sigaretta elettronica a concentrazioni variabili di nicotina. *Piastrine*. 2016
- (32) Benowitz, NL. Farmacologia della nicotina: dipendenza, malattie indotte dal fumo e terapie. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2009
- (33) Qasim H, Karim ZA, Rivera JO, Khasawneh FT, Alshbool FZ. Impatto delle sigarette elettroniche sul sistema cardiovascolare. *J Am Heart Assoc*. 2017
- (34) Stratton K, Kwan LY, Eaton DL. Comitato per la revisione degli effetti sulla salute dei sistemi elettronici di somministrazione di nicotina, Consiglio per la salute della popolazione e la pratica della salute pubblica, Divisione salute e medicina, Accademie nazionali delle scienze, dell'ingegneria e della medicina. *Conseguenze delle sigarette elettroniche sulla salute pubblica*. Washington, D.C. Pressa nazionale delle accademie; 2018
- (35) Wieslander G, Norbäck D, Lindgren T. Esposizione sperimentale alla nebbia di glicole propilenico nell'addestramento in emergenza aerea: effetti oculari e respiratori acuti. *Occupare l'ambiente Med*. 2001

- (36) McConnell R, Barrington-Trimis JL, Wang K, et al. Uso della sigaretta elettronica e sintomi respiratori negli adolescenti. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017
- (37) Respiratory Impact of Electronic Cigarettes and “Low Risk” Tobacco. Ileri Thiri6n-Romero 2018
- (38) The Impact of smoking on subgingival microflora : From Periodontal health to disease
[Yaling Jiang](#) 2020
- (39) Kinane DF, Chestnutt IG. Fumo e malattia parodontale. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000
- (40) GBD 2016 Collaborators Fattori di Rischio (2017). Valutazione comparativa del rischio globale, regionale e nazionale di 84 rischi comportamentali, ambientali e occupazionali e metabolici o cluster di rischi, 1990-2016: un'analisi sistematica per il Global Burden of Disease Study 2016
- (41) Bergstrom, J. Tasso di fumo e prevalenza della malattia parodontale: tendenze a 40 anni in Svezia 1970-2010. 2014
- (42) Ylostalo P., Sakki T., Laitinen J., Jarvelin M. R., Knuuttila M. La relazione tra il fumo di tabacco e la perdita dei denti tra i giovani adulti 2004.
- (43) Patel R. A., Wilson R. F., Palmer R. M. L'effetto del fumo sulla rigenerazione ossea parodontale: una revisione sistematica e una meta-analisi. 2012
- (44) Grossi SG, Genco RI, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R . Assessment of risk for periodontal disease and indicators for alveolar bone loss. 1995
- (45) Bergstrom. Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. 1989

- (46) ff LF, et al. Association between Cigarette smoking, bacterial pathogens, and iodental status. (1993)
- (47) Kinane D. F., Stathopoulou P. G., Papapanou P. N. Malattie parodontali. 2017
- (48) Ryder, M. I. L'influenza del fumo sulle risposte dell'ospite nelle infezioni parodontali. 2007
- (49) Hajishengallis G., Lamont R. J. (2012). Oltre il complesso rosso e verso una maggiore complessità: il modello di sinergia polimicrobica e disbiosi (PSD) dell'eziologia della malattia parodontale 2012.
- (50) Hajishengallis G., Liang S., Payne M. A., Hashim A., Jotwani R., Eskin M. A., et al. Le specie di biofilm a bassa abbondanza orchestrano la malattia parodontale infiammatoria attraverso il microbiota commensale e il complemento. *Cellula ospite Microbo*. 2011
- (51) Zenobia C., Hajishengallis G. *Porphyromonas gingivalis*: fattori di virulenza coinvolti nella sovversione dei leucociti e nella disbiosi microbica. 2015
- (52) Zhou J., Olson B. L., Windsor L. J. La nicotina aumenta la capacità di degradazione del collagene dei fibroblasti gengivali umani. 2007
- (53) Talhout R., Schulz T., Florek E., Van Benthem J., Wester P., Opperhuizen A. Composti pericolosi nel fumo di tabacco 2011.
- (54) Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie. Il sistema sanitario, sequenze di Smoking. Stati Uniti d'America: Ufficio ilFumo e salute, rapporto del Surgeon General del 2004. Marzo 2009

- (55) Pollock J. D., Koustova E., Hoffman A., Shurtleff D., Volkow N. D. I trattamenti per la dipendenza da nicotina dovrebbero essere una priorità assoluta. 2009
- (56) Cogo K., Calvi B. M., Mariano F. S., Franco G. C., Goncalves R. B., Groppo F. C. Gli effetti della nicotina e della cotinina sulla colonizzazione delle cellule epiteliali da *Porphyromonas gingivalis*. 2009
- (57) Zhang W., Song F., Windsor L. J. Effetti del tabacco e di *P. gingivalis* sui fibroblasti gengivali 2010
- (58) McGuire J. R., Mcquade M. J., Rossmann J. A., Garnick J. J., Sutherland D. E., Scheidt M. J., et al Cotinina nella saliva e nel liquido crevicolare gengivale di fumatori con malattia parodontale. 1989
- (59) Bagaitkar J., Williams L. R., Renaud D. E., Bemakanakere M. R., Martin M., Scott D. A., et al. Alterazioni indotte dal tabacco nelle interazioni *Porphyromonas gingivalis*-ospite. 2009
- (60) Brooks A. N., Turkarslan S., Beer K. D., Lo F. Y., Baliga N. S. Adattamento delle cellule a nuovi ambienti 2011
- (61) Tribble G. D., Lamont R. J. Invasione batterica delle cellule epiteliali e diffusione nel tessuto parodontale 2010
- (62) Darby I. B., Hodge P. J., Riggio M. P., Kinane D. F. Confronto microbico di pazienti adulti fumatori e non fumatori e pazienti con parodontite ad esordio precoce mediante reazione a catena della polimerasi. 2000
- (63) Shiloah J., Patters M. R., Waring M. B. La prevalenza della microflora parodontale patogena nei giovani fumatori adulti sani. 2000

- (64) Kigure T., Saito A., Seida K., Yamada S., Ishihara K., Okuda K. Distribuzione di *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola* nella placca sottogengivale umana a diverse profondità della tasca parodontale esaminata con metodi immunoistochimici. 1995
- (65) Bergstrom J. Il fumo di sigaretta come fattore di rischio nei perio-malattia dentale. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987
- (66) Brothwell DJ. Se l'uso di prodotti per smettere di fumare è promosso dagli studi dentistici? Un rapporto basato sull'evidenza. 2001
- (67) Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL. Associazione tra i fumori ,i diversi prodotti del tabacco e indici di malattia parodontale 1938
- (68) Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW,et al.Valutazione del rischio di malattia parodontale. Gli Indicatori di rischio per la perdita d'attacco. *J Parodontolo* 1994
- (69) Tiglio GJ, Mullally BH. Fumo di sigaretta e parodontale e distruzione nei giovani adulti. *J Parodontolo* 1994
- (70) Johnson BD, Engel D. Gengivite ulcerosa necrotizzante acuta.Una revisione della diagnosi, dell'eziologia e del trattamento. *J Parodontolo* 1986
- (71) Griffen A. L., Beall C. J., Campbell J. H., Firestone N. D., Kumar P. S., Yang Z. K., et al. Profili batterici distinti e complessi nella parodontite umana e nella salute rivelati dal pirosequenziamento 16S. 2012
- (72) Joaquim C. R., Miranda T. S., Marins L. M., Silva H. D. P., Feres M., Figueiredo L. C., et al. L'impatto combinato e individuale del diabete e del fumo sui principali patogeni parodontali sottogengivali nei pazienti con parodontite cronica. 2018
- (73) Coretti L., Cuomo M., Florio E., Palumbo D., Keller S., Pero R., et al. Disbiosi

sottogengivale in pazienti fumatori e non fumatori con parodontite cronica. 2017

(74) Bizzarro S., Loos B. G., Laine M. L., Crielaard W., Zaura E. Microbioma sottogengivale nei fumatori e nei non fumatori nella parodontite: uno studio esplorativo che utilizza tecniche mirate tradizionali e un sequenziamento di nuova generazione. 2013

(75) Mason M. R., Preshaw P. M., Nagaraja H. N., Dabdoub S. M., Rahman A., Kumar P. S. Il microbioma sottogengivale di corrente clinicamente sano e mai fumatore. 2015

(76) Kumar P. S., Matthews C. R., Joshi V., De Jager M., Aspiras M. Il fumo di tabacco influisce sull'acquisizione batterica e sulla colonizzazione nei biofilm orali. 2011

(77) Loe H., Theilade E., Jensen S. B. Gengivite sperimentale nell'uomo. 1965

(78) Joshi V., Matthews C., Aspiras M., De Jager M., Ward M., Kumar P. Il fumo diminuisce la resilienza strutturale e funzionale nell'ecosistema sottogengivale. 2014

(79) Matthews C. R., Joshi V., De Jager M., Aspiras M., Kumar P. S. Interazioni ospite-batterico durante l'induzione e la risoluzione della gengivite sperimentale nei fumatori attuali. 2013

(80) Rosier B. T., Marsh P. D., Mira A. Resilienza del microbiota orale in salute: meccanismi che prevengono la disbiosi. 2018

(81) Shchipkova A. Y., Nagaraja H. N., Kumar P. S. Profili microbici sottogengivali di fumatori con parodontite 2010.

(82) Luna J. H., Lee J. H., Lee J. Y. Microbioma sottogengivale nei fumatori e nei non fumatori nei pazienti coreani con parodontite cronica. 2015

- (83) Signat B., Roques C., Poulet P., Duffaut D. *Fusobacterium nucleatum* nella salute e nella malattia parodontale. 2011
- (84) Kumar P. S., Griffen A. L., Moeschberger M. L., Leys E. J. Identificazione di potenziali patogeni parodontali e specie benefiche mediante analisi clonale quantitativa 16S. 2005
- (85) Paster B. J., Boches S. K., Galvin J. L., Ericson R. E., Lau C. N., Levanos V. A., et al. Diversità batterica nella placca sottogengivale umana. *J. Bacteriolo.* 2001
- (86) Heasman L., Stacey F., Preshaw P. M., Mccracken G. I., Hepburn S., Heasman P. A. L'effetto del fumo sulla risposta al trattamento parodontale: una revisione delle evidenze cliniche. 2006
- (87) van Winkelhoff, A. J., Bosch-Tijhof, C. J., Winkel, E. G., Van Der Reijden, W. A. Il fumo colpisce la microflora sottogengivale nella parodontite. 2001
- (88) Feres M., Bernal M., Matarazzo F., Faveri M., Duarte P. M., Figueiredo L. C. Ricolonizzazione batterica sottogengivale dopo detartrasi e levigatura radicolare nei fumatori con parodontite cronica. 2015
- (89) Machion L., Andia D. C., Saito D., Klein M. I., Goncalves R. B., Casati M. Z., et al. Cambiamenti microbiologici con l'uso di doxiciclina somministrata localmente nel trattamento parodontale dei fumatori. 2004
- (90) Grossi S. G., Goodson J. M., Gunsolley J. C., Otomo-Corgel J., Bland P. S., Doherty F., et al. La terapia meccanica con microsfere di minociclina aggiuntive riduce i batteri del complesso rosso nei fumatori. 2007
- (91) Matarazzo F., Figueiredo L. C., Cruz S. E., Faveri M., Feres M. Benefici clinici e microbiologici del metronidazolo sistemico e dell'amoxicillina nel trattamento dei fumatori con parodontite cronica: uno studio randomizzato controllato con placebo. 2008

- (92) Queiroz A. C., Suaid F. A., de Andrade P. F., Novaes A. B., Jr., Taba M., Jr., Palioto D. B., et al. Terapia fotodinamica antimicrobica associata al trattamento parodontale non chirurgico nei fumatori: risultati microbiologici. 2014
- (93) Zee KY. Smoking and periodontal disease 2009
- (94) The 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions was co-presented by the American Academy of Periodontology (AAP) and the European Federation of Periodontology (EFP).
- (95) Influence of Electronic Cigarettes on Antioxidant Capacity and Nucleotide Metabolism in Saliva. Dominika Cichonsks. 2021
- (96) Evaluation of antioxidant capacity and cotinine levels of saliva in male smokers and non-smokers. Ala Ghazi. 2020
- (97) Crosstalk between oral and general health status in e-smokers. [Marco Tatullo](#) et al 2016
- (98) Electronic Nicotine Delivery Systems (ENDS) and Their Relevance in Oral Health. Gozde Isik Andrikopoulos et al. 2019
- (99) Impact of Electronic Cigarettes on oral Health: A review. Mahmoud Rouabhia. 2020
- (100) How to assess and interpret everyday life salivary cortisol measures: A tutorial on practical and statistical considerations. Martin Stoffel 2021.

SITOGRAFIA

(A)MINISTERO DELLA SALUTE

(B)OMS

(C)IIS

(D)PASSI

(E) GLOBAL YOUTH TABACCO SURBEY