



**DESCRIPCIÓN DE LOS EFECTOS DEL CIGARRILLO  
ELECTRÓNICO SOBRE TEJIDOS PERIODONTALES Y CÉLULAS  
EPITELIALES DE MUCOSA YUGAL Y LENGUA, COMPARADO  
CON FUMADORES DE CIGARRILLO CONVENCIONAL Y NO  
FUMADORES.**

Trabajo de Investigación  
requisito para optar al Título de  
Cirujano Dentista.

**Alumnos:** Nicole Hauser Fuentes  
Heva Olivares Paoa  
Carolyn Toledo García  
Montserrat Toro Quilodrán

**Docente Guía:** Dr. Jaime Segovia Ch.  
Profesor Auxiliar Cátedra de Periodoncia

Valparaíso – Chile  
2016

## DEDICATORIA

*Primero que todo, quisiera agradecer a cada uno de los docentes que se tomaron el tiempo, y con mucha dedicación me han brindado los conocimientos necesarios para desarrollarme como una buena profesional, sin contar además los valores inculcados en cuanto al trato con los pacientes y al criterio clínico formado. Realmente ha sido un privilegio contar con su sabiduría y ayuda.*

*También agradecer a cada uno de los funcionarios de la Facultad, ya que sin ellos y su excelente disposición frente a alguna petición este logro no sería posible. Muchísimas gracias a todos ustedes.*

*Gracias a todas aquellas personas que, de una manera u otra, han formado parte de este camino y me han acompañado en todo momento en esta experiencia de crecimiento personal. A mis amigos y familia; quienes siempre me han alentado a luchar por mis objetivos y lograr mis metas. Gracias por confiar en mí.*

- Nicole Hauser Fuentes.

*Esta tesis es el resultado que pone a término un trayecto tan importante en mi vida, estudiar Odontología en la Universidad de Valparaíso. Fue un tiempo de nuevas experiencias y de aprendizaje, tanto académico como personal, social, etc. Varias personas fueron influyentes y significativas en este recorrido.*

*En primer lugar quiero agradecer a mis padres, Miguel y Julia, por ser quienes toda la vida me han dejado cumplir mis sueños a mi manera y con la mejor comodidad posible para mí. Por otro lado agradecer a mis hermanos por acompañarme siempre, cada uno con su rol cuando más lo he necesitado en la vida.*

*Quiero agradecer también a todos los docentes durante mi carrera, mis demás familiares, mis compañero/as de universidad, amigos y amigas fuera de la universidad, que me ayudaron de diferentes maneras para poder haber cumplido mis metas dentro de la facultad.*

*Sin duda fue un lindo recorrido que no omitiré nunca, gracias a todas las personas y buenas oportunidades que se han cruzado en mi vida.*

- Heva Olivares Paoa.

## DEDICATORIA

*Al esfuerzo, al tesón, a la paciencia, a las fuerzas de sobreponerse ante la adversidad y a salir adelante. A la valentía de sobrellevar los fracasos y a subir la cabeza ante las humillaciones.*

*A las experiencias vividas y a la sabiduría alcanzada con el crecimiento y la maduración. A las personas involucradas, a las que ayudaron, a las que no. A los buenos momentos y también a los malos momentos. A las noches en vela y al cansancio. Al alimento físico y espiritual. A las lágrimas y a las pocas risas. Al optimismo frente a todo y a la mentalidad positiva que nos dio empuje.*

*A todo lo anterior que ayudó a convertirnos en las personas que somos hoy y gracias a todo esto es que fuimos y seremos capaces de cumplir nuestras metas.*

*Esta dedicatoria es para ti.*

- Carolyn Toledo García.

*A mis padres, cuyo sacrificio me dio la oportunidad de estudiar, mientras que su apoyo y amor incondicional fueron el aliento para finalizar este proceso, compartiendo mis alegrías y siendo mi cobijo en los fracasos.*

*A mi familia y amigos, por ser fuente de luz y risas, además de poner a disposición sus bocas para hacer los tratamientos que requería para aprobar. También a mis abuelos, que daría hasta las estrellas por tenerlos conmigo una vez más.*

*A mi pareja, por ser la paz en la tormenta, por su paciencia, apoyo, consuelo, alegría y amor...sobre todo paciencia y amor.*

*A aquellos docentes que fueron inspiración y confianza para crecer como persona y futura profesional... Y los que no, me hicieron más fuerte.*

*Y a lo que se avecina... Ten por seguro que espero con ansias lo que tienes preparado para mí.*

*A todos, gracias por cruzarse en mi camino y andar junto a mí.*

- Monserrat Toro Quilodrán.

## AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos agradecer en primer lugar a nuestro docente guía, el Dr. Jaime Segovia Chamorro, quien fue el creador de este proyecto, cuya imaginación e ideas un tanto estrafalarias rinden sus frutos en este momento. Gracias por compartir la alegría de los pequeños logros que hoy se traducen en estas 100 páginas de esfuerzo y darnos palabras de ánimo cuando la tesis parecía imposible.

A nuestra docente informante, Dra. Karina Cordero, por su preocupación, dosis de objetividad y realidad, que nos ayudaron a aterrizar y encaminar esta investigación.

También debemos mencionar a los trabajadores de “Holy Smoke”, cuya disposición, gran voluntad y paciencia fueron fundamentales para realizar este proyecto. Sin Uds. nada, absolutamente nada de esto hubiera sido posible.

A los docentes y amigos que no sólo fueron parte del proceso intelectual, sino que también parte de la muestra en estudio, de verdad, gracias por prestarnos su periodonto, lengua y mejillas.

No nos olvidamos del personal. A Patricia y Gloria, que fueron oídos en la desesperación y nos brindaron insumos de sobra y a los auxiliares, que más de una vez hicieron “vista gorda” cuando eran las 20 horas y seguíamos en la Escuela. También al Dr. Miguel Muñoz, Dr. Jaime Jamet y la Sra. Ivette Marticorena, por los permisos otorgados y las notas de preocupación al preguntar “¿Cómo va la tesis?” .

A todos Uds., muchísimas gracias por haber sido parte de este proceso.

Agradecemos de forma especial al Dr. Wilfredo González, cuya voluntad, paciencia e interés por la docencia fueron fundamentales para llevar a cabo esta investigación. Dr., sin su apoyo, críticas y participación, este proyecto no podría haberse realizado en su totalidad. Gracias por darnos las herramientas necesarias para llevarlo a cabo y la confianza para utilizarlas.

## CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	MARCO TEÓRICO .....	2
	CAPÍTULO I: TABACO .....	2
	1. EPIDEMIOLOGÍA: CONSUMO DE TABACO EN CHILE Y EL MUNDO .....	2
	2. TABAQUISMO Y SALUD BUCAL .....	3
	3. TABACO Y CÁNCER ORAL .....	3
	4. TABACO Y ENFERMEDAD PERIODONTAL .....	4
	CAPÍTULO II: CIGARRILLO ELECTRÓNICO .....	7
	1. PREVALENCIA DEL USO DE CIGARRILLO ELECTRÓNICO .....	7
	2. ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DEL CIGARRILLO ELECTRÓNICO .....	8
	3. COMPONENTES DE LOS CARTUCHOS Y TOXICIDAD ASOCIADA ...	9
	4. CIGARRILLO ELECTRÓNICO Y SALUD BUCAL .....	9
	CAPÍTULO III: HISTOLOGÍA .....	12
	1. HISTOLOGÍA DEL EPITELIO NORMAL .....	12
	2. DAÑO HISTOLÓGICO ASOCIADO A TABACO .....	13
	CAPÍTULO IV: CITOLOGÍA .....	15
	1. TÉCNICA CITOLOGÍA EXFOLIATIVA .....	16
	2. TINCIÓN PAPANICOLAOU .....	17
	3. CITOMORFOMETRÍA .....	18
III.	OBJETIVOS .....	20
	1. OBJETIVO GENERAL .....	20
	2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
	1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN .....	21

2.	POBLACIÓN/UNIVERSO.....	22
3.	DETERMINACIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA: .....	22
4.	VARIABLES DEL ESTUDIO .....	23
5.	PLAN RECOLECCIÓN DE DATOS .....	26
6.	ESTANDARIZACIÓN O CALIBRACIÓN .....	27
7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	27
8.	ASPECTOS ÉTICOS .....	28
9.	BIOSEGURIDAD.....	29
10.	RECURSOS.....	30
V.	RESULTADOS.....	31
1.	DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA GENERAL .....	31
A)	PARÁMETROS PERIODONTALES .....	32
B)	PARÁMETROS CELULARES.....	33
2.	FUMADORES DE CIGARRILLO CONVENCIONAL .....	36
A)	DESCRIPCIONES GENERALES .....	36
B)	ANÁLISIS DE PARÁMETROS PERIODONTALES .....	38
C)	ANÁLISIS CITOMORFOMÉTRICO .....	41
3.	NO FUMADORES.....	46
A)	DESCRIPCIONES GENERALES .....	46
B)	ANÁLISIS DE PARÁMETROS PERIODONTALES .....	46
C)	ANÁLISIS CITOMORFOMÉTRICO .....	48
4.	USUARIOS DE CIGARRILLO ELECTRÓNICO .....	50
A)	DESCRIPCIONES GENERALES .....	50
B)	ANÁLISIS DE PARÁMETROS PERIODONTALES .....	53
C)	ANÁLISIS CITOMORFOMÉTRICO .....	55
5.	ANÁLISIS ENTRE GRUPOS .....	60
VI.	DISCUSIÓN.....	70
VII.	CONCLUSIONES.....	74
VIII.	SUGERENCIAS .....	75

IX. RESUMEN.....	76
X. REFERENCIAS.....	77
XI. ANEXOS .....	83
ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	83
ANEXO 2: PROTOCOLO DE TINCIÓN PAPANICOLAOU, MODIFICADA POR DR. WILFREDO GONZÁLEZ Y MONTAJE DE PORTAOBJETOS .....	85
ANEXO 3: PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRA .....	91
ANEXO 4: PROTOCOLO DE TOMA DE ÍNDICE DE PLACA .....	93
ANEXO 5: ENCUESTA PARA CAPTACIÓN DE PACIENTE A INCLUIR EN LA MUESTRA. ....	94
ANEXO: 6 FICHA CLÍNICA DE REGISTRO.....	95
ANEXO 7: REGISTRO DE MUESTRAS CITOLOGÍA EXFOLIATIVA .....	97
ANEXO 8: REGISTRO ÍNDICE DE PLACA Y HEMORRÁGICO .....	98
ANEXO 9: FORMATO DE REGISTRO DEL PERIODONTOGRAMA.....	99
ANEXO 10: SOLICITUD DE PERMISO PARA USO DE LAS INSTALACIONES CLÍNICAS Y LABORATORIO DE LA ESCUELA DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO PARA REALIZACIÓN DE EXAMEN, TOMA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS CITOLÓGICO.....	100

## I. INTRODUCCIÓN

El hábito de fumar es mundialmente prevalente y se remonta a tiempos lejanos, cuyos registros van desde el año 1 a.C, en poblaciones de indígenas americanos<sup>1</sup>.

Actualmente, las personas se han hecho más conscientes de los efectos de fumar sobre su salud general y bucal, sin embargo, las cifras de fumadores en el mundo se incrementan y según la Organización Mundial de la Salud (OMS) seguirán aumentando para el año 2025<sup>1</sup>.

A raíz de lo anterior, una nueva alternativa se presenta en el mercado para los fumadores que desean disminuir los efectos negativos del cigarrillo convencional, o bien dejar de fumar: el llamado cigarrillo electrónico.

El uso de cigarrillo electrónico ha ido en aumento en Chile desde la implementación de la ley n° 20.660 en el año 2013, que prohíbe el consumo de tabaco en recintos cerrados<sup>2</sup>. Estos dispositivos han sido publicitados como menos perjudiciales para la salud en comparación al cigarrillo tradicional, a pesar de que no existen suficientes estudios que demuestren su seguridad absoluta<sup>3</sup>.

Los análisis químicos realizados por la OMS a los componentes del cigarrillo electrónico son muy recientes, pero han dado positivo para sustancias citotóxicas como el formaldehído y, a pesar de la relevancia de estos hallazgos, han sido poco difundidos dentro de la población y no se han tomado medidas respecto al modo en que se comercializan o publicitan<sup>4</sup>.

En el último tiempo se han evaluado las posibles alteraciones sistémicas causadas por estos dispositivos, aunque debido a su reciente masificación y el tiempo que demoran en aparecer las enfermedades de interés, como el cáncer o el compromiso respiratorio severo, no se han logrado establecer cifras respecto al riesgo en su uso<sup>4</sup>. Con respecto a sus efectos sobre los tejidos orales, sólo se han realizado estudios *in vitro* con cultivos de fibroblastos de origen periodontal, pero estos trabajos no presentan evidencias sobre compromiso a nivel clínico ni en otras regiones de la cavidad bucal<sup>3,5</sup>.

Por las razones anteriormente expuestas, nos preguntamos: ¿cuáles serán las características clínicas de los tejidos periodontales y de las células epiteliales de los usuarios de cigarrillo electrónico en comparación con los fumadores de cigarrillo convencional y con los no fumadores?.

## II. MARCO TEÓRICO

### CAPÍTULO I: TABACO

#### 1. EPIDEMIOLOGÍA: CONSUMO DE TABACO EN CHILE Y EL MUNDO

La Organización Mundial de la Salud estima que el número de fumadores en todo el mundo es de más de mil millones, siendo el 10.8% de ellos habitantes de América Latina, pero los datos sobre la incidencia y la prevalencia de consumo de cigarrillos/tabaco en esta región son insuficientes y controvertidos. Sin embargo, es sabido que la frecuencia del consumo de tabaco es particularmente elevada en los países en desarrollo, debido a las condiciones socioeconómicas bajas y el bajo nivel de la educación<sup>1</sup>.

Con respecto a la situación en Chile informada en la publicación de la nueva Ley del Tabaco n° 20.660, que “*Modifica a la Ley N° 19.419 en Materia de Ambientes Libres de Humo de Tabaco*”, que introduce diversas modificaciones a la citada ley con el objeto de restringir el consumo de tabaco en ciertos lugares, prohibir su publicidad directa o indirecta por cualquier medio de comunicación, regular y restringir el uso de ciertas sustancias en la elaboración de sus productos, requerir información a los productores de tabaco, entre otros<sup>2</sup>, indica que en nuestro país cada día mueren 46 personas por enfermedades asociadas al consumo de tabaco, mientras que el Estado gasta cerca de US\$ 2.500 millones para tratar las consecuencias del tabaquismo<sup>6</sup>.

Además, considera a este hábito como uno de los principales problemas de salud pública en Chile, ya que más del 40,6% de la población mayor de 15 años fuma, según la Encuesta Nacional de Salud 2010, siendo una de las prevalencias más altas del mundo, especialmente en el caso de los jóvenes<sup>7</sup>. Nuestro país ocupa el primer lugar en el ranking mundial de consumo de cigarrillos en adolescentes entre 13 y 15 años (39,9%) y cuarto lugar en el caso de mujeres en edad adulta (37%)<sup>1</sup>. Se agrega a lo anterior el hecho de que se considera al tabaco como causante del 90% de las muertes por cáncer de pulmón, del 84% de las muertes por enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, del 55% de las muertes por enfermedad cerebrovascular; y del 45% de las muertes por infartos<sup>6</sup>.

Las personas que fuman son en general menos saludables, ya que sufren problemas en el sistema inmunológico y presentan un mayor riesgo de infecciones. Los fumadores están predispuestos a más fracturas, a problemas sexuales, a enfermedades a los ojos y a las enfermedades bucodentales<sup>8</sup>.

El daño sistémico y oral causado por el consumo de tabaco pasivo o activo es notablemente alto en América Latina y en todo el mundo. Los efectos negativos del hábito de fumar sobre la salud son dependientes de la dosis y el tipo de

compuestos que presenten los cigarrillos, así como de la frecuencia y cronicidad de la exposición<sup>9</sup>.

## **2. TABAQUISMO Y SALUD BUCAL**

El tabaco es un químico dañino y adictivo responsable de varias enfermedades relacionadas con la cavidad bucal y con condiciones orales adversas<sup>10</sup>.

Entre los efectos que ocasiona el uso del tabaco sobre los tejidos bucales, podemos ver el aumento en la susceptibilidad para la enfermedad periodontal, retraso en la cicatrización, pigmentación de la mucosa, hasta la aparición de procesos premalignos y malignos en la cavidad bucal<sup>11</sup>.

La nicotina, el componente activo principal del tabaco, se asocia fuertemente con la perpetuación del hábito (adicción). Este compuesto afecta a la circulación periférica, causando una vasoconstricción gingival importante, reduciendo el aporte de elementos de reparación y limitando la capacidad de cicatrización de este tejido. También puede estar suprimido el sistema inmune, a causa de una reducción de la quimiotaxis y fagocitosis por parte de los leucocitos. Además, la nicotina causa daños a la matriz extracelular de fibroblastos gingivales<sup>3,11</sup> produce estrés oxidativo intracelular e inhibición de la migración<sup>3</sup>.

## **3. TABACO Y CÁNCER ORAL**

El cáncer de cavidad oral es un problema de salud importante en el mundo, ya que representan el 4% de todos los tumores que afectan al ser humano<sup>12</sup>, con una incidencia anual evaluada a nivel mundial de 275.000 casos aproximadamente. La tasa de mortalidad aproximada es de 3-4 por 100.000 en hombres y 1.5-2.0 por 100.000 en mujeres, con un porcentaje de supervivencia a los 5 años que ronda el 50%. En la mayoría de los países alrededor del mundo, el cáncer de cavidad oral es más común en el sexo masculino, a razón de 1.5:1, mientras que la edad de aparición estimada es sobre los 50 años<sup>13</sup>.

En Chile, la incidencia de cáncer oral y faríngeo es de 3.2 por cada 100.000 habitantes para los hombres, siendo el 17° cáncer más común en este grupo, mientras que en mujeres la incidencia es de 1.2 por 100.000 habitantes, ocupando el 22° puesto<sup>14</sup>. Según los registros del MINSAL entre los años 1982 y 2002, el cáncer de lengua fue el que provocó mayor mortalidad dentro del cáncer oral (39%), seguido por el cáncer de glándulas salivales mayores (30%), cáncer de piso de boca (18%), de labio (9%) y encía (4%)<sup>14</sup>.

El 75% de los cánceres de cabeza y cuello y los dos tercios de los carcinomas de células escamosas se han atribuido al consumo de tabaco y alcohol<sup>15</sup>, donde el

abuso de ambos puede aumentar en 38 veces el riesgo de padecer cáncer bucal en comparación con los abstemios, ya que pueden actuar de forma separada o sinérgicamente<sup>13</sup>.

Se estima que tres cuartas partes de los casos de cáncer oral podrían evitarse por la eliminación del consumo de tabaco y una reducción en el consumo de alcohol. Dejar de fumar reduce el riesgo de esta patología en un 35% dentro de 1-4 años y en un 80% en 20 años, alcanzando el nivel de no fumadores<sup>16</sup>.

#### **4. TABACO Y ENFERMEDAD PERIODONTAL**

En general, el hábito de fumar ha sido considerado como el factor evitable más importante para el riesgo de periodontitis entre todos los factores de estilo de vida<sup>9</sup>, aumentando de 2 a 8 veces el riesgo de padecer dicha enfermedad en comparación con pacientes no fumadores<sup>8</sup>.

El tabaquismo perjudica diversos aspectos de la respuesta inmune innata y adaptativa, incluyendo la función de los neutrófilos, la producción de anticuerpos, las actividades de fibroblastos, los factores vasculares y la producción de mediadores inflamatorios<sup>8</sup>.

Los estudios *in vitro* están de acuerdo en su mayoría en que el tabaquismo y los compuestos del cigarrillo generan estímulos nocivos para la función de las células periodontales, mientras que los estudios experimentales y clínicos son unánimes en la demostración de la influencia perjudicial de fumar en dichos tejidos. Paradójicamente, los signos y síntomas de inflamación gingival son menos pronunciados en los fumadores que en los no fumadores<sup>9</sup>.

La inflamación, en respuesta a la acumulación de placa bacteriana en fumadores, es menor en comparación a la respuesta de los no fumadores. Múltiples estudios de corte transversal y longitudinales han demostrado que la profundidad del saco, la pérdida de inserción y la pérdida de hueso alveolar es más prevalente y severa en pacientes fumadores en comparación a los no fumadores<sup>17</sup>.

La influencia del tabaquismo en el desarrollo tanto en la gingivitis como de la periodontitis y de las alteraciones clínicas que produce se observan en tabla I:

Enfermedad periodontal	Impacto del hábito de fumar
Gingivitis	↓ Inflamación gingival ↓ Sangrado al sondaje
Periodontitis	↑ Prevalencia y severidad de la destrucción periodontal ↑ Profundidad de sacos, pérdida de inserción y pérdida ósea ↑ Grado de destrucción periodontal ↑ Pérdida dentaria ↑ Prevalencia con el aumento del número de cigarrillos diarios ↓ Prevalencia y severidad al dejar de fumar
↑ aumento ↓disminución	

Tabla I: Efectos del hábito de fumar en la prevalencia y severidad de la enfermedad periodontal<sup>17</sup>.

También algunos autores hablan de un aumento en la respuesta inflamatoria, el consumo de tabaco tiene un efecto negativo en la reparación del tejido gingival. Los productos del cigarrillo pueden alterar la capacidad de los fibroblastos gingivales para remodelar y construir una matriz de colágeno, perjudicando la maduración apropiada del tejido durante la cicatrización de heridas en los fumadores<sup>6</sup>.

Con respecto a los efectos de la inhalación del humo del tabaco (exposición pasiva) en los tejidos orales, una revisión sistemática realizada por Fawad-Javed y cols.<sup>7</sup> entrega resultados contradictorios entre los estudios analizados, señalando por una parte que la exposición al humo de tabaco puede suprimir la función de los fibroblastos gingivales y células B, deteriorar el crecimiento de células epiteliales, aumentar la producción de interleuquinas y reducir los niveles de inserción clínica, mientras que por otro lado indican que no existe asociación entre la exposición al humo del tabaco y la enfermedad periodontal<sup>7</sup>.

Sobre la resolución de los efectos locales provocados por el hábito de fumar, un estudio en pacientes no diabéticos sugiere que dejar de fumar durante 1-4 años resulta en la reducción del riesgo de cáncer oral en comparación con fumadores actuales, y después de 20 años, es posible alcanzar el nivel de riesgo de un sujeto que nunca ha fumado<sup>13</sup>.

Un ensayo clínico longitudinal realizado por Nasry cols., diseñado para evaluar la respuesta al tratamiento periodontal en los ex-fumadores y fumadores, detectó que el nivel de monóxido de carbono salival disminuye a los 6 meses a un promedio de 4.5 ppm, en comparación con los fumadores cuyos niveles en el mismo periodo de tiempo fueron de 27,4 ppm, observando una disminución de los

valores desde las 4 semanas<sup>18</sup>. En otro estudio llevado a cabo por Morozumi y cols., determinó que la concentración de monóxido de carbono en los fumadores es significativamente más baja 1 día después de dejar de fumar y que los niveles de fluido crevicular y vascularización gingival aumentan considerablemente 5 días después de abandonar el hábito, y que estos valores son comparables con los de sujetos no fumadores en un plazo de 2 semanas<sup>19</sup>.

También se ha demostrado que existe un efecto beneficioso de dejar de fumar en la progresión de la pérdida de inserción clínica y la pérdida ósea radiográfica. Este efecto positivo se ha identificado incluso 6 años después de dejar de fumar en personas jóvenes, y era aún evidente 20 años después. Además, la evidencia sugiere que una reversión significativa del riesgo de periodontitis podría ser alcanzable dentro de 10 años después de dejar de fumar<sup>20</sup>.

## **CAPÍTULO II: CIGARRILLO ELECTRÓNICO**

El cigarrillo electrónico ("e-cigarrillos" o "e-cigs") es el prototipo más común de los sistemas electrónicos de administración de nicotina (SEAN). Estos dispositivos, alimentados por baterías, liberan un aerosol mediante el calentamiento de una solución en base a glicerina y propilenglicol, con o sin nicotina, que los consumidores inhalan<sup>17</sup>.

Estos dispositivos fueron desarrollados por primera vez en China en el año 2003 por el farmacéutico Hon Lik, puestos en venta el 2004 y desde ese entonces se han extendido a nivel mundial<sup>21</sup>. El cigarrillo electrónico está diseñado con el propósito de proveer una sensación física similar a la de fumar tabaco, mientras que no hay humo ni combustión relacionados con esta operación<sup>22</sup>.

### **1. PREVALENCIA DEL USO DE CIGARRILLO ELECTRÓNICO**

A pesar de su aumento en popularidad en el mercado, en la actualidad no existen datos sobre el uso de cigarrillos electrónicos a escala mundial, ni tampoco en países específicos. No obstante, la información disponible, principalmente en América del Norte, la Unión Europea y la República de Corea, indican que entre los años 2008 y 2012 el uso de cigarrillos electrónicos se ha duplicado, al menos, entre los adultos y adolescentes<sup>4</sup>. En 2012, el 7% de los europeos de 15 o más años de edad habían probado cigarrillos electrónicos, aunque sólo el 1% de la población los utilizaba regularmente. En 2013, el 47% de los fumadores y ex-fumadores de Estados Unidos habían probado cigarrillos electrónicos, pero la prevalencia del uso regular en ese grupo era del 4%<sup>4</sup>.

La principal motivación de los fumadores para el uso de estos dispositivos es reducir los riesgos que conlleva fumar, pero algunas organizaciones de la salud han sido reacias a alentar a los fumadores a cambiar el consumo de tabaco por cigarrillos electrónicos, citando la falta de pruebas de eficacia y seguridad<sup>23</sup>.

A pesar del conocido aumento de su consumo en Chile, a la fecha no se registran datos epidemiológicos concretos sobre el género y rango etario de la población que utiliza estos dispositivos, ni sobre las consecuencias asociadas a su uso, ya sea como sustituto o complemento al cigarrillo convencional, aunque la publicidad y propaganda apuntan principalmente a los grupos de adultos jóvenes y personas que deseen dejar de consumir tabaco.

## 2. ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DEL CIGARRILLO ELECTRÓNICO

Un cigarrillo electrónico básico se compone de tres partes: una batería recargable (1), un cartucho que contiene el líquido vaporizable (2) y un dispositivo atomizador (3), que aeroliza la solución utilizando una resistencia eléctrica que calienta el líquido (Figura 1)<sup>22</sup>.

Para hacer funcionar el dispositivo, se debe presionar el botón de encendido (4) al mismo tiempo que se succiona aire por la boquilla (5). Este procedimiento activa la resistencia, que calienta el líquido del contenedor transformándolo en vapor, el que es inhalado a través de una boquilla<sup>22</sup>.

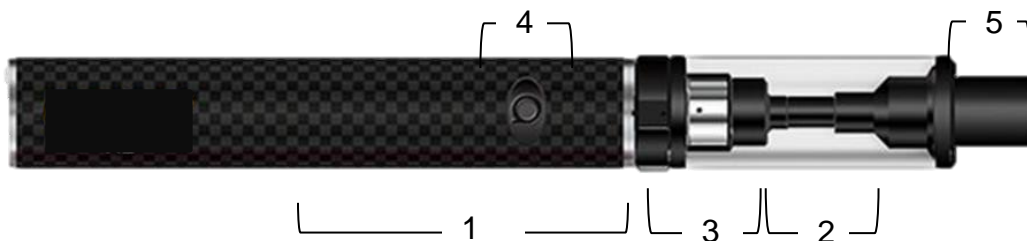


Figura 1: Esquema de estructura básica del cigarrillo electrónico<sup>22</sup>

Cabe señalar que existe diversidad entre las marcas de cigarrillos electrónicos con respecto al voltaje que entrega la batería al momento de calentar la solución, existiendo productos catalogados como de “voltaje variable” que puede ir de los 3 a los 6 V en algunos casos<sup>24</sup>. Estas diferencias pueden dar lugar a una considerable variabilidad en lo que respecta a la capacidad de los productos para calentar la solución y transformarla en un aerosol y, por lo tanto, pueden afectar la administración de nicotina y otros ingredientes y contribuir a la formación de sustancias tóxicas en las emisiones<sup>4</sup>.

### **3. COMPONENTES DE LOS CARTUCHOS Y TOXICIDAD ASOCIADA**

La base de los líquidos que se vaporizan en los cigarrillos electrónicos presentan 3 componentes: propilenglicol, glicerina y saborizantes varios, de los cuales algunos tienen potencial sensibilizante como la vainilla y mentol<sup>22</sup>. Como compuesto variable se encuentra la nicotina, que puede ir desde 0 a 36 mg de concentración, sin embargo, han encontrado líquidos etiquetados como libres de nicotina que contienen bajos niveles de ésta o nicotina relacionada con impurezas perjudiciales para los humanos<sup>21,25</sup>, junto a la presencia de dietilenglicol, y nitrosaminas<sup>21,26</sup>, sustancias específicas del tabaco conocidos como fuertes carcinógenos, pero en concentraciones menores a las presentes en el cigarrillo convencional (0,008 mg y 6.3 mg respectivamente)<sup>21</sup>.

Con respecto a los análisis realizados por OMS el año 2014 emitidos en el informe “Sistemas Electrónicos de Administración de Nicotina” sobre los efectos a corto y a largo plazo del uso de estos dispositivos, se menciona la irritación ocular y de las vías respiratorias, principalmente por la exposición al propilenglicol. Además, indica la posible citotoxicidad de algunas soluciones y la presencia de componentes carcinogénicos como formaldehído, cuya concentración, sin embargo, es inferior a la encontrada en el humo del cigarrillo convencional, pero que de todos modos alerta sobre el uso de estos dispositivos por parte de embarazadas y menores de edad. Sobre los efectos a largo plazo, estos no son concluyentes por el tiempo que demoran en aparecer muchas enfermedades de interés, como el cáncer<sup>4</sup>.

A pesar de que se ha mencionado una posible reducción en las emisiones de sustancias nocivas en comparación al cigarrillo convencional, el riesgo final que conlleva su uso aún no está definido<sup>4</sup>.

### **4. CIGARRILLO ELECTRÓNICO Y SALUD BUCAL**

Los cigarrillos electrónicos se han considerado menos dañinos para la salud bucal por no presentar la combustión de los cigarrillos convencionales, pero es bien sabido que la nicotina juega un rol significativo en la patogénesis de enfermedades asociadas al tabaquismo, como la periodontitis<sup>22</sup>.

En relación a los efectos adversos locales asociados al uso del cigarrillo electrónico se ha reportado sensación de sequedad bucal como lo más frecuente (32.4%), irritación (20.6 %), tos y sangrado de encías en menor proporción (12,8% y 13,1% respectivamente)<sup>27,28</sup>, sin embargo, estas molestias han mostrado una disminución con el paso del tiempo, bajando la sensación de boca seca a un 12% y la irritación al 11- 13% (Figura 2)<sup>28</sup>.

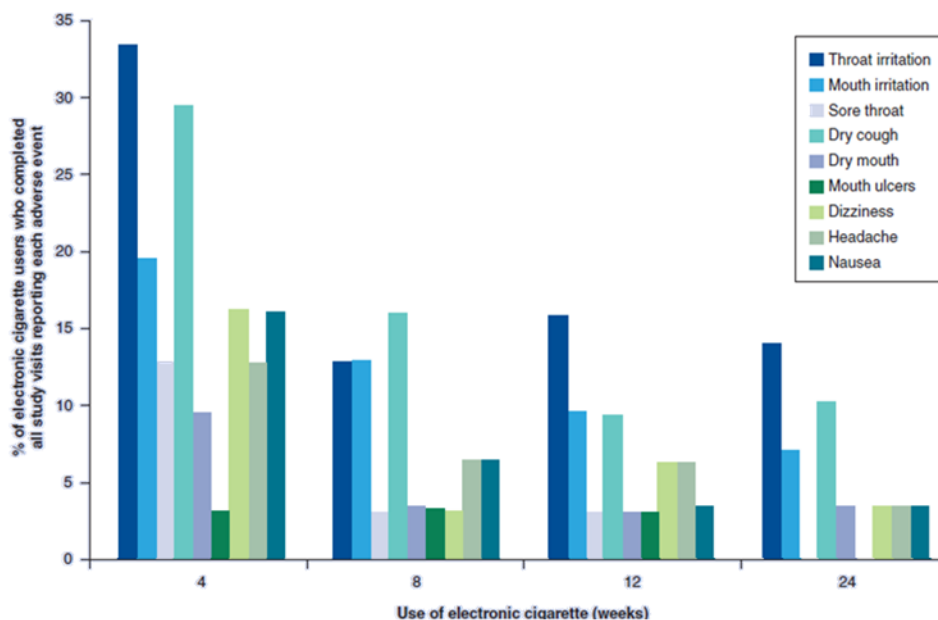


Figura 2: Efectos adversos reportados por usuarios de cigarrillo electrónico y su disminución en el tiempo<sup>28</sup>

Los mismos efectos no deseados son descritos en una revisión realizada por el Centro del Cáncer en Alemania, que enfatiza el hallazgo del dietilenglicol en el líquido de algunos productos, una sustancia que puede generar graves daños en la salud e incluso la muerte si se ingiere, lo que implica un riesgo si este compuesto llega a estar en contacto con los tejidos orales, sobre todo en consumidores principiantes, pero aún no se han documentado consecuencias a largo plazo por su introducción reciente al mercado mundial<sup>29</sup>.

Un estudio piloto realizado por Reuther y cols. evaluó si el uso del cigarrillo electrónico podría alterar la perfusión bucal, comparando líquidos con y sin nicotina. Los resultados arrojaron un aumento de la perfusión bucal dentro de los 10 primeros minutos luego de utilizar líquidos con nicotina, retornando a valores normales luego de 30 minutos. Por otra parte, el uso de líquidos libres de nicotina mostró el comportamiento contrario, disminuyendo la perfusión dentro del mismo lapso de tiempo y recuperándose a la media hora después<sup>30</sup>.

En la actualidad no existen estudios publicados que hayan evaluado clínicamente los efectos del cigarrillo electrónico, sin embargo, se han realizado investigaciones *in vitro* sobre la acción del vapor de los líquidos en diferentes líneas celulares<sup>3,31,32</sup>.

Se ha analizado el impacto del vapor sobre células epiteliales, evidenciando un aumento de la respuesta inflamatoria posterior a la exposición, tanto en modelos humanos como en ratones. Además, documentan la presencia de especies

reactivas del oxígeno (ROS) relacionadas con ruptura de ADN y daño oxidativo, cuya acumulación podría volver susceptibles estas células a presentar potencial carcinogénico<sup>32</sup>.

Estudios de laboratorio realizados con fibroblastos gingivales humanos expuestos al vapor emitido por el cigarrillo electrónico, parecen disminuir su actividad metabólica, junto con aumentar el estrés oxidativo, la expresión de BAX (un regulador de apoptosis celular) y generando apoptosis, tanto en las muestras tratadas con líquidos con y sin nicotina<sup>3</sup>.

Con respecto a los fibroblastos del ligamento periodontal, a nivel *in vitro* se ha demostrado que los aditivos de los líquidos de los cigarrillos electrónicos pueden alterar la proliferación celular, sobre todo aquellos mentolados, cuyo impacto es altamente negativo. Sin embargo, se declara que el vapor de los cigarrillos electrónicos es significativamente menos citotóxico que el humo de cigarrillo convencional<sup>5</sup>.

La conclusión general de los estudios hasta el momento es que el cigarrillo electrónico podría ser menos dañino comparado con los cigarrillos convencionales, mas la información a la fecha es insuficiente para declararlos como absolutamente seguros, por lo que más estudios son necesarios, tanto en laboratorio con líneas celulares como a nivel clínico, para comprender y evaluar los efectos de estos aparatos en la salud de las personas<sup>3,31,32</sup>.

## CAPÍTULO III: HISTOLOGÍA

### 1. HISTOLOGÍA DEL EPITELIO NORMAL.

El epitelio bucal es de tipo estratificado plano. Puede ser queratinizado, paraqueratinizado o no queratinizado; según la localización presenta diferencias estructurales y funcionales<sup>33</sup>.

#### A) EPITELIO ESTRATIFICADO PLANO QUERATINIZADO

El epitelio oral queratinizado tiene sus queratinocitos arreglados en cuatro capas de células: la basal, la espinosa, la granular y la córnea, referidos como también como estratos<sup>34</sup>.

Constituido por dos poblaciones celulares: la intrínseca, propia del epitelio formada por 90% de queratinocitos, y la extrínseca, de origen ajeno al epitelio, formada por una población de células permanentes o residentes (9%) dentro de ellas los melanocitos, células de merkel y células de langerhans, y una población transitoria (1%) constituida por granulocitos, linfocitos y monocitos que son células que pueden infiltrarse, ocasionalmente, en el epitelio bucal<sup>34</sup>.

##### A.1 POBLACIÓN INTRÍNSECA:

Mayormente constituida por queratinocitos. Una sola célula es, en diferentes momentos, parte de cada una de las capas que componen este tipo de epitelio. Luego de la mitosis, puede permanecer en la capa basal y dividirse nuevamente, o puede volverse diferenciada, durante ese tiempo migra y es empujada hacia la superficie. Durante su migración como un queratinocito sufre cambios bioquímicos y morfológicos, convirtiéndose en una célula diferenciada. La diferenciación termina con la formación de una escama queratinizada<sup>33</sup>, que más tarde se descama y cae al medio bucal<sup>34</sup>.

Los queratinocitos están dispuestos en cuatro capas o estratos: Estrato Basal o Germinativo, Estrato Espinoso, Estrato Granuloso y Estrato Córneo<sup>35</sup>.

La célula queratinizada se torna una “escama” compacta y se deshidrata, cubre un área de superficie mayor que la célula basal de la cual se formó y está íntimamente adosada a las escamas adyacentes<sup>34</sup>.

##### A.2 EPITELIO ESTRATIFICADO PLANO PARAQUERATINIZADO.

Presenta iguales características que el queratinizado a nivel de los estratos basal, espinoso y granuloso; este último poco desarrollado. Las diferencias se presentan en el estrato córneo, que en este tipo de epitelio conservan los núcleos y también algunos organelos celulares parcialmente lisados, hasta que se descaman<sup>33,35</sup>.

### **A.3 EPITELIO ESTRATIFICADO PLANO NO QUERATINIZADO**

Se diferencia del epitelio queratinizado principalmente porque no produce la capa superficial córnea y carece además de estrato granuloso. Las capas de un epitelio no queratinizado son basal, intermedia y superficial. La capa basal es similar a las descritas anteriormente. La capa intermedia presenta células poliédricas con núcleo redondo de cromatina laxa y citoplasma ligeramente basófilo. La capa superficial está constituida por células aplanadas, nucleadas, de aspecto normal, las cuales se descaman, al igual que lo hacen las escamas córneas<sup>34</sup>.

La mucosa de revestimiento de la cavidad oral que recubre los labios, la mucosa bucal, la mucosa alveolar, el paladar blando, la parte inferior de la lengua y el piso de boca tienen un epitelio que es usualmente no queratinizado<sup>36</sup>.

Gran parte de la superficie de la cavidad oral como del vestíbulo está recubierta por mucosa (móvil). En comparación con la mucosa masticatoria, la mucosa móvil está recubierta por epitelio estratificado no queratinizado con relativamente cortas y anchas proyecciones epiteliales<sup>35</sup>.

## **2. DAÑO HISTOLÓGICO ASOCIADO A TABACO**

Estudios realizados en animales de experimentación, roedores específicamente, han demostrado que los componentes del tabaco inducen cambios morfológicos precoces en la arquitectura tisular y morfología de las células epiteliales de la mucosa bucal, evidenciándose posteriormente a la exposición a carcinógenos derivados del cigarrillo, bien sea por vía inhalatoria, oral o de forma tópica sobre las mucosas<sup>37</sup>.

Los cambios epiteliales que sufre la mucosa bucal y el tejido gingival de individuos fumadores se describen como similares a los estadios tempranos de la displasia, donde la pérdida del patrón epitelial normal comprende la presencia de crestas bulbosas, la pérdida de polaridad celular y el aumento de la capa parabasal. Estos cambios se han visualizado en un 82,14% de los fumadores según un estudio realizado por Naderi y cols. el año 2015<sup>38</sup>.

Uno de los cambios histológicos es el aumento del grosor epitelial total<sup>39,40</sup> y de algunos segmentos específicos de este como el estrato córneo y espinoso en individuos fumadores<sup>40</sup>. Se ha observado también que existe una mayor colagenización del tejido conjuntivo subyacente<sup>39</sup>, posiblemente asociado a los elementos nocivos propios del cigarrillo, que provocan una sobreestimulación de los queratinocitos<sup>37</sup>, y al impacto físico del aumento de la temperatura local, producto de la combustión del tabaco. La presencia conjunta de todas estas modificaciones en el epitelio y tejido conjuntivo pueden contribuir a la reducción de los signos clínico inflamatorios en diferentes áreas de la cavidad bucal<sup>40</sup>.

El impacto del humo del cigarrillo en los tejidos orales se ha estudiado *in vitro* a través del uso de cultivos de fibroblastos gingivales inmersos en un gel de colágeno y expuestos al humo del cigarrillo condensado, lo que demostró que éste reduce la capacidad de contracción del gel, la transformación de los factores de crecimiento y los niveles de prostaglandina E2 en las células colágenas, alterando además la liberación de fibras de estrés de actinia en fibroblastos, perjudicando con ello la apropiada maduración de los tejidos gingivales durante la cicatrización de heridas en fumadores<sup>41</sup>.

Con respecto al compromiso inflamatorio y a la alteración de la vascularización de los tejidos gingivales, la literatura arroja resultados contradictorios:

Sobre el grado de inflamación y la cantidad de infiltrado inflamatorio en los tejidos bucales, se ha descrito por una parte que en pacientes fumadores existe un aumento de ellos, caracterizado por un infiltrado mayoritariamente de tipo crónico compuesto en gran parte por linfocitos y en menor cantidad por células plasmáticas, polimorfonucleares, leucocitos e histiocitos<sup>37,42</sup>. Sin embargo, el estudio de Naderi y cols. indica lo contrario, concluyendo que los elementos mencionados al inicio están disminuidos en fumadores en comparación con pacientes no fumadores, lo que conlleva a una reducción de los signos clínicos inflamatorios de los tejidos gingivales, lo que se puede confundir con un estado de salud<sup>38</sup>.

Por otro lado, los estudios relacionados con la vascularización de los tejidos gingivales en pacientes fumadores han abarcado los 3 resultados posibles, definiendo algunos que existe un mayor número de vasos sanguíneos, con signos de dilatación y congestión, principalmente en la zona subepitelial<sup>42</sup>, otros describen que no hay diferencias significativas entre grupos de fumadores y no fumadores<sup>43,44</sup> y finalmente, que los fumadores presentan una menor vascularización y capilares sanguíneos de diámetro y densidad disminuidos<sup>38,39</sup><sup>31,30</sup>, posiblemente causado por los componentes de la nicotina, ya que éstos estimulan la producción de adrenalina y noradrenalina, generando vasoconstricción, lo que trae como consecuencia la disminución del sangrado y de la producción de exudado<sup>38</sup>.

## CAPÍTULO IV: CITOLOGÍA

La mucosa oral es un indicador de la salud general del organismo. Todo lo que pasa a través de la cavidad oral en forma de comida o bebida, toma contacto en primera instancia con ella, viéndose afectada además por la presencia de hábitos nocivos como fumar y el consumo de alcohol, los cuales con el paso de los años dejan su marca en los tejidos orales. La entidad más dañina y peligrosa asociada a estos hábitos es el cáncer oral<sup>45</sup>, cuyo diagnóstico precoz va a mejorar tanto la supervivencia como la morbilidad asociada al tratamiento. En esta etapa los métodos diagnósticos clásicos para las lesiones cancerosas y precancerosas orales son esenciales, y se consideran entre ellos el examen clínico y el estudio histopatológico<sup>46</sup>.

La citología exfoliativa oral se define como el estudio e interpretación de las características de las células que se descaman, natural o artificialmente, de la mucosa oral<sup>47</sup> (Figura 3).

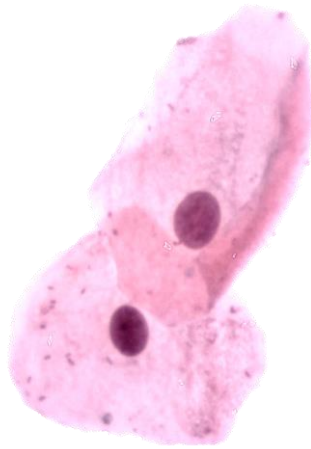


Figura 3: Frotis de células de mucosa yugal obtenidas mediante la técnica de citología exfoliativa durante la realización de nuestro estudio (40X)

La citología exfoliativa está basada en la fisiología epitelial. Un epitelio normal está expuesto a una exfoliación regular, específicamente, la pérdida de superficie celular y el grosor del epitelio es constante. Bajo condiciones normales, las células epiteliales están fuertemente mantenidas en posición. La presencia de enfermedades benignas o la formación de epitelio maligno causa que las células pierdan su fuerza cohesiva dando como resultado la exfoliación. La pérdida de cohesión entre las células nos permite la recolección de células exfoliada para examinación microscópica<sup>48</sup>.

A continuación se señalan las ventajas de una técnica de citología exfoliativa<sup>49</sup>:

- No es invasivo.
- La técnica es simple y rápida.
- Es indolora, no requiere el uso de anestesia local.
- No compromete presencia de sangre.
- Puede ser repetida frecuentemente con un mínimo discomfort para el paciente.
- Es adecuada para pacientes con enfermedades sistémicas que tengan contraindicados biopsias.
- La muestra obtenida puede ser estudiada a través de métodos inmunológicos.
- Puede ser realizado en grandes grupos si es requerido.
- Descarta complicaciones post-biopsia<sup>45</sup>

Sus desventajas contemplan el hecho de que relativamente entrega menor información que en cortes histológicos y no sustituye la biopsia, los resultados positivos obtenidos son fiables, pero no los negativos en su totalidad, es una técnica auxiliar y apropiada sólo para células epiteliales, su interpretación requiere habilidades y experiencia en citopatología<sup>50</sup>.

## **1. TÉCNICA CITOLOGÍA EXFOLIATIVA**

Las áreas más comunes para la colección de muestra en la cavidad oral son la mucosa bucal, paladar duro y blando, dorso de la lengua, piso de boca y región del labio inferior<sup>51</sup>.

Los suministros necesarios para la citología oral son 1-2 láminas de vidrio, hisopo, paleta de madera o cepillo para citología y fijador de células o alcohol. El cepillo de citología es comúnmente utilizado, ya que con él se pueden obtener un mayor número de células y facilita la distribución uniforme de estas en el portaobjeto<sup>50</sup>.

Antes de realizar el frotis se debe explicar al paciente el propósito de la técnica. Se debe escribir el nombre del paciente, la fecha y la zona de la cual se adquiere la muestra en uno de los lados del portaobjeto. La extracción de la muestra se inicia con una limpieza de la superficie del sitio seleccionado con una gasa para eliminar los restos de mucina, posteriormente se raspa vigorosamente, pero aplicando una fuerza razonable, la zona con el instrumento para el raspado, ya sea espátula o cepillo. A continuación se extiende, con rapidez y uniformidad el material obtenido sobre el portaobjetos, aplicando inmediatamente el fijador sobre éste y luego se deja secar<sup>50</sup>.

## 2. TINCIÓN PAPANICOLAOU

La tinción de Papanicolaou es un método de coloración policrómico que consta de una tinción nuclear y un contraste citoplasmático descrita por primera vez por el Dr. George Papanicolaou (1883-1962) en 1928<sup>52</sup>.

Ventajas:

- Buena definición del detalle nuclear, evidenciando patrón cromático de las células.
- Aspecto transparente del citoplasma
- Diferenciación celular, permite apreciar grados de maduración y actividad metabólica<sup>53</sup>.

El proceso de tinción se puede dividir en 4 etapas principales, entremezcladas con fases que hidratan, deshidratan y enjuagan las células<sup>54</sup>.

1) Fijación: Se realiza al momento de la toma de muestra usando alcohol en spray (debe realizarse en menos de 5 segundos).

2) Coloración de núcleos: Consiste en la aplicación de hematoxilina de Harris, un colorante alcohólico basófilo que tiene afinidad por la cromatina.

3) Coloración de citoplasmas: Mediante colorantes que tiñen de manera diferencial cada tipo celular, en base a la diferencia en la afinidad electroestática de las proteínas de cada colorante junto al grado de diferenciación celular.

- El Orange G es un colorante alcohólico monocromático que tiñe de color anaranjado el citoplasma de células maduras bien diferenciadas con hiperqueratosis, generando una coloración orangeofílica.

- El colorante EA-50 es una mezcla policrómica de colorantes que tiñen el citoplasma y está compuesto por la Eosina, Verde Luz y Pardo Bismarck. La primera tiñe los citoplasmas de células superficiales e intermedias (eosinófilas o acidófilas), el verde luz tiñe el citoplasma de las células menos diferenciadas, siendo las basales y parabasales coloreadas de azul (basófilas o cianófilas). Por último el Pardo Bismarck tiene afinidad por células productoras de mucina.

4) Aclaramiento: Es el paso final de la tinción, donde se produce la transparencia celular, para lo cual, se utiliza xilol como solución aclaradora<sup>53</sup>.

### 3. CITOMORFOMETRÍA

Son técnicas de caracterización y medición celular realizadas mediante análisis computacional, cuyos parámetros cuantitativos mejoran la sensibilidad de la citología exfoliativa<sup>55</sup>.

La obtención de células mediante el raspado de la mucosa por sí solo presenta una sensibilidad de un 89% y especificidad de 89,5%<sup>56</sup>, mientras que al combinarse con un análisis computarizado tanto citomorfológico y citométrico (programa de referencia Oral CDX) estos valores ascienden a un valor mayor de 96% y 90%, respectivamente<sup>57,58</sup>.

Los parámetros en los que se basa este análisis contemplan el área nuclear, área citoplasmática, proporción área nuclear-citoplasmática, diámetro celular, diámetro nuclear, forma del núcleo, continuidad de la membrana nuclear, densidad óptica del núcleo y textura<sup>59</sup>. De estos parámetros, los valores de área nuclear y la relación área nuclear-citoplasmática han mostrado aportar resultados significativos en el diagnóstico de lesiones orales<sup>60</sup>, donde el aumento del diámetro nuclear y la disminución del citoplasma han mostrado ser útiles como indicadores de malignidad al utilizar la citología exfoliativa<sup>56</sup>.

Respecto a los datos de normalidad de los parámetros mencionados se han establecido diferentes conclusiones en base a su caracterización por rango etario, sexo y localización del sitio de muestra<sup>61,63</sup>. Los resultados obtenidos en sujetos de sexo masculino han indicado que existe una diferencia entre el área nuclear, área celular y la relación núcleo citoplasma entre los diferentes grupos etarios<sup>61</sup>, con un peak entre los 21-40 años y luego disminuyen progresivamente sus valores con el paso de la edad.

En relación a las cifras obtenidas del análisis citológico de individuos del sexo femenino se muestran resultados contradictorios: por una parte se define que no hay cambios significativos entre las mujeres de diferentes rangos etarios<sup>61</sup> y por el otro que sí existen cambios en los valores de diámetro celular y nuclear entre los grupos etarios, que puede atribuirse a los ciclos de las hormonas sexuales a lo largo de la vida de las mujeres, señalando un aumento del valor de dichos parámetros durante la pubertad y el embarazo y una disminución en el paso hacia la menopausia, siendo el estrógeno de gran relevancia, debido a su influencia en la citodiferenciación del epitelio escamoso, en la síntesis y mantención del colágeno y en la vascularización gingival<sup>62</sup>.

Se han visto de igual modo datos discordantes sobre si hay similitudes entre genero femenino y masculino, mostrando por un lado que no existe una diferencia

significativa entre ambos<sup>62</sup>, y por otro que sí hay diferencias estadísticamente significativas entre sexos y rango etario, siéndolo para los valores de área nuclear en los 3 primeros grupos etarios, el área citoplasmática para los grupos de < 21, 21-40 y > 60 y por último el área nuclear para todos los grupos, cuya explicación cae principalmente en la influencia hormonal<sup>63</sup>.

Sobre la edad, independiente del sexo, los estudios coinciden que a mayor edad los valores de área y diámetro nuclear, área citoplasmática, diámetro celular y relación núcleo-citoplasma disminuyen<sup>61,63</sup>.

Un estudio realizado por Cowpe y cols. en 1985 evalúa las diferencias de los parámetros mencionados según el área de extracción de la muestra, en este caso piso de boca, mucosa bucal, labio inferior, paladar duro y dorso lingual, y observaron una variación significativa del área celular y nuclear entre los sitios investigados, sin embargo, no encontraron una correlación cercana entre la mucosa bucal, piso de boca y labio inferior y entre paladar duro y lengua, lo que atribuyen a las diferencias en las funciones de estos tejidos, siendo los 3 primeros sitios tejido de revestimiento no queratinizado, el paladar duro mucosa masticatoria y el dorso lingual tejido especializada, de tipo queratinizado<sup>62</sup>.

Los efectos sobre la mucosa oral asociado al hábito de fumar y el consumo de tabaco han sido ampliamente estudiados, definiendo con ello que aquellos tejidos expuestos a dicha noxa responden a nivel celular con un aumento del tamaño nuclear, y una disminución del tamaño del citoplasma en consecuencia<sup>55,59,60,64</sup>, y un aumento en la relación del tamaño núcleo/citoplasma<sup>56,60</sup>, que se exagera a mayor cantidad de años fumando y número de cigarrillos diarios<sup>56</sup>. La relevancia del estudio de estos parámetros tiene relación con el hecho que pueden ser utilizados como indicadores tempranos de cambios displásicos en la mucosa oral y con ello establecer estrategias preventivas para evitar o reducir el riesgo de desarrollar lesiones malignas<sup>65</sup>.

El incremento del área nuclear y la disminución del área citoplasmática responden a un aumento en la actividad celular asociada a diversos procesos, que pueden ir desde la estimulación, replicación, reparación hasta la degeneración, procesos premalignos y neoplasias. En el caso de los fumadores, los productos carcinogénicos liberados durante la combustión del tabaco y el aumento de la temperatura podrían actuar en conjunto y estimular a las células de la mucosa bucal, aumentando con ello su actividad, siendo el resultado final los cambios mencionados al comienzo<sup>64</sup>. Por lo anterior, ambos parámetros resultan ser útiles como indicadores tempranos de malignidad y esto sugiere además, que la citología exfoliativa es un método de valor para el monitoreo clínico de lesiones sospechosas y la detección temprana de procesos neoplásicos<sup>56</sup>.

### III. OBJETIVOS

#### 1. OBJETIVO GENERAL

Describir características de células epiteliales y estado de tejidos periodontales en usuarios de cigarrillo electrónico, fumadores de cigarrillo convencional y no fumadores, residentes en la Provincia de Valparaíso, entre los meses de Octubre del año 2015 y Junio del 2016.

#### 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir **características citomorfométricas** en base a las mediciones de diámetro celular, diámetro nuclear, área celular, área nuclear, área citoplasmática y relación de área núcleo-citoplasma de células epiteliales de borde lateral de lengua de usuarios de cigarrillo electrónico, comparando con muestras obtenidas del mismo sitio en sujetos no fumadores y fumadores de cigarrillo convencional.
- Describir **características citomorfométricos** en base a las mediciones de diámetro celular, diámetro nuclear, área celular, área nuclear, área citoplasmática y relación de área núcleo-citoplasma de células epiteliales de mucosa yugal de usuarios de cigarrillo electrónico, comparando con muestras obtenidas del mismo sitio en sujetos no fumadores y fumadores de cigarrillo convencional.
- Describir **estado periodontal** en usuarios de cigarrillo electrónico, comparando con estado periodontal de sujetos no fumadores según los índices PISA, PESA, ALSA, número de sitios con pérdida de inserción mayor a 4 mm, índice de placa bacteriana de O'Leary e índice de sangrado gingival.
- Describir **estado periodontal** de usuarios de cigarrillo electrónico comparando con estado periodontal de sujetos fumadores de cigarrillo convencional según los índices PISA, PESA, ALSA, número de sitios con pérdida de inserción mayor a 4 mm, índice de placa bacteriana de O'Leary e índice de sangrado gingival.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, pues la meta consistía en describir el efecto del cigarrillo electrónico en la mucosa oral y tejidos periodontales, detallando cómo se manifiestan, en comparación a los sujetos que fumaban cigarrillo convencional y los no fumadores. Se realizaron mediciones únicas durante los meses de Marzo y Mayo del 2016 a los tres grupos en estudio, buscando determinar su estado periodontal, describir las modificaciones morfológicas celulares presentes en muestras de borde lingual y mejilla, y recogiendo información sobre las variables asociadas al patrón de consumo de los de fumadores de tabaco y usuarios de cigarrillo electrónico, mas no se indicó cómo estas se relacionaban, es decir, no fue requisito en nuestra investigación establecer una relación causa-efecto.

A continuación se muestra la planificación cronológica de nuestro estudio.

Proceso	2	9	6	3	0	7	4	1	8	4	1	8	5	1	8	5	2	9	7	4	1	8	4	1	8	5	2	9	6	3	0	6	3	0	7	4	1	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4	4	4	5	5	5	5	6	6	6	6	6	7	7	
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
Elaboración encuesta para captación de sujetos																																						
Solicitud de permisos																																						
Difusión de encuesta																																						
Aprobación de trabajo de investigación																																						
Examen clínico y citológico																																						
Tabulación y análisis estadístico																																						
Análisis de resultados																																						
Discusión y conclusiones																																						

## 2. POBLACIÓN/UNIVERSO

- a. **Universo:** Personas usuarias exclusivas de cigarrillo electrónico, fumadores de cigarrillo convencional, no fumadores.
- b. **Población Objetivo:** Personas usuarias exclusivas de cigarrillo electrónico, fumadores exclusivas de cigarrillo convencional, no fumadores de la Provincia de Valparaíso.
- c. **Población en Estudio:** Personas usuarias exclusivas de cigarrillo electrónico por al menos 6 meses, fumadores exclusivas de cigarrillo convencional por al menos 5 años, personas no fumadoras, sin historia de hábito tabáquico previo, entre 18 y 50 años, residentes en la Provincia de Valparaíso.

## 3. DETERMINACIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

Se realizó un muestreo no probabilístico en bola de nieve, definido por conveniencia a través de los participantes que accedieron a contestar una encuesta distribuida a través de redes sociales y en tiendas que comercializan cigarrillos electrónicos (Anexo 5). Este tipo de muestreo se justificó debido a que los estudios sobre el consumo de cigarrillo electrónico son escasos y debido a ello no existen datos de prevalencia ni de otras variables epidemiológicas valoradas que nos permitieran determinar la población en estudio ni el tamaño muestral.

### Criterios de inclusión

En la muestra total fueron incluidas las siguientes personas:

- Sujetos que respondieron la encuesta (Anexo 5) a través de redes sociales o directamente en el local "Holy Smoke" (Distribuidora de cigarrillos electrónicos en Viña del Mar) y que firmaron el consentimiento informado (Anexo 1).
- Personas de entre 18-50 años, que conservaran al menos 10 dientes en boca.
- Usuarios de cigarrillo electrónico exclusivo, por al menos 6 meses.
- Fumadores de cigarrillo convencional exclusivo, por al menos 5 años, con un consumo mínimo de 5 cigarrillos diarios.
- No fumadores, sin antecedentes de haber presentado el hábito tabáquico.
- Ausencia de enfermedades sistémicas, mujeres no embarazadas.
- Ausencia de tratamientos periodontales en al menos 3 meses.
- Ausencia de historia de radio o quimioterapia.
- Ausencia de enfermedad periodontal aguda.
- Ausencia de tratamientos rehabilitadores extensos, como prótesis fija plural que involucrara más de 3 dientes, implantes y/o prótesis removible parcial o total.

#### 4. VARIABLES DEL ESTUDIO

<b>Variables</b>	<b>Tipo</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Independiente /Dependiente</b>
Sexo	Cualitativa Dicotómica	Condición orgánica que distingue al macho de la hembra	Confirmación de si es hombre o mujer a través de la cédula de identidad	Independiente
Rango etario	Cuantitativa, Discreta	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Clasificación en 4 rangos: 18-26 años, 27-34 años, 35-42 años, 43-50 años	Independiente
Tiempo utilizando cigarrillo electrónico	Cuantitativa Continua	Período en el cual se ha mantenido el hábito de usar cigarrillo electrónico	Medida en cantidad de meses que haya usado sólo cigarrillo electrónico	Independiente
Presencia nicotina en líquido de cigarrillo electrónico	Cualitativa, Dicotómico	Presencia de nicotina en líquido para cigarrillos electrónicos, definido por el fabricante	Definición por el fabricante sobre presencia o ausencia de nicotina	Independiente
Consumo de mililitros diarios	Cuantitativa, Continua	Acción de consumir el líquido para cigarrillo electrónico a través de la vaporización de este	Cantidad de mililitros diarios de líquido consumidos con el cigarrillo electrónico, medidos según la capacidad de contenedor	Independiente
Tiempo fumando cigarrillo convencional	Cuantitativa Continua	Período en el cual se ha mantenido el hábito de usar cigarrillo convencional	Medida en cantidad de meses que haya fumado sólo cigarrillo convencional	Independiente
Número de cigarrillos diarios	Cuantitativa Continua	Cantidad de cigarrillos consumidos completamente mediante su combustión	Número de cigarrillos promedio consumidos en 1 día	Independiente

Tabla II: Descripción de variables de índole general, considerando sexo y elementos relacionados con el hábito de fumar en los sujetos a examinar

<b>Variabes</b>	<b>Tipo</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Independiente/ Dependiente</b>
Cantidad de placa bacteriana	Cuantitativa Continua	Cantidad de depósitos blandos	Índice de placa bacteriana O'Leary	Independiente
Sangrado al sondaje	Cuantitativa Continua	Sangrado dado por las microulceraciones presentes en el surco gingival	Sangrado del surco gingival al estimular con una sonda periodontal, después de esperar 20 segundos. Porcentaje de sitios sangrantes del total de sitios examinados	Dependiente
Área de superficie del saco epitelial (PESA)	Cuantitativa Continua	Cuantificación de la superficie del surco/saco periodontal, ya sea sano o inflamatorio	Valor dado por la hoja de cálculo de periodontograma al introducir los datos correspondientes a PESA	Dependiente
Área de superficie periodontal inflamada (PISA)	Cuantitativa continua	Cuantificación de la superficie periodontal inflamada	Valor dado por la hoja de cálculo de periodontograma al introducir los datos correspondientes a PISA	Dependiente
Área de pérdida de inserción epitelial (ALSA)	Cuantitativa Continua	Cuantificación de la superficie epitelial con pérdida de inserción	Valor dado por la hoja de cálculo de periodontograma al introducir los datos correspondientes a ALSA	Dependiente
Número de sitios afectados (NSA)	Cuantitativa Continua	Cantidad de sitios periodontalmente comprometidos	Número de sitios con profundidades de sondaje >4mm	Dependiente

Tabla III: Descripción de variables relacionadas con el análisis del estado de salud periodontal de los sujetos a examinar

<b>Variables</b>	<b>Tipo</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Independiente/ Dependiente</b>
Diámetro celular	Cuantitativa Continua	Distancia entre dos puntos de una célula, pasando por su centro geométrico	Medición en micrones ( $\mu$ ) de una línea recta que cruza por el largo mayor de una célula, pasando por su centro geométrico.	Dependiente
Área citoplasmática	Cuantitativa Continua	Espacio que ocupa el citoplasma dentro de los límites celulares	Sustracción del área nuclear al área celular, en $\mu^2$	Dependiente
Proporción área núcleo-citoplasma	Cuantitativa Continua	Relación entre el área que ocupa el núcleo, comparado con el citoplasma dentro de los límites celulares	Área nuclear / área citoplasmática	Dependiente
Diámetro nuclear	Cuantitativa Continua	Distancia entre dos puntos del núcleo, pasando por su centro geométrico	Medición en micrones ( $\mu$ ) de una línea recta que cruza por el largo mayor del núcleo, pasando por su centro geométrico	Dependiente
Área nuclear	Cuantitativa, Continua	Espacio que ocupa el núcleo dentro de los límites celulares	Perímetro nuclear al cuadrado, en $\mu^2$	Dependiente

Tabla IV: Descripción de las variables citomorfométricas a analizar en las muestras celulares obtenidas mediante citología exfoliativa y teñidas con la coloración de Papanicolaou

## 5. PLAN RECOLECCIÓN DE DATOS

1. Encuesta de inscripción (Anexo 5): Se realizó una encuesta distribuida en redes sociales y en el local de “Holy Smoke” con la finalidad de captar personas que utilizaran cigarrillo electrónico exclusivo o bien cigarrillo convencional, que quisieran participar dentro del estudio. La encuesta consistió en responder preguntas básicas para la recolección de datos personales y elementos básicos de consumo, ya sea de cigarrillo electrónico o convencional.

2. Llenado de Ficha Clínica (Anexos 6, 7, 8 y 9): Una vez captados los pacientes y antes de comenzar cualquier tipo de examen, se procedió a explicar a los participantes en qué consistía la investigación, sus objetivos y cuáles eran los procedimientos a realizar. Una vez conformes se solicitó la firma del consentimiento informado y se comenzó a rellenar una ficha clínica, dividida en 5 segmentos: Identificación, Anamnesis, Características de Consumo, Examen Citológico y Examen Periodontal.

3. Examen Periodontal: Se realizó bajo luz artificial, en un sillón clínico en las dependencias de la Clínica B y C, con previo consentimiento del Director de Servicios Clínicos. Mediante la utilización de una Sonda Carolina del Norte marca Hu Friedy, se midieron las profundidades de sondaje y los niveles de inserción clínica de los dientes de cada paciente y se registraron en un periodontograma (anexo 7), tanto escrito como digital. Además de esto, se registró el índice de sangrado gingival y de placa bacteriana según O’Leary (Anexo 8), cuyo procedimiento se encuentra descrito en el Anexo 4.

4. Estudio Citológico: se recogió una muestra de mucosa oral de la mejilla interna (mucosa yugal), y de borde lateral de lengua utilizando un cepillo citológico, comúnmente utilizado para realizar el examen ginecológico de Papanicolaou. El raspado de la mucosa se hizo tanto en el lado izquierdo como derecho y el registro del procedimiento se anexó a la ficha clínica (anexo 7). El procedimiento de toma de muestra, del frotis y el procesamiento de los portaobjetos (tinción PAP y montaje) se detalla en los anexos 2 y 3. Los portaobjetos ya montados fueron analizados bajo microscopio con un aumento de 40x, seleccionando 3 campos con al menos 2 células claramente distinguibles por cada uno. De estos sectores se capturaron imágenes utilizando el programa Micrometrics SE Premium 4, software diseñado para el trabajo con imágenes digitales del área de la histopatología y, utilizando este mismo programa, se procedieron a medir las muestras celulares (Imágenes de muestra en Anexo 2).

El proceso de llenado de ficha clínica, examen periodontal y citológico demoró aproximadamente 1 hora por paciente, incluyendo en este tiempo la realización de

un destartraje supragingival y pulido coronario, a modo de retribución por la participación en el estudio.

## **6. ESTANDARIZACIÓN O CALIBRACIÓN**

Las mediciones de las profundidades de sondaje y nivel de inserción clínica fueron tomadas solamente utilizando sondas Carolina del Norte, marca Hu Friedy. El periodontograma fue llevado a cabo por 1 persona, quien obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson de 0.8102 (correlación positiva) al comparar sus mediciones de profundidad de sondaje en un paciente voluntario periodontalmente sano (63 sitios evaluados) con los valores obtenidos por un docente de periodoncia (gold standard).

La tinción dental y la cuantificación del índice de placa de O'Leary fue realizado sólo por 1 persona, distinta a la que midió los parámetros periodontales.

Para la toma de muestra y frotis, 2 alumnas fueron instruídas por el Dr. Wilfredo González, docente de la Cátedra de Patología, mientras que para los procedimientos de tinción, montaje de portaobjetos y medición de parámetros celulares, todas recibieron instrucción previa por el mismo docente, corroborando la realización correcta de estas actividades a través de la toma de muestra y tinción de estas entre las mismas alumnas.

## **7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó una base de datos en Excel con los parámetros especificados anteriormente.

Los análisis de las medidas de tendencia central del total de la muestra y por grupos se realizaron utilizando el programa Microsoft Excel 2010.

Se utilizó el programa estadístico STATA 12 para evaluar el comportamiento paramétrico/no paramétrico de las variables a través de la prueba de Curtosis-Skewenes y Shapiro-Francia, definiendo como variables paramétricas aquellas con un  $p$  igual o mayor a 0.05. Las variables con comportamiento fueron analizadas mediante el análisis de One Way ANOVA, mientras que aquellas con comportamiento no paramétrico se trabajaron con el test de Kruskal Wallis, estableciendo un nivel de significancia aceptable de 0.05 en ambas pruebas.

Para aquellas variables que arrojaron una diferencia estadísticamente significativa, se procedió a determinar entre qué grupos existía esta diferencia a través del test de Mann –Whitney, ajustado con Bonferroni.

## 8. ASPECTOS ÉTICOS

- Vulnerabilidad: Todos los pacientes que accedieron a participar en este estudio debieron firmar un consentimiento informado antes de realizar cualquier acción clínica. La identidad de los pacientes fue guardada y no fue proporcionada en ninguna parte del estudio. La obtención de información personal, la recolección y análisis de datos, el manejo de muestras de tejidos y desechos biológicos, fueron realizados utilizando procedimientos e instrumentos protocolizados, no poniendo en riesgo en ninguna de estas etapas al paciente.

- Riesgo/Beneficio: La utilización de instrumentos para la recolección de datos de los pacientes, no puso a estos en riesgo en ningún caso. El examen periodontal fue beneficioso al determinar la necesidad de tratamiento posiblemente desconocida en pacientes de alto riesgo periodontal, mientras que la toma de muestra para el análisis citológico fue realizada de manera indolora y sin riesgos. Los beneficios que obtuvo el paciente fueron en un plano inmediato, el diagnóstico periodontal, la profilaxis y desbridaje supragingival y, en un plano mediano, la posibilidad de pesquisar lesiones potencial o radicalmente malignas y/o lesiones precursoras incipientes. Además, los pacientes que presentaban una necesidad de tratamiento mayor, por ejemplo en caso de infección odontogénica aguda o crónica, amplia destrucción o deterioro a nivel dentario y/o periodontal, etc., fueron derivados dentro de la Escuela a la Cátedra correspondiente para ser atendidos y dar solución a su problema de salud bucal.

- Confidencialidad de los datos: Se mantuvo la confidencialidad de los datos de los pacientes en todo momento. Aún cuando los resultados finales fueron expuestos, no se vio comprometido el nombre de ninguno de ellos. No se tomaron fotos sin consentimiento y las únicas imágenes utilizadas fueron aquellas capturas de las muestras citológicas y algunas relacionadas con el proceso de toma de muestra y determinación del índice de placa bacteriana, cuyo fin fue sólo el uso en el ámbito científico y no comercial.

El proyecto de investigación fue aprobado por la Dirección de Escuela de la carrera de Odontología de la Universidad de Valparaíso, sin embargo, en ausencia de un Comité de Ética formado en la facultad, no se cuenta con la aprobación de este.

## 9. BIOSEGURIDAD

El proceso de tinción y la toma de muestras involucró el uso de elementos catalogados como residuos peligrosos y cortopunzantes de acuerdo al “Reglamento sobre manejo de residuos de establecimientos de atención de salud (Reas)”<sup>66</sup>, por lo que ameritó la aplicación de protocolos para el manejo de estos elementos con el objetivo de reducir al mínimo los riesgos biológicos y de seguridad, en base a las indicaciones del Manual de Normas de Bioseguridad CONICYT<sup>67</sup> y la Guía de Bioseguridad para Laboratorios Clínicos del Instituto de Salud Pública de Chile<sup>68</sup>.

El xilol y el alcohol, utilizados en el proceso de tinción PAP, son compuestos volátiles e inflamables, por lo que fue necesario destinar una área del laboratorio con buena ventilación tanto para el trabajo como almacenaje de estos, considerando además que su ubicación debía estar alejada de fuentes de calor o electricidad. La eliminación y manejo de los residuos químicos generados debió realizarse en bidones, bajo una campana de ventilación y trasladados luego al lugar de acopio para su retiro por la empresa sanitaria en convenio con la escuela de odontología (Stericycle).

Para ambos procesos, tinción y eliminación, se requirieron barreras de protección física, incluyendo antiparras, mascarilla, guantes gruesos, delantal y pechera desechable.

Los portaobjetos, limpios o con material biológico, debieron ser transportados en cajas contenedoras especiales para su almacenaje (con divisiones que dan un espacio individual a cada vidrio para evitar golpes) y eliminados como material cortopunzante, por lo que su manejo requirió el uso de contenedores rígidos, resistentes a punción y corte, que al alcanzar los  $\frac{3}{4}$  de su capacidad, fueron desechados y retirados por la empresa sanitaria.

La atención de pacientes y toma de muestras de igual modo involucró el uso de barreras de protección, que incluyeron el uso del uniforme clínico, antiparras, mascarilla y guantes de látex. El sillón dental, bracket, lámpara y mesón de trabajo fueron limpiados entre pacientes con alcohol al 70% y los guantes y mascarillas desechados después de cada atención como residuos domiciliarios.

## 10. RECURSOS

Las instalaciones requeridas para realizar el examen periodontal y la toma de muestras fueron las clínicas B y C de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso. Se utilizaron 2 box dentales equipados con sillón y luz artificial, uno para cada actividad, que contuvieron el instrumental básico de examen (bandeja, sonda curva, espejo y pinza), gorro, mascarilla, guantes desechables, tómulas de algodón, basurero para desechos, consentimiento informado y ficha clínica. Uno de ellos debió tener además las sondas periodontales, reveladores de placa y la ficha de registro para los índices de placa y sangrado, junto con el Periodontograma. Mientras, el otro incluyó los insumos para realizar la toma de muestra por citología exfoliativa, que contempló cepillos para citología, portaobjetos, fijador citológico, ficha de registro de muestras, caja de transporte de muestras, rotulador fino y caja de desechos para material biológico.

Para realizar el proceso de tinción y la observación bajo microscopio de las muestras obtenidas se requirió el uso del laboratorio de patología de la Escuela de Odontología, donde se acudió varias veces para procesar las muestras. Se solicitó al Director de Laboratorio el permiso para poder realizar los procedimientos mencionados y conservar los insumos requeridos en las instalaciones. Además, cada vez que fue necesario trabajar en el laboratorio, se reservaba vía web el espacio requerido y el microscopio.

## V. RESULTADOS

### 1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA GENERAL

Los pacientes analizados fueron un total de 31, entre hombres y mujeres. La muestra fue dispuesta en 3 grupos: fumadores de cigarrillo convencional, no fumadores y usuarios de cigarrillo electrónico, con 10, 11 y 10 integrantes respectivamente.

Con respecto al sexo de los pacientes, del total de la muestra un 48.4 % eran hombres, mientras que el 51.6% mujeres, según muestra la tabla V.

Sexo	Porcentaje
Hombre	48,4 %
Mujer	51,6 %
Total	100 %

Tabla V: Distribución por género

El promedio de edad de los pacientes fue de 27.29 años, siendo el mínimo 18 y el máximo de 48 años, con una mediana en 26 y desviación estándar de 6.57. El mayor porcentaje de los pacientes estaba comprendido en el rango etario de los 18 a los 26 años de edad (54,8%) (Tabla VI).

Rango Etario	Porcentaje
18-26 años	54,8 %
27-34 años	35,5 %
35-42 años	3,2 %
43-50 años	6,5 %
Totales	100 %

Tabla VI: Distribución por rango etario

## A) PARÁMETROS PERIODONTALES

Los índices periodontales analizados fueron: índice de placa (IP), índice de sangrado (IS), área epitelial periodontal (PESA), área periodontal inflamada (PISA), pérdida de inserción (ALSA) y número de sitios afectados (NSA).

Del total de pacientes analizados (31), encontramos que la media obtenida para el índice de placa fue de 45.5% y para el índice de sangrado un 19.81%. La media para los PESA, PISA y ALSA fue de 1076.98 mm<sup>2</sup>, 690.46 mm<sup>2</sup> y 731 mm<sup>2</sup> respectivamente. La media para los sitios afectados fue de 7.25 sitios. Se puede encontrar la totalidad de las variables e índices estadísticos en la tabla VII.

Estadísticas	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>Media</b>	45.5	19.81	1076.98	690.46	731	7.25
<b>Mediana</b>	45.2	15.3	1044.8	667	612.6	4
<b>Mínimo</b>	7.7	5.3	883.7	564.5	363.5	0
<b>Máximo</b>	89.9	88.2	1569.2	978.5	2165.7	36
<b>Varianza</b>	431.14	276.72	20961.45	8084.24	124001.4	67.73
<b>Des. Est.</b>	20.76	16.63	144.78	89.1	352.13	8.22

Tabla VII: Parámetros periodontales y estadísticas

Los resultados mostraron que los hombres participantes en el estudio tenían todos los parámetros periodontales medidos más afectados en comparación con las mujeres (Tabla VIII), con diferencias estadísticamente significativas para los valores de PISA ( $p=0.0328$ ), ALSA ( $p=0.0177$ ) e IP ( $p=0.0221$ ).

Sexo	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>Hombre</b>	54,146	21,10	1105	710	839	8,53
<b>Mujer</b>	37,40	18,60	1051	673	630	6,06

Tabla VIII: Distribución por sexo y parámetros periodontales

Con respecto a los rangos etarios y promedios de los parámetros periodontales en estudio, podemos concluir que existe mayor destrucción epitelial y sitios afectados de forma creciente, conforme aumenta la edad de los pacientes, según muestra la tabla IX. Se encontraron además diferencias estadísticamente significativas para ALSA entre los rangos etarios 1 y 2 ( $p=0.0035$ ) y entre 1 y 4 ( $p=0.0239$ ). También para IP, entre los rangos 1 y 2 ( $p=0.044$ ).

	Rango Etario	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
1	18-26 años	38,87	15,93	1024,41	659,01	561,75	4,23
2	27-34 años	59,64	28,18	1127,21	724,06	791,52	9,90
3	35-42 años	39,2	14,8	1298,6	839,7	1256,9	10
4	43-50 años	27,3	9,3	1136,7	698,4	1575,15	17

Tabla IX: Distribución por rango etario y parámetros periodontales

## B) PARÁMETROS CELULARES

De los frotis de mucosa yugal y lengua realizados se obtuvo un total 372 campos analizados entre ambas muestras, que contienen 755 células con sus respectivas mediciones, 380 de lengua y 375 de mucosa yugal.

Los parámetros celulares medidos fueron diámetro celular (DC), diámetro del núcleo (DN), área celular (AC), área citoplasmática (ACP), área nuclear (AN), relación área núcleo-citoplasma (RANC), tanto de las células recopiladas de la lengua (L) como de la mucosa yugal (M).

De estos análisis podemos rescatar que la media de las muestras de lengua tomadas para los 31 pacientes analizados, fue de 1184.95  $\mu$ , para el DCL (D.E 218.21), 205.40  $\mu$  para el DNL (D.E 32.98), 787832.5  $\mu^2$  para el ACL (D.E 257482.5), 22294.67 para ANL (D.E 765537.8), 765537.8  $\mu^2$  para el ACPL (D.E 6952.89) y de 0.031  $\mu$  para el RANCL (D.E 0.010). La caracterización de las variables celulares en lengua según mediana, valores mínimo y máximo y varianza se muestran en la tabla X.

Estadística	DCL ( $\mu$ )	DNL( $\mu$ )	ACL( $\mu^2$ )	ANL( $\mu^2$ )	ACPL( $\mu^2$ )	RANCL
<b>Media</b>	1184.95	205.40	787832.5	22294.67	765537.8	0.031
<b>Mediana</b>	1176.34	203.98	754528.5	20865.5	735116	0.029
<b>Mínimo</b>	621.48	121.25	246447.5	6715	236225.5	0.011
<b>Máximo</b>	1935.92	279.61	1864170	44172	1830009	0.078
<b>Varianza</b>	47618	1087.88	6630100	4830070	6460100	0.0001
<b>Desv. Est.</b>	218.21	32.98	257482.5	6952.89	254230.9	0.010

Tabla X: Parámetros celulares de lengua y estadísticas

De los mismos análisis hechos, pero para las muestras de células de mejilla, tenemos que la media fue de 1329.93  $\mu$  para el DCM (D.E 247.93), 2010.57  $\mu$  para

DNM (D.E 33.69), 1026170  $\mu$  para el ACM (D.E 348592.6), 23719.38  $\mu$  para el ANM (D.E 7595.55), 1002450  $\mu$  para el ACPM (D.E 345968) y 0.025  $\mu$  para el ANCM (Tabla XI).

Estadística	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>Media</b>	1329.93	210.57	1026170	23719.38	1002450	0.025
<b>Mediana</b>	1310.87	211.62	987758.8	22947	956761.8	0.023
<b>Mínimo</b>	755.21	100.95	304982.5	8491	292952.9	0.008
<b>Máximo</b>	2115.52	307.57	2093325	53887	2076190	0.061
<b>Varianza</b>	61472.52	1135.10	1220110	5770070	1200110	0.0001
<b>Desv. Est.</b>	247.93	33.69	348592.6	7595.55	345968	0.010

Tabla XI: Parámetros celulares de mejilla y estadísticas

Según distribución por sexo, los promedios de las mediciones realizadas en las células recopiladas de la lengua, tenemos como resultado que los hombres participantes en el estudio tenían en general valores más elevados para los parámetros celulares que las mujeres (Tabla XII). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para área celular ( $p=0.0481$ ) y área nuclear ( $p=0.0398$ ).

Sexo	DCL ( $\mu$ )	DNL( $\mu$ )	ACL( $\mu^2$ )	ANL( $\mu^2$ )	ACPL( $\mu^2$ )	RANCL
<b>Hombre</b>	1209,79	208,11	873714,6	24885,7	848828,9	0,031
<b>Mujer</b>	1175,65	205,73	773046,09	22154,1	750891,96	0,032

Tabla XII: Distribución por sexo y parámetros celulares

De manera similar ocurrió con los promedios de las mediciones realizadas a las muestras celulares tomadas de mucosa yugal, según distribución por sexo, donde los hombres también tenían en general valores mayores para los parámetros celulares que las mujeres (Tabla XIII), sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Sexo	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>Hombre</b>	1292,55	216,24	949573,40	24990,2	924583,21	0,028
<b>Mujer</b>	1222,93	210,84	896812,86	22037,2	874775,7	0,027

Tabla XIII: Distribución por sexo y parámetros celulares para mucosa yugal

De acuerdo a los promedios de los parámetros celulares medidos en células de lengua y los rangos etarios, podemos concluir que el tercer rango etario (entre los 35 y los 42 años) presentó células de menor diámetro y área, mientras que el segundo rango (entre los 27 y los 34 años) mostró células de mayor diámetro y área, tanto en lengua como en mejilla. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los valores DCL ( $p=0.0039$ ), ACL ( $p=0.0014$ ), APCL ( $p=0.0014$ ) entre los rangos 1 y 2, y para RANCL entre los rangos 1 y 2 ( $p=0.0078$ ) y entre 1 y 4 ( $p=0.0154$ ) (Tabla XIV).

Rango Etario	DCL ( $\mu$ )	DNL( $\mu$ )	ACL( $\mu^2$ )	ANL( $\mu^2$ )	ACPL( $\mu^2$ )	RANCL
<b>1 18-26 años</b>	1172,39	207,04	778171,20	22893,58	755277,61	0,033
<b>2 27-34 años</b>	1254,47	210,37	937429,63	25514,45	911915,18	0,030
<b>3 35-42 años</b>	958,53	193,4	477902,5	15530,5	462372	0,033
<b>4 43-50 años</b>	1134,39	193,08	727958,75	21185,5	706773,25	0,030

Tabla XIV: Distribución por rango etario y parámetros celulares en lengua

De acuerdo al rango etario y parámetros celulares medidos en muestras de mejilla, encontramos que el menor DCM, con  $1235.91\mu$ , estaba situado en el segundo rango etario (27-34 años); los menores DNM, ACM y ACPM estuvieron presentes en el primer rango etario (18-26 años) con  $209.41\mu$ ,  $907972.05\mu$  y  $884515.81\mu$  respectivamente y el menor ANM se observó en tercer rango etario (35-42 años), con  $19347\mu$  (Tabla XV). Se determinó una diferencia estadísticamente significativa en el valor de DCM entre los rangos 1 y 4 ( $p=0.027$ ) y entre 2 y 4 ( $p=0.029$ ).

Rango Etario	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>18-26 años</b>	1243,49	209,41	907972,05	23456,24	884515,81	0,028
<b>27-34 años</b>	1235,91	217,98	913730,54	24113	889617,54	0,0288
<b>35-42 años</b>	1268,02	223,04	973994	19347	954647	0,020
<b>43-50 años</b>	1511,19	220,79	1092406,25	23527,25	1068879	0,022

Tabla XV: Distribución por rango etario y parámetros celulares en mejilla

## 2. FUMADORES DE CIGARRILLO CONVENCIONAL

### A) DESCRIPCIONES GENERALES

La muestra de fumadores de cigarrillo convencional estuvo compuesta por 10 personas, de los cuales 4 eran hombres y 6 mujeres (Figura 4).

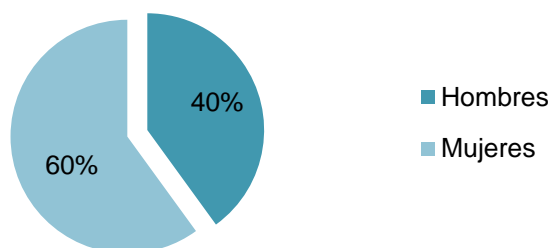


Figura 4: Distribución según sexo del grupo fumadores cigarrillo convencional

Los pacientes fumadores de cigarrillo convencional se ubicaron entre el primer y segundo rango etario, entre los 18 y 34 años (aunque mayoritariamente se encontraban entre los 18 y 26 años), con un promedio de 26.5 años (Figura 5).

Sobre el grupo de fumadores de cigarrillo convencional, el tiempo promedio de mantención del hábito fue de 141,6 meses (11,8 años), siendo el mínimo 84 meses (7 años) y el máximo 216 meses (18 años), con una mediana de 144, desviación estándar de 39.91 y una varianza de 1593.6.

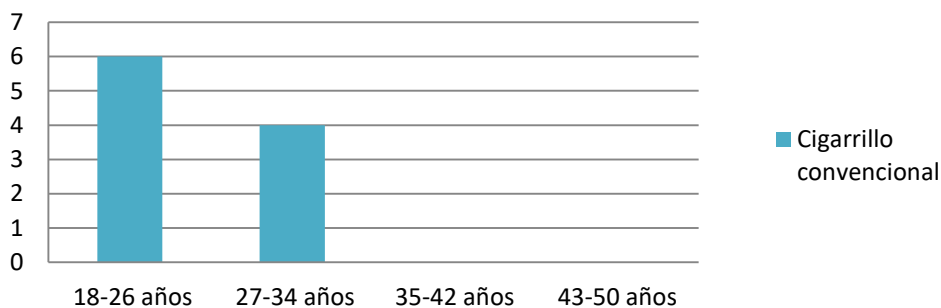


Figura 5: Distribución por edades del grupo fumadores cigarrillo convencional

El número de cigarrillos diarios fue de 6.2 en promedio, el mínimo fue 5 y el máximo de 10 cigarrillos al día, mediana de 5.5 cigarrillos, varianza 2.62 y desviación estándar de 1.61.

Según sexo, observamos que los hombres consumían un menor número de cigarrillos diarios, en comparación con las mujeres (Tabla XVII).

Sexo	Número cigarrillos diarios				Total
	5	6	7	10	
<b>Hombre</b>	3	1	0	0	4
<b>Mujer</b>	2	0	3	1	6
<b>Total</b>	5	1	3	1	10

Tabla XVII: Distribución por sexo y número de cigarrillos diarios

El número de cigarrillos diarios entre los rangos etarios no presentó grandes diferencias en cuanto a promedios, sin embargo, la cantidad máxima de cigarrillos consumidos diariamente fue mayor en el grupo de 18 a 26 años (Tabla XVIII).

Rango Etario	Cig. Diarios Promedio	Mediana	Desv. Est.	Mínimo	Máximo
<b>18-26 años</b>	6.66	6.5	1.86	5	10
<b>27-34 años</b>	5.5	5	1	5	7
<b>35-42 años</b>	0	-	-	-	-
<b>43-50 años</b>	0	-	-	-	-
<b>Total</b>	6.2	5.5	1.61	5	10

Tabla XVIII: Promedio cigarrillos diarios según distribución por grupo etario

Sobre el tiempo del hábito de fumar cigarrillo convencional, las mujeres mantenían este hábito por más tiempo que los hombres, ubicándose la mayoría en el rango de 121-180 meses (10-15 años) (Tabla XIX).

Tiempo fumando cigarrillo convencional	Sexo		Total
	Hombre	Mujer	
<b>60-120 meses</b>	3	0	3
<b>121-180 meses</b>	1	5	6
<b>181-240 meses</b>	0	1	1
<b>Total</b>	4	6	10

Tabla XIX: Rango de tiempo fumando convencional según distribución por sexo

De la mano con lo anterior, vimos que la mayoría de los menores de 27 años mantenían el hábito por al menos 10 años, lo que significa que este surgió a temprana edad, durante la adolescencia (Tabla XX).

Tiempo usando cigarrillo convencional	Rango etario				Total
	18-26 años	27-34 años	35-42 años	43-50 años	
<b>60-120 meses</b>	2	1	0	0	3
<b>121-180 meses</b>	4	2	0	0	6
<b>181-240 meses</b>	0	1	0	0	1
<b>Total</b>	6	4	0	0	10

Tabla XX: Tiempo fumando cigarrillo convencional según distribución por rango etario

Según el sexo, se observó que el consumo de cigarrillo convencional se ha mantenido por más tiempo en mujeres, entre 121 y 240 meses (10 a 20 años), mientras que en hombres este no ha pasado más allá de los 15 años (Tabla XXI).

Tiempo usando cigarrillo convencional	Sexo		Total
	Hombre	Mujer	
<b>60-120 meses</b>	3	0	3
<b>121-180 meses</b>	1	5	6
<b>181-240 meses</b>	0	1	1
<b>Total</b>	4	6	10

Tabla XXI: Tiempo fumando cigarrillo convencional según distribución por sexo

## B) ANÁLISIS DE PARÁMETROS PERIODONTALES

Según los parámetros periodontales medidos, tenemos que la media para el IP en este grupo fue del 54.07%, para IS de 23.58%, para PESA fue de 1062.82 mm<sup>2</sup>, para el PISA de 683.33 mm<sup>2</sup>, para el ALSA de 708.1 mm<sup>2</sup> y para NSA fue de 7.8 (Tabla XXII).

Variables	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D. Est.
<b>IP (%)</b>	54.07	57	20.2	85.7	433.42	20.01
<b>IS (%)</b>	23.58	16.65	5.3	89.2	610.14	24.7
<b>PESA (mm<sup>2</sup>)</b>	1062.82	992.7	919.5	1569.2	37672.74	194.09
<b>PISA (mm<sup>2</sup>)</b>	683.33	646.7	591.3	978.5	13654.3	116.85
<b>ALSA (mm<sup>2</sup>)</b>	708.1	670.8	527.8	1385	62754.5	250.5
<b>NSA</b>	7.8	5.5	0	36	112.84	10.42

Tabla XXII: Parámetros periodontales y estadística

De acuerdo a la distribución por sexo en este grupo de estudio, tenemos que los valores de PESA, PISA, ALSA y NSA medidos fueron mayores en mujeres que en hombres (Tabla XXIII), sin embargo, no existieron diferencias estadísticamente significativas.

Sexo	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>Hombre</b>	66,05	24,77	1013,25	661,27	704,27	5.75
<b>Mujer</b>	46,08	22,78	1095,86	698,03	710,65	9.16

Tabla XXIII: Distribución por sexo y parámetros periodontales en pacientes fumadores convencionales

Con respecto al rango etario en este grupo, fueron eliminados el tercer (35-42 años) y cuarto (43-50 años) rango etario, debido a que no habían sujetos pertenecientes al grupo de pacientes que fuman cigarrillo convencional, que tuvieran las edades para ser incluidos en estos rangos. El segundo rango etario (27-34 años) presentó mayores niveles de afectación de los parámetros periodontales medidos con respecto al primer rango etario (18-26 años), según muestra la tabla XXIV, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Rango Etario	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>18-26 años</b>	45,58	15,75	651,96	651,96	616,93	4,16
<b>27-34 años</b>	66,8	35,32	730,37	730,37	844,85	13,25

Tabla XXIV: Distribución por rango etario y parámetros periodontales en el grupo de pacientes fumadores de cigarrillos convencionales

Según el tiempo fumando cigarrillo convencional y los índices periodontales medidos, se observaron valores menores para estos parámetros en el segundo grupo (120-179 meses de uso de cigarrillo convencional), mientras que el tercero (180 -240 meses de uso de cigarrillo convencional) presentó los mayores valores en las mediciones (Tabla XXV). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa para el valor de IS entre los rangos de 60-119 meses y 120-179 meses ( $p=0.0201$ ).

Tiempo Fumando Cigarrillo Convencional	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>60-119 meses</b>	64.23	27,033	1025,66	665,9	693,66	5
<b>120-179 meses</b>	43.71	9,7	1001,2	641,94	575,78	3,8
<b>180-240 meses</b>	85.3	53,1	1272,6	812,95	1060,55	22

Tabla XXV: tiempo fumando cigarrillo convencional y parámetros periodontales

De acuerdo al número de cigarrillos diarios fumados y los índices periodontales medidos, se encontró que los valores obtenidos eran variados. Los pacientes que fumaban 7 cigarrillos diarios fueron los que tenían mejores índices periodontales, excepto en el índice de sangrado, que se encontraría en segunda posición después de los pacientes que fumaban 10 cigarrillos diarios. El grupo de pacientes que fumaba 5 cigarrillos diarios se encontraba con los índices periodontales más afectados de los 4 grupos (Tabla XXVI), mas estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Número Cigarrillos Diarios	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>5</b>	60.7	31	1165.84	749.84	843.02	12.8
<b>6</b>	66.6	38.8	971.1	647.3	664.3	7
<b>7</b>	49.1	10.63	938.8	599.03	536.56	1
<b>10</b>	23.3	10.1	1011.5	639.7	591.9	4

Tabla XXVI: Número de cigarrillos diarios y parámetros periodontales

## C) ANÁLISIS CITOMORFOMÉTRICO

### Mediciones citomorfométricas en muestra obtenida de borde lingual

Según las variables citomorfométricas medidas en las células de lengua de los pacientes que fuman cigarrillo convencional, tenemos que las medias obtenidas fueron para el DCL de  $1183.57\mu$  (D.E 208.51), para el DNL de  $207.14\mu$  (D.E 33.28), para el ACL de  $784968.6\mu$ , (D.E 265378.6), para el ANL de  $23705.17\mu$  (D.E 7866.42), para el ACPL de  $761263.5\mu$  (D.E 261157.7) y para el RANCL de  $0.033$  (D.E 0.011) (Tabla XXVII).

Variables	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	Desv. Est.
<b>DCL (<math>\mu</math>)</b>	1183.57	1185.78	621.48	1700.65	43479.91	208.51
<b>DNL (<math>\mu</math>)</b>	207.14	202.09	121.25	275.86	1108.08	33.28
<b>ACL (<math>\mu^2</math>)</b>	784968.6	770980.5	259645.5	1388566	7040100	265378.6
<b>ANL (<math>\mu^2</math>)</b>	23705.17	22104	6715	44182	6190072	7866.42
<b>ACPL (<math>\mu^2</math>)</b>	761263.5	743896.5	249087.5	1363188	6820100	261157.7
<b>RANCL</b>	0.033	0.029	0.015	0.078	0.0001	0.011

Tabla XXVII: Parámetros celulares en el grupo de fumadores de cigarrillo convencional y estadística

Según distribución por sexo y los parámetros celulares analizados, se observó que las mujeres de este grupo presentaron mayores diámetros celulares y nucleares en comparación con los hombres, mientras que estos últimos mostraron valores mayores para las áreas celulares y nucleares (Tabla XXVIII), pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Sexo	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>Hombre</b>	1181,19	206,17	817091,49	23950,63	966102,27	0,029
<b>Mujer</b>	1209,93	208,70	785689,20	23527,96	804030,52	0,032

Tabla XXVIII: Distribución por sexo y parámetros celulares en lengua en pacientes fumadores convencionales

Con respecto a la edad, se observó que los parámetros celulares medidos para células de lengua fueron mayores en el segundo rango etario (27-34 años), como muestra la tabla XXIX, sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Rango Etario	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>18-26 años</b>	1159,18	207,24	727336,15	24258,71	782294,64	0,034
<b>27-34 años</b>	1257,31	208,36	904621,06	22854,52	998706,09	0,027

Tabla XXIX: Distribución por rango etario y parámetros celulares en lengua en pacientes fumadores convencionales

Con respecto al tiempo fumando cigarrillo convencional (FCC) y los parámetros celulares medidos para células de lengua, se observó que el primer grupo (60-119 meses de uso) tuvo el mayor ACPL de los tres con 1048946.27 $\mu$ . El segundo grupo (120-179 meses de uso) tuvo los mayores DNL y ANL, con 210.63 $\mu$  y 23815.41 $\mu$  respectivamente. Finalmente el tercer grupo (180-240 meses de uso) tuvo los mayores DCL y ACL de los tres (Tabla XXX), mas estas diferencias descritas no fueron estadísticamente significativas.

Tiempo FCC	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>60-119 meses</b>	1195,53	201,70	803142,14	23433,11	1048946,27	0,027
<b>120-179 meses</b>	1192,41	210,63	758727,49	23815,41	785155,22	0,034
<b>180-240 meses</b>	1217,85	209,31	889718,64	23796,97	807988,64	0,030

Tabla XXX: Tiempo fumando cigarrillo convencional (FCC) y parámetros celulares en células de lengua

De acuerdo al número de cigarrillos diarios consumidos y los parámetros celulares medidos en células linguales, tenemos que el primer grupo (5 cigarrillos diarios) tuvo el menor DCL de los cuatro grupos con 1158.32 $\mu$ . El segundo grupo (6 cigarrillos diarios) presentó los mayores DCL, ACL, ANL y ACPL, con 1304.25 $\mu$ , 1030738 $\mu$ , 28020.26 $\mu$  y 1002717 $\mu$  respectivamente. El tercer grupo (7 cigarrillos diarios) mostró el mayor DNL con 214.12 $\mu$ . El cuarto grupo (10 cigarrillos diarios) obtuvo los menores valores de los cuatro grupos en todos los parámetros medidos, a excepción del DCL (Tabla XXXI). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Número Cigarrillos Diarios	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
5	1158.32	206.9	77355.7	23701.74	749583.9	0.033
6	1304.25	205.63	1030738	28020.26	1002717	0.028
7	1205.67	214.12	782800.9	24001.63	758799.2	0.034
10	1195.56	195.77	701375.1	20477.63	680897.5	0.030

Tabla XXXI: Número de cigarrillos diarios y parámetros celulares en lengua

### **Mediciones citomorfométricas en muestra obtenida de mucosa yugal**

En el grupo de pacientes que fuman cigarrillo convencional, las medias fueron para el DCM de  $1339.51\mu$  (D.E 215.17), para DNM de  $211.29\mu$  (D.E 27.68), para ACM de  $1024976\mu$  (D.E 295198.2), para el ANM de  $23623.28\mu$  (D.E 6556.57), para el ACPM de  $1001353\mu$  (D.E 293198) y para el RANCM de 0.025 (D.E 0.088) (Tabla XXXII).

Variables	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	Desv. Est.
DCM ( $\mu$ )	1339.51	1348.68	757.43	2115.52	46301.48	215.17
DNM ( $\mu$ )	211.29	211.68	155.08	277.35	766.54	27.68
ACM ( $\mu^2$ )	1024976	989631.5	304982.5	1924872	8710100	295198.2
ANM ( $\mu^2$ )	23623.28	23567.5	9004.5	46476	4300070	6556.57
ACPM ( $\mu^2$ )	1001353	953995	292952.9	1898872	8600100	293198.6
RANCM	0.025	0.023	0.010	0.049	0.00007	0.088

Tabla XXXII: Estadística y parámetros celulares en células de mucosa yugal en pacientes fumadores de cigarrillo convencional

Según distribución por género y mediciones citomorfométricas en células tomadas de la mucosa yugal, se observó que las mujeres presentaron mayores diámetros y áreas celulares que los hombres en el grupo de estudio (Tabla XXXIII).

Sexo	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
Hombre	1250,83	208,12	954266,10	22221,21	915893,75	0,025
Mujer	1392,07	210,83	1060297,19	23865,16	1060216,45	0,023

Tabla XXXIII: Distribución por sexo y parámetros celulares de mucosa yugal

Respecto a la distribución por rango etario y las mediciones citomorfométricas en células recolectadas de la mucosa yugal, los pacientes en el primer rango etario (18-26 años) obtuvieron diámetros y áreas celulares menores que el segundo rango (27-34 años), tal como muestra la tabla XXXIV, mas estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Rango Etario	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>18-26 años</b>	1314,42	205,85	998038,18	22959,01	975079,17	0,024
<b>27-34 años</b>	1367,31	215,59	1047654,6	23580,43	1043599,7	0,023

Tabla XXXIV: Distribución por rango etario y parámetros celulares en mejilla

Según el número de cigarrillos diarios y las mediciones citomorfométricas de células de mejilla, pudimos observar que los pacientes que fumaban 5 cigarrillos diarios fueron los que alcanzaron mayores diámetros y áreas celulares de los cuatro grupos, mientras que los que fumaban 6 cigarrillos diarios, fueron los que presentaron mediciones de menor valor, en comparación a los otros tres grupos (Tabla XXXV), siendo esta diferencia estadísticamente significativa para el valor de DNM entre aquellos que fumaban 5 y 6 cigarrillos diarios ( $p=0.005$ ) y entre 6 y 7 diarios ( $p=0.035$ ).

Número Cigarrillos Diarios	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>5</b>	1355.71	217.45	1061439	24096.12	1037343	0.025
<b>6</b>	1239.10	189.75	895476.8	20475.8	875001	0.024
<b>7</b>	1349.63	209.67	1055004	23985	1031019	0.024
<b>10</b>	1339.12	206.36	897936	23237.96	874698.10	0.027

Tabla XXXV: Número de cigarrillos diarios y parámetros celulares en mejilla

Respecto al tiempo fumando cigarrillo convencional y las mediciones citomorfométricas para las células recopiladas de mucosa yugal, encontramos que los pacientes que llevaban menos tiempo fumando (60-119 meses) fueron los que presentaron menores diámetros y áreas celulares, en comparación a los otros dos grupos, siendo estadísticamente significativo para el valor de ACM entre el primer y segundo rango ( $p=0.0201$ ) y para el valor de DCM entre los mismos grupos ( $p=0.020$ ) y entre el primer y tercer rango etario ( $p=0.012$ ) . Por su parte los

pacientes que llevaban más tiempo fumando (180-240 meses) fueron los que presentaron mayores diámetros y áreas celulares (Tabla XXXVI).

Tiempo FCC	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>60-119 meses</b>	1205,98	202,24	884536,79	21431,21	841570,73	0,026
<b>120-179 meses</b>	1371,50	210,33	1056002,93	23846,90	1032156,02	0,024
<b>180-240 meses</b>	1440,17	219,55	1122611,27	24273,83	1169690,72	0,021

Tabla XXXVI: Tiempo fumando cigarrillo convencional y parámetros de mucosa yugal

### 3. NO FUMADORES

#### A) DESCRIPCIONES GENERALES

La muestra de este grupo se compuso por 11 personas, 3 de ellas eran hombres y 8 mujeres (Figura 6).

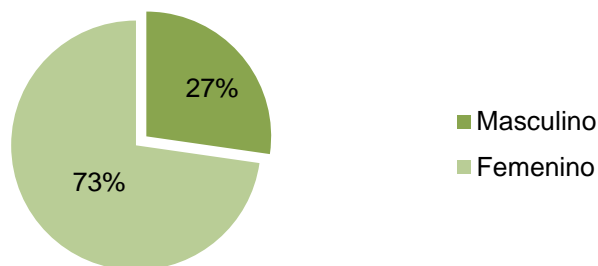


Figura 6: Distribución grupo no fumadores según sexo

La edad media de la muestra de no fumadores fue de 24.36 años (Tabla XXXVII), siendo la mínima de 18 años y la máxima de 29 años. La distribución según este parámetro nos muestra que el grupo completo se concentra entre los rangos etarios 1 y 2. (18-26 y 27-34 años)

No Fumador	
Promedio edad	24.36 años
Mediana	28 años
Varianza	11,05
Desv. Est.	3.32

Tabla XXXVII: Rango etario y estadística de grupo de no fumadores

#### B) ANÁLISIS DE PARÁMETROS PERIODONTALES

Según los parámetros periodontales medidos, tenemos que la media para el IP en este grupo fue de 38.17%, para el IS es de 15.17%. El PESA, PISA y ALSA presentaron medias de 1007.53 mm<sup>2</sup>, 646.14 mm<sup>2</sup>, y 708.1 mm<sup>2</sup>, respectivamente. El promedio de sitios afectados fue de 7.8 (Tabla XXXVIII).

Variables	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D.Est.
<b>IP (%)</b>	38.17	31.5	7.7	85.7	372.67	20.81
<b>IS (%)</b>	15.17	1408	7.1	32.1	46.11	24.70
<b>PESA (mm<sup>2</sup>)</b>	1007.53	1017.2	883.7	1168.8	5303.88	194.09
<b>PISA (mm<sup>2</sup>)</b>	646.14	645.5	564.5	761.3	2527.86	116.85
<b>ALSA (mm<sup>2</sup>)</b>	529.89	550.2	363.5	658	7476.21	250.50
<b>NSA</b>	3.27	3	0	8	5.81	10.62

Tabla XXXVIII: Parámetros periodontales y estadística

Como la distribución de este grupo se centra entre los 18 y 34 años, el análisis de resultados fue acotado en relación a los dos primeros rangos establecidos.

El rango de 27-34 años presentó un índice de placa y sangrado promedio elevado, mientras que el resto de las medias de las variables periodontales fueron muy similares entre ambos rangos, encontrando diferencias estadísticamente significativas sólo para los valores de ALSA ( $p=0.0412$ ) (Tabla XXXIX).

Rango Etario	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>18-26 años</b>	33,84	13,65	1008,65	646,29	501,76	3,38
<b>27-34 años</b>	49,73	19,23	1004,57	645,77	604,90	3,00

Tabla XXXIX: Distribución por rango etario y parámetros periodontales

Según sexo, las mujeres presentaron promedios levemente menores en todas las variables periodontales, en comparación con los hombres. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla XL).

Sexo	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
<b>Hombre</b>	52,03	16,63	1028,77	664,13	571,90	4,00
<b>Mujer</b>	32,98	14,63	999,58	639,40	514,14	3,00

Tabla XL: Distribución por sexo y parámetros periodontales

## C) ANÁLISIS CITOMORFOMÉTRICO

### Mediciones citomorfométricas en muestra obtenida de borde lingual

Según las variables citomorfométricas medidas, tenemos que las medias obtenidas fueron para el DCL de 1184.43  $\mu$ , para el DNL de 202.04  $\mu$  para el ACL de 767974.1  $\mu^2$ , para el ANL de 20907.36  $\mu^2$ , para el ACPL de 747066.8  $\mu^2$  y para el RANCL de 0.029 (Tabla XLI).

Variable	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D. Est.
<b>DCL (<math>\mu</math>)</b>	1184.43	1146.48	699.48	1935.92	56718.49	238.15
<b>DNL (<math>\mu</math>)</b>	202.4	203.97	139.99	279.61	1124.93	33.54
<b>ACL (<math>\mu^2</math>)</b>	767974.1	708444.5	312860.5	1864170	6470100	254362.9
<b>ANL (<math>\mu^2</math>)</b>	20907.36	19491.5	11273	38524.5	3670070	6060.49
<b>ACPL (<math>\mu^2</math>)</b>	747066.8	679955.5	295049	1830009	6340100	251813.7
<b>RANCL</b>	0.029	0.028	0.012	0.069	0.0001	0.01

Tabla XLI: Parámetros celulares de lengua y estadísticas

Las variables DCL, ACL, ANL y ACPL alcanzaron valores levemente mayores en el rango de 27 a 34 años, mas estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla XLII).

Rango Etario	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>18-26 años</b>	1156,31	202,72	723386	19435,67	703949,9	0,029
<b>27-34 años</b>	1313,56	202,27	907380	20835,01	886544,6	0,025

Tabla XLII: Distribución por rango etario y parámetros celulares en lengua

Comparando estas mismas variables según el sexo, los hombres mostraron valores superiores, excepto para RANCL. Estas diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas (Tabla XLIII).

Sexo	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>Hombre</b>	1326,10	215,78	940265,94	22397,07	917868,88	0,025
<b>Mujer</b>	1151,61	197,65	711053,19	18849,90	692203,29	0,029

Tabla XLIII: Distribución por sexo y parámetros celulares en lengua

### Mediciones citomorfométricas en muestra obtenida de mucosa yugal

En relación a las mediciones celulares de las muestras obtenidas en mejilla, el promedio para DCM fue de 1267.09  $\mu$ , para el DNM 204.86  $\mu$  para el ACM de 931503.9  $\mu^2$ , para el ANM de 22750.42  $\mu^2$ , para el ACPM de 908753.5  $\mu^2$  y para el RANCM de 0.027 (Tabla XLIV).

Variable	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D.Est.
<b>DCM (<math>\mu</math>)</b>	1267.09	1256.86	774.5	1890.27	56231.1	237.13
<b>DNM (<math>\mu</math>)</b>	204.86	207.02	115.85	296.89	1306.30	36.14
<b>ACM (<math>\mu^2</math>)</b>	931503.9	846602	373443.5	2068838	1140110	337983.2
<b>ANM (<math>\mu^2</math>)</b>	22750.42	22107.5	8491	44182	6420070	8014.05
<b>ACPM(<math>\mu^2</math>)</b>	908753.5	823012	353320	2043788	1130110	335703.1
<b>RANCM</b>	0.027	0.025	0.0098	0.060	0.0001	0.011

Tabla XLIV: Parámetros celulares de mucosa yugal y estadísticas

Comparando estas mismas variables según la edad, se observó que los valores fueron similares entre ambos rangos etarios, no encontrando diferencias estadísticamente significativas (Tabla XLV).

Rango Etario	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>18-26 años</b>	1248,29	199,9	934904,10	24769,58	912554,9	0,026
<b>27-34 años</b>	1261,46	201,2	903548,23	20324,81	883223,4	0,026

Tabla XLV: Distribución por rango etario y parámetros celulares en mucosa yugal

Según sexo, los valores de ACM, ANM y ACPM fueron levemente mayores en hombres, mientras que DCM, DNM, RANCM se mostraron muy similares entre ambos grupos. Las diferencias mencionadas no fueron estadísticamente significativas (Tabla XLVI).

Sexo	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>Hombre</b>	1268,20	203,46	967117,58	28856,38	944715,53	0,026
<b>Mujer</b>	1245,76	199,00	911065,60	21570,24	889495,36	0,026

Tabla XLVI: Distribución por sexo y parámetros celulares en mucosa yugal

## 4. USUARIOS DE CIGARRILLO ELECTRÓNICO

### A) DESCRIPCIONES GENERALES

Este grupo estuvo compuesto por un total de 10 personas, 8 de ellos hombres y 2 mujeres (Figura 7).

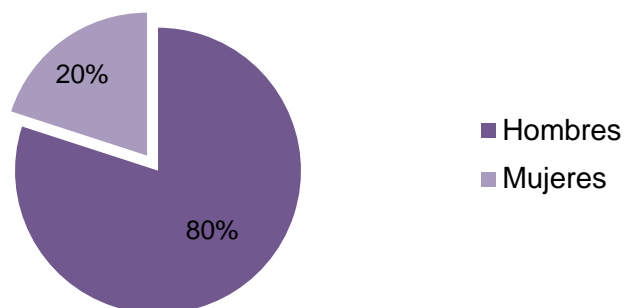


Figura 7: Distribución por género del grupo de usuarios de cigarrillo electrónico

La edad promedio de la muestra fue de 31.3 años, con una mediana de 28.5 años. Como se observa en el gráfico a continuación, fue en este grupo donde se encontraron las edades mínima y máxima del total la muestra y es el único grupo que presentó más variabilidad en cuanto a su edad, a pesar de que la mayoría de ellos perteneció al primer y segundo rango etario (Figura 8).

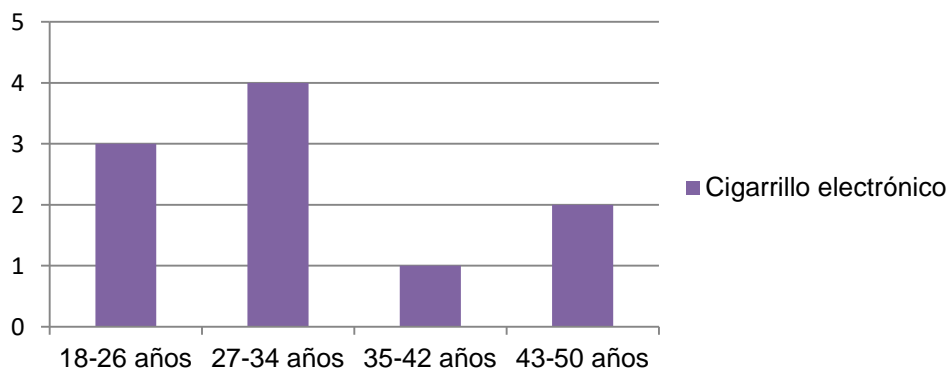


Figura 8: Distribución de la muestra por rango etario

El tiempo promedio de uso de estos dispositivos de forma exclusiva fue de 15 meses, con un mínimo de 6 y un máximo de 36 meses (3 años). La mediana fue de 9 meses, la varianza de 116.4 y la desviación estándar de 10.78 (tabla XLVIII).

Rango Tiempo Uso de Cigarrillo Electrónico	Sexo		Total
	Hombre	Mujer	
<b>6-16 meses</b>	4	2	6
<b>17-27 meses</b>	3	0	3
<b>28-38 meses</b>	1	0	1
<b>Total</b>	8	2	10

Tabla XLVIII: Tiempo de uso cigarrillo electrónico y distribución por sexo

La mayoría se los usuarios de cigarrillo electrónico de la muestra llevaba menos de un año y medio utilizando estos dispositivos de forma exclusiva. De la mano con lo anterior, se puede entrever que el inicio de uso del cigarrillo electrónico no se asocia exclusivamente a personas jóvenes, sino que también individuos mayores de 30 y 40 años han comenzado a utilizar estos dispositivos de manera reciente.

Sólo uno de los pacientes examinados lo ha utilizado de forma exclusiva por más de 3 años (Tabla XLIX).

Tiempo usando cigarrillo electronico	Rango etario				Total
	18-26 años	27-34 años	35-42 años	43-50 años	
<b>6-16 meses</b>	2	1	1	2	6
<b>17-27 meses</b>	1	2	0	0	3
<b>28-38 meses</b>	0	1	0	0	1
<b>Total</b>	3	4	1	2	10

Tabla XLIX: Tiempo de uso cigarrillo electrónico y distribución por rango Etario

El consumo promedio de líquido diario fue de 4,8 ml, siendo el mínimo 3 ml y el máximo de 15 ml, con una mediana de 3 ml diarios, varianza de 18.17 y desviación estándar de 4. Mientras, el uso de líquidos con nicotina fue positivo en 9 de los 10 integrantes de este grupo.

Los hombres presentaron una mayor variedad en los mililitros diarios consumidos, usando un 50% de ellos 3 ml al día, mientras que el 50% restante iba desde los 2 a 15 ml diarios. En cuanto a las mujeres, en cambio, se observó que el consumo de líquido diario no excedía los 3 ml (Tabla L). Sin embargo, el

componente femenino de la muestra de usuarios de cigarrillo electrónico equivale sólo al 20% del total de este grupo.

Sexo	Mililitros diarios consumidos					Total
	2	3	4	10	15	
<b>Hombre</b>	1	4	1	1	1	8
<b>Mujer</b>	1	1	0	0	0	2
<b>Total</b>	2	5	1	1	1	10

Tabla L: Mililitros consumidos diariamente según sexo

Al relacionar el tiempo que los usuarios que han utilizado estos dispositivos con los mililitros consumidos diariamente, observamos que quienes llevaban más tiempo de uso consumían una menor cantidad de líquido al día, a diferencia de quienes no sobrepasaban el año, donde observamos una mayor variabilidad de consumo, llegando incluso hasta los 15 ml diarios (Tabla LI).

Tiempo Utilizando Cigarrillo Electrónico	Mililitros Diarios Consumidos					Total
	2	3	4	10	15	
<b>6-16 meses</b>	2	1	1	1	1	6
<b>17-27 meses</b>	0	3	0	0	0	3
<b>28-38 meses</b>	0	1	0	0	0	1
<b>Total</b>	2	5	1	1	1	10

Tabla LI: Mililitros consumidos diarios por tiempo de uso de cigarrillo

Durante el examen clínico, el 50% de los usuarios de cigarrillo electrónico relataron sensación de boca seca (Xerostomía) desde que comenzaron a utilizar estos dispositivos.

## B) ANÁLISIS DE PARÁMETROS PERIODONTALES

Para este grupo, los valores promedio de los parámetros fueron 45.01% de Índice de placa y 21.16% el de sangrado. Para PESA, PISA, ALSA las medias fueron de 1167.54 mm<sup>2</sup>, 746.36 mm<sup>2</sup> y 975.4 mm<sup>2</sup> respectivamente. El número de sitios afectados fue de 11.1 en promedio (Tabla LII).

VARIABLES	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D. Est.
IP (%)	45.01	41.6	13	86.9	442.15	21.02
IS (%)	21.16	17.8	7.14	52.8	216.91	14.72
PESA(mm <sup>2</sup> )	1167.54	1151.25	1044.8	1348.6	11076.35	105.24
PISA(mm <sup>2</sup> )	746.36	723.9	678.7	862.4	4555.76	67.49
ALSA(mm <sup>2</sup> )	975.4	854.65	534.9	2165.7	225893.2	475.28
NSA	11.1	8	3	28	70.32	8.3

Tabla LII: Parámetros periodontales y estadísticas

El valor del índice de placa fue mayor en el rango de 27 a 34 años, siendo similar en el resto de los grupos etarios. El rango de 43 a 50 años presentó el menor índice de sangrado y PISA, mientras el grupo de 18-26 años mostró valores menores para PESA, ALSA Y NSA. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla LIII).

Rango Etario	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
18-26 años	38,87	22,40	1092,97	707,07	611,37	6,67
27-34 años	59,93	27,76	1206,13	776,48	878,18	11,75
35-42 años	39,20	14,80	1298,60	839,70	1256,90	10,00
43-50 años	39,20	9,30	1136,70	698,40	1575,15	17,00

Tabla LIII: Distribución por rango etario y parámetros periodontales

Los valores promedio de índice de placa, PESA, PISA, ALSA y NSA fueron levemente mayores en hombres, en comparación con las mujeres, aunque estas diferencias no resultaron ser estadísticamente significativas (Tabla LIV).

Sexo	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
Hombre	48,99	20,96	1178,64	750,78	1006,48	11,63
Mujer	29,10	22,00	1123,15	728,70	851,10	9,00

Tabla LIV: Distribución por sexo y parámetros periodontales

Según el tiempo que los pacientes han utilizado el cigarrillo electrónico, se observó que aquellos que tenían más de 28 meses de uso presentaron valores mayores en PESA, PISA y NSA. Los valores de PESA y ALSA fueron elevados en aquellos que han usado estos dispositivos entre 17 y 27 meses. Con respecto a los valores del índice de sangrado, se apreció una similitud entre los 3 rangos.

Pese a que se observaron variaciones entre los diferentes rangos etarios, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla LV).

Tiempo Utilizando Cigarrillo Electrónico	IP (%)	IS (%)	PESA (mm <sup>2</sup> )	PISA (mm <sup>2</sup> )	ALSA (mm <sup>2</sup> )	NSA
6-16 meses	41.61	21.7	1178.16	748.76	1127.16	13.3
17-27 meses	52.93	20.21	1085.93	702.86	711.43	4.33
28-38 meses	41.6	20.8	1348.6	862.4	856.7	18

Tabla LV: Tiempo utilizando cigarrillo electrónico y parámetros periodontales

Con respecto a la cantidad de mililitros diarios consumidos apreciamos que existen mayores valores de índice de placa y de sangrado en relación al consumo de 15 ml al día, que fue el máximo registrado en la muestra. Los valores de PESA, PISA y ALSA también fueron elevados para este grupo y se mostraron similares a los registrados en aquellos que consumían solamente 4 ml diarios. Sin embargo, las diferencias entre estos valores no fueron estadísticamente significativas (Tabla LVI).

Variables	Mililitros Diarios Consumidos				
	2	3	4	10	15
IP (%)	27.3	49.12	39.2	23.8	86.9
IS (%)	9.3	23.30	14.8	8.9	52.8
PESA (mm <sup>2</sup> )	1136.7	1153.06	1298.6	1075.2	1262.9
PISA (mm <sup>2</sup> )	698.4	742.16	839.7	702.7	813.6
ALSA (mm <sup>2</sup> )	1575.15	741.72	1256.9	534.9	1103.3
NSA	17	8.6	10	4	20

Tabla LVI: Variables periodontales y relación con mililitros consumidos diariamente

El valor del índice de sangrado para aquellos que utilizaban líquidos con nicotina fue menor. Los valores de PESA, PISA y ALSA son levemente mayores en comparación con los obtenidos en aquellos que consumían líquidos sin nicotina, mientras que los valores de NSA e IP fueron similares entre ambos grupos (Tabla LVII).

Variables	Líquidos Con Nicotina	Líquidos Sin Nicotina
IP (%)	44.98	45.2
IS (%)	19.61	35.1
PESA (mm <sup>2</sup> )	1168.5	1158.9
PISA (mm <sup>2</sup> )	747.08	739.8
ALSA (mm <sup>2</sup> )	1004.04	717.6
NSA	11	12

Tabla LVII: Variables periodontales y relación con líquidos con y sin nicotina

### C) ANÁLISIS CITOMORFOMÉTRICO

#### Mediciones citomorfométricas en muestra obtenida de borde lingual

Sobre las variables celulares, los promedios para DCL y DNL fueron de 1186.97  $\mu$  y 206.88  $\mu$  respectivamente. Para ACL, ANL y APCL fueron de 812990.9  $\mu^2$ , 22374.58  $\mu^2$  y 790616.3  $\mu^2$  respectivamente. Finalmente para la relación núcleo citoplasma (RANCL) el promedio fue de 0.029 (Tabla LVIII).

Variables	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D. Est.
DCL ( $\mu$ )	1186.97	1184.73	729.01	1893.09	42554.59	206.28
DNL ( $\mu$ )	206.88	205.25	122.25	273.21	1028.47	32.06
ACL ( $\mu^2$ )	812990.9	784531	246447.5	1593836	6380100	252592.6
ANL ( $\mu^2$ )	22374.58	21412.75	9241	42276.5	4380070	6615.47
ACPL ( $\mu^2$ )	790616.3	766560	236225.5	1564637	6230100	249658.2
RANCL	0.029	0.028	0.011	0.052	0.00008	0.0091

Tabla LVIII: Parámetros celulares y estadísticas borde lingual

En relación a los valores de las mediciones celulares según sexo, observamos que estos fueron mayores en los hombres, excepto para RANCL. Hubo diferencias estadísticamente significativas solamente para los valores de ANL ( $p=0.0367$ ) (Tabla LIX).

Sexo	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>Hombre</b>	1210,89	210,34	842027,25	23244,18	818783,07	0,03
<b>Mujer</b>	1091,30	193,04	696845,40	18896,17	677949,23	0,03

Tabla LIX: Distribución por sexo y parámetros celulares lengua

Con respecto a los valores celulares según el rango etario, observamos que el grupo de 43-50 años presentó valores mayores para DCL, ACL y ACPL y menores para DNL Y RANCL. Por otro lado, el grupo 35-42 años mostró lo contrario, mas estas diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas (Tabla LX).

Rango Etario	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>18-26 años</b>	1126,28	204,43	696709,86	21470,99	675238,88	0,033
<b>27-34 años</b>	1215,72	209,46	879352,29	23423,40	855928,90	0,029
<b>35-42 años</b>	1086,45	210,54	702715,00	22922,88	19702,25	0,034
<b>43-50 años</b>	1270,77	203,57	909827,52	21358,19	888469,33	0,025

Tabla LX: Distribución por rango etario y parámetros celulares lengua

Los valores celulares DCL, DNL, ACL, ANL y ACPL fueron mayores para el grupo que ha estado más tiempo utilizando cigarrillo electrónico (28-38 meses), a excepción del RANCL, donde el valor mayor se encontraba en el primer rango de tiempo (6 – 16 meses). Pese a que se observaron variaciones, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla LXI).

Uso Cigarrillo Electrónico	DCL ( $\mu$ )	DNL ( $\mu$ )	ACL ( $\mu^2$ )	ANL ( $\mu^2$ )	ACPL ( $\mu^2$ )	RANCL
<b>6-16 meses</b>	1157.7	205.67	768473.7	22415.42	746058.3	0.031
<b>17-27 meses</b>	1194	205.20	820757.4	21218.24	799539.1	0.028
<b>28-38 meses</b>	1339.36	219.14	1056795	25598.58	1031196	0.025

Tabla LXI: Tiempo utilizando cigarrillo electrónico y parámetros celulares lengua

En relación con los mililitros diarios consumidos, los valores de diámetro y área celular fueron mayores en aquellos que consumían 2 ml diarios, mientras que los valores de diámetro y área nuclear, junto con la relación área núcleo-

citoplasma se mostraron elevados en el grupo que consumía 15 ml. Sin embargo, no fueron diferencias estadísticamente significativas (Tabla LXII).

Variables	Mililitros Diarios Consumidos				
	2	3	4	10	15
DCL ( $\mu$ )	1270.77	1173.11	1086.44	1238	1138.17
DNL ( $\mu$ )	203.57	203.24	210.54	213.81	219.6
ACL ( $\mu^2$ )	909827.5	811111.6	702715	808912.4	743073.5
ANL ( $\mu^2$ )	21358.19	21362.07	22922.88	25793	25503.21
ACPL ( $\mu^2$ )	888469.3	789748.5	679792.1	783119.4	717570.3
RANCL	0.025	0.029	0.034	0.033	0.035

Tabla LXII: Relación de mililitros consumidos diariamente y parámetros celulares

En aquellos que consumían líquidos con nicotina, se observaron valores mayores para todas las variables celulares, con excepción de la relación área núcleo-citoplasma. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla LXIII).

Variables	Líquidos Con Nicotina	Líquidos Sin Nicotina
DCL ( $\mu$ )	1214.18	942.05
DNL ( $\mu$ )	209.54	182.96
ACL ( $\mu^2$ )	843713.6	536486
ANL ( $\mu^2$ )	22909.86	17557.04
ACPL ( $\mu^2$ )	820803.8	518929
RANCL	0.029	0.035

Tabla LXIII: Relación consumo de líquidos con y sin nicotina y parámetros celulares lengua

### **Mediciones citomorfométricas en muestra obtenida de mucosa yugal**

Con respecto a las mediciones citomorfométricas hechas en células recopiladas de la mucosa yugal en el grupo de pacientes que utilizaban cigarrillo electrónico, tenemos que las medias fueron para el DCM de 1389.93  $\mu$ , para el DNM de 216.18  $\mu$ , para el ACM de 1132295  $\mu^2$ , para el ANM de 24890.22  $\mu^2$ , para el ACPM de 1107404  $\mu^2$  y para el RANCM de 0.024 (Tabla XIV).

Variable	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Varianza	D. Est
<b>DCM (<math>\mu</math>)</b>	1389.93	1366.06	755.21	2039.27	75481	274.73
<b>DNM (<math>\mu</math>)</b>	216.18	218.28	100.95	307.57	1267.25	35.59
<b>ACM (<math>\mu^2</math>)</b>	1132295	1076804	365961	2093325	1450110	380694.3
<b>ANM (<math>\mu^2</math>)</b>	24890.22	23371.25	10316.5	53887	6380070	7987.62
<b>ACPM (<math>\mu^2</math>)</b>	1107404	1050886	351250	2076190	1430100	377568.5
<b>RANCM</b>	0.024	0.021	0.008	0.061	0.00009	0.0095

Tabla LXIV: Parámetros celulares y estadísticas mucosa yugal

Según distribución por sexo y mediciones citomorfométricas en células tomadas de la mucosa yugal, observamos que las mujeres presentaron mayores diámetros y áreas celulares que los hombres, excepto el ANM (Tabla LXV). Pese a que se mostraron diferencias, estas no fueron estadísticamente significativas.

Sexo	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>Hombre</b>	1375,88	217,02	1126853,90	24897,50	1102301,71	0,024
<b>Mujer</b>	1446,15	228,82	1154057,54	24353,61	1130840,75	0,022

Tabla LXV: Distribución por sexo y parámetros celulares mucosa yugal

Respecto a la distribución por rango etario y las mediciones citomorfométricas en células recolectadas de la mucosa yugal, encontramos que los pacientes en el cuarto rango etario (43-50 años) presentaron los mayores diámetros y áreas celulares entre los 4 grupos, con excepción del valor de RACM, donde el valor más elevado se ubicó en el rango de 27-34 años. Por su parte, el tercer rango etario (35-42 años) en términos generales mostró los menores diámetros y áreas celulares (excepto para DCM y RANCM). Aunque se apreciaron diferencias entre los rangos, estas no fueron estadísticamente significativas (Tabla LXVI).

Rango Etario	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>18-26 años</b>	1422,82	204,51	1183457,2	22983,71	1160473,44	0,022
<b>27-34 años</b>	1290,12	223,10	1062817,3	26497,79	1037010,11	0,027
<b>35-42 años</b>	1294,56	198,76	871537,6	19702,25	851835,33	0,025
<b>43-50 años</b>	1587,90	244,56	1324884,0	26621,34	1299399,52	0,020

Tabla LXVI: Distribución por rango etario y parámetros celulares mucosa yugal

Según el tiempo de uso del cigarrillo electrónico y las mediciones citomorfológicas analizadas para este grupo de estudio, tenemos que en el primer grupo (6-16 meses) los DCM, los ACM y los ACPM fueron los más elevados, con 1451.94 $\mu$ , 1194166 $\mu^2$  y 1167872 $\mu^2$  respectivamente. En el tercer grupo (28-38 meses), tanto el DNM como ANM fueron los de mayor valor dentro de los tres grupos, con 235.38 $\mu$  y 30762.21 $\mu^2$  respectivamente. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla LXVII).

Uso Cigarrillo Electrónico	DCM ( $\mu$ )	DNM ( $\mu$ )	ACM ( $\mu^2$ )	ANM ( $\mu^2$ )	ACPM ( $\mu^2$ )	RANCM
<b>6-16 meses</b>	1451.94	219.95	1194166	26294.03	1167872	0.024
<b>17-27 meses</b>	1274.02	202.25	1003098	20125.28	982972.6	0.022
<b>28-38 meses</b>	1365.57	235.38	1148659	30762.21	1117897	0.028

Tabla LXVII: Tiempo utilizando cigarrillo electrónico y parámetros celulares mucosa yugal

Con respecto a la cantidad de mililitros consumidos diariamente, observamos que los pacientes que utilizaban 10 ml mostraron valores mayores para ACM, ACPM y DCM, este último con diferencias estadísticamente significativas entre aquellos que consumían 10 ml con los que utilizaban 15 ml ( $p=0.07$ ), 3 ml ( $p=0.005$ ) y 4 ml ( $p=0.015$ ). También entre los que usaban 2 ml con los que consumían 3 ml ( $p=0.007$ ), 4 ml ( $p=0.035$ ) y 15 ml diarios ( $p=0.013$ ). El grupo de los 15 ml diarios obtuvo los diámetros y áreas nucleares más altos, mientras que los menores valores correspondieron al grupo que consumía 4 ml diarios, mas estas últimas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla LXVIII).

Variables	Mililitros Diarios Consumidos				
	2	3	4	10	15
<b>DCM (<math>\mu</math>)</b>	1587.90	1300.71	1294.56	1705.22	1220.13
<b>DNM (<math>\mu</math>)</b>	228.58	207.35	198.76	228.38	240.77
<b>ACM (<math>\mu^2</math>)</b>	1324884	1035014	871537.6	1661510	965058.8
<b>ANM (<math>\mu^2</math>)</b>	26546.69	22931.47	19702.25	28420.79	33028.46
<b>ACPM (<math>\mu^2</math>)</b>	1298337	1012082	851835.3	1633089	932030.3
<b>RANCM</b>	0.021	0.024	0.024	0.018	0.038

Tabla LXVIII: Relación mililitros consumidos diariamente y parámetros celulares de mucosa yugal

En cuanto a la presencia de nicotina en el líquido, observamos que los pacientes que utilizaban nicotina mostraron diámetros y áreas celulares más elevadas, tal como lo muestra la tabla LXIX, pero no fueron diferencias estadísticamente significativas.

Variables	Líquidos Con Nicotina	Líquidos Sin Nicotina
DCM ( $\mu$ )	1398.15	1315.95
DNM ( $\mu$ )	218.58	194.63
ACM ( $\mu^2$ )	1145092	1017120
ANM ( $\mu^2$ )	25042.55	23519.33
ACPM ( $\mu^2$ )	1120049	993600.5
RANCM	0.024	0.024

Tabla LXIX: Relación consumo de líquidos con y sin nicotina y parámetros celulares mucosa yugal

## 5. ANÁLISIS ENTRE GRUPOS

Para realizar el análisis entre grupos se aplicaron en primer lugar pruebas de distribución normal, Curtosis-Skewenes (CS) y Shapiro Francia (SF), definiendo con ello cuáles serían las variables a analizar con el test de Kruskal Wallis (no paramétricas) y One Way ANOVA (paramétricas).

Como resultado, obtuvimos que sólo las variables Índice de Placa (CS 0.64-SF 0.88), Diámetro Nuclear en Mucosa Yugal (CS 0.67- SF 0.66) y Diámetro Celular en Mucosa Yugal (CS-SF 0.08) presentaban un comportamiento paramétrico.

### Índice PESA

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0046$ ).

Se verificó entre cuales grupos existía esta diferencia significativa utilizando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, encontrándose entre el grupo de no fumadores y usuarios de cigarrillo electrónico ( $p= 0,0024$ ). La distribución de los datos se muestra en la figura 9.

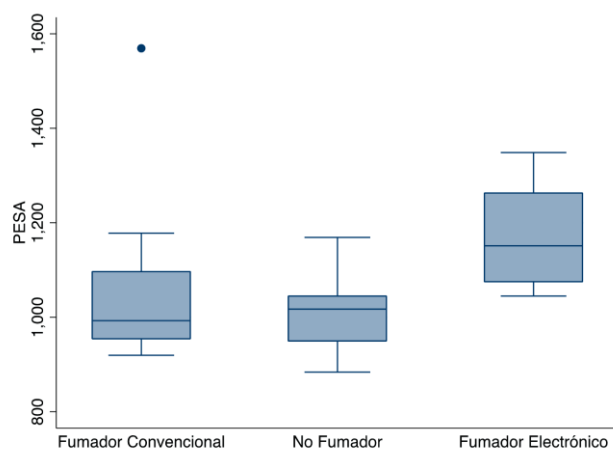


Figura 9: Distribución de los grupos en base a PESA

### Índice PISA

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0043$ ). Su distribución se muestra en la figura 10.

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, se identificó que esta diferencia era entre el grupo No fumador y usuario de Cigarrillo Electrónico ( $p=0,0021$ ).

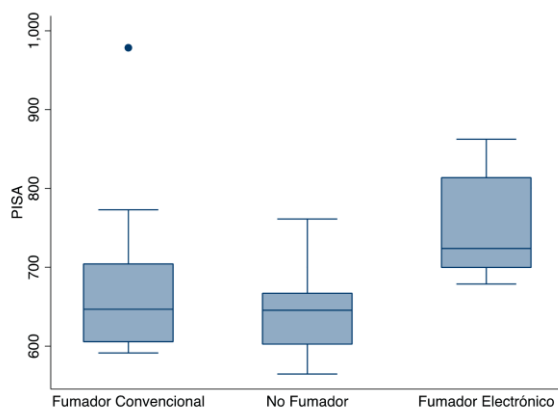


Figura 10: Distribución de grupos en relación a índice PISA

### Índice ALSA

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0013$ ).

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, se identificó que ésta diferencia existía entre el grupo Fumador de Cigarrillo Convencional y No Fumador ( $p=0.05$ ). También estuvo presente entre el grupo No Fumador y usuario de Cigarrillo Electrónico ( $p=0.0033$ ). La distribución de los datos se grafica en la figura 11.

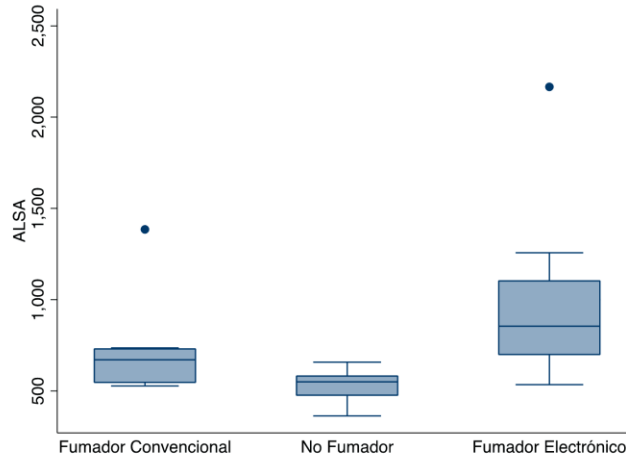


Figura 11: Distribución de grupos en relación a índice ALSA

### Índice de Placa

Los datos fueron sometidos a la prueba de One Way ANOVA, no encontrando diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,21$ ) (Figura 12).

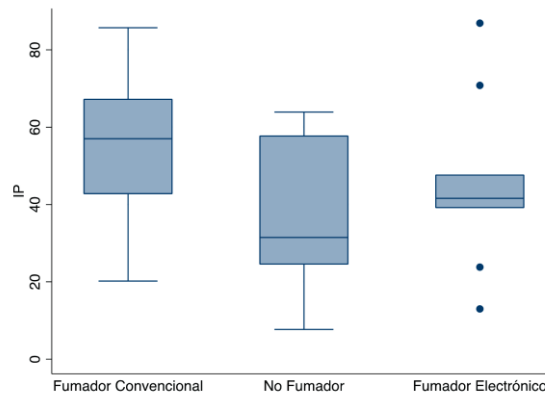


Figura 12: Distribución de grupos en relación a IP

## Índice de Sangrado

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,8699$ ). La distribución de los datos se muestra en la figura 13.

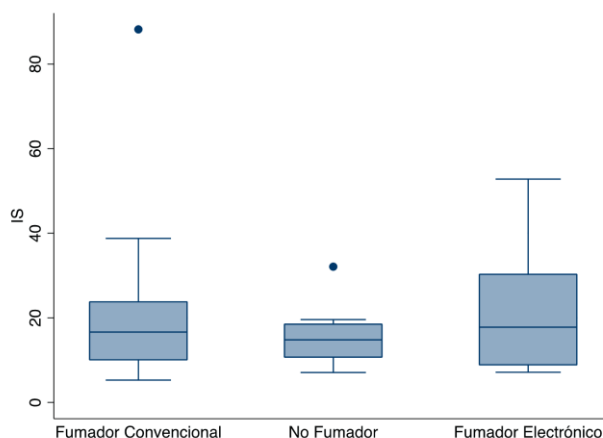


Figura 13: Distribución de grupos en relación a IS

## Número de sitios afectados

Los datos (Figura 14) fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,036$ ).

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni se identificó que esta diferencia estaba presente entre el grupo No Fumador y usuario de Cigarrillo Electrónico ( $p=0.0192$ ).

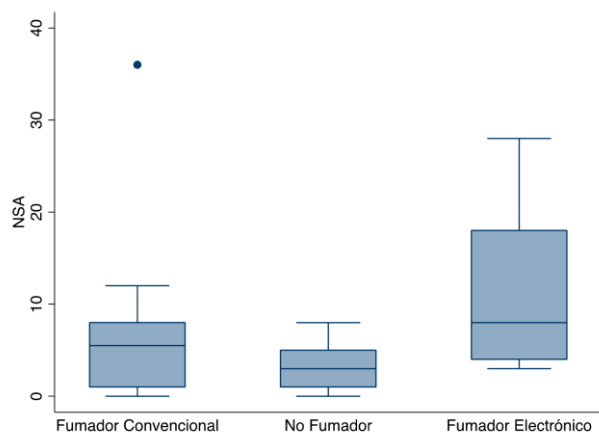


Figura 14: Distribución de grupos en relación a NSA

### Diámetro Celular en Lengua

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,8257$ ). Su distribución se grafica en la figura 15.

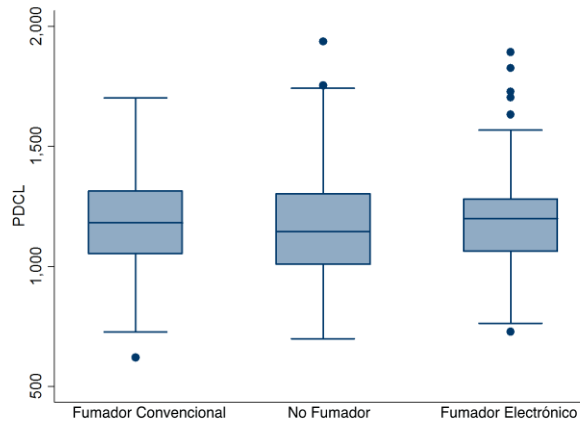


Figura 15: Distribución de grupos en relación a DCL

### Diámetro Nuclear en Lengua

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,3947$ ). Su distribución de muestra en la figura 16.

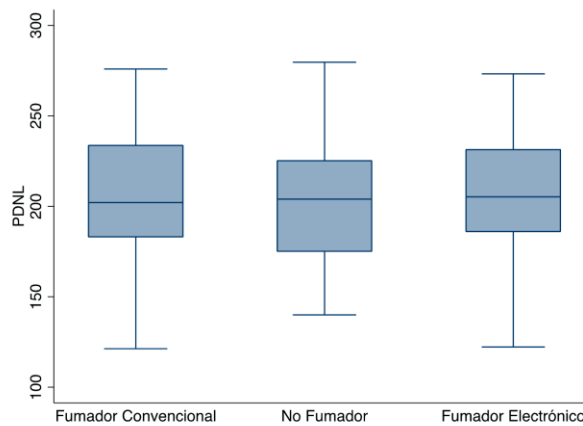


Figura 16: Distribución de grupos en relación a DNL

## Área Celular en Lengua

Los datos (Figura 17) fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,1272$ ).

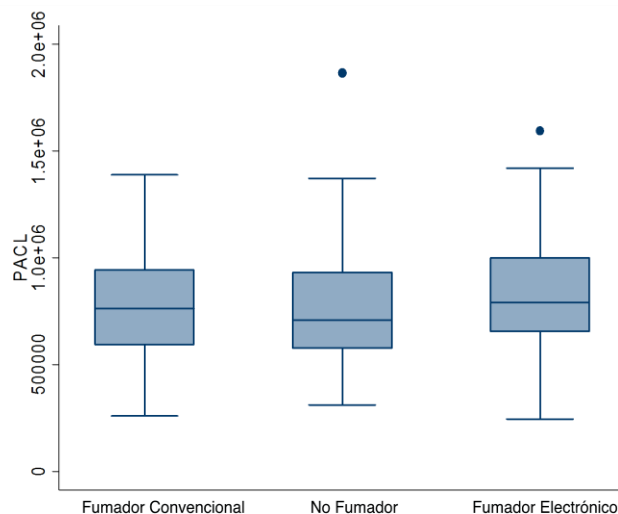


Figura 17: Distribución de grupos en relación a ACL

## Área Nuclear en Lengua

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0083$ ).

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, se identificó que esta diferencia existía entre el grupo Fumador de Cigarrillo Convencional y No Fumador ( $P=0.0081$ ). La distribución de los datos se muestra en la figura 18.

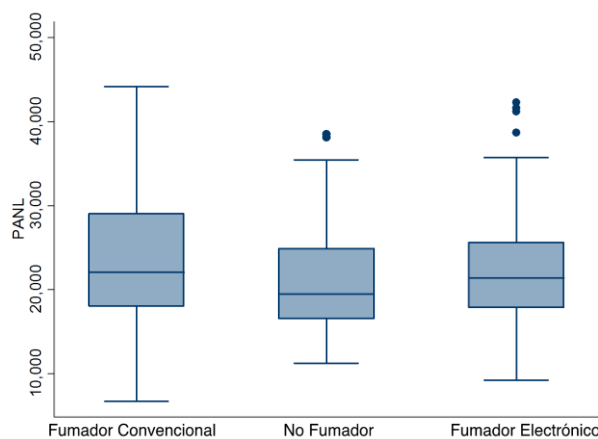


Figura 18: Distribución de grupos en relación a ANL

## Área Citoplasmática en Lengua

Los datos (Figura 19) fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,1231$ ).

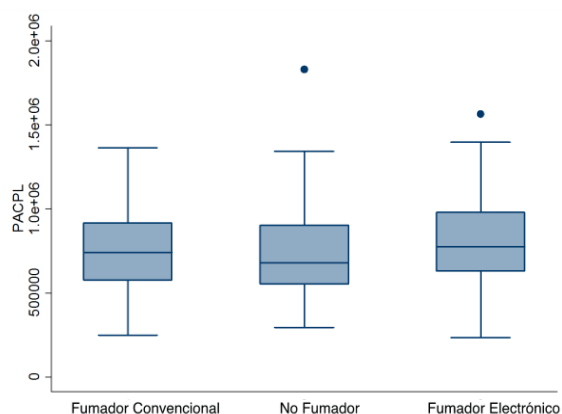


Figura 19: Distribución de grupos en relación a ACPL

## Relación Área Núcleo-Citoplasma en Lengua

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0169$ ).

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, se identificó que esta diferencia existía entre el grupo Fumadores de Cigarrillo Convencional y No Fumador ( $p=0.0354$ ). También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre No Fumadores y usuarios de Cigarrillo Electrónico ( $p=0.0384$ ). La distribución de los datos se grafica en la figura 20.

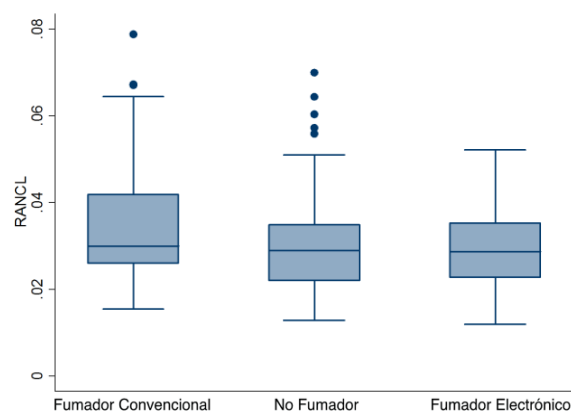


Figura 20: Distribución de grupos en relación a RANCL

### Diámetro Celular en Mucosa Yugal

Los datos (Figura 21) fueron sometidos a la prueba One Way ANOVA, ajustado con Bonferroni, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $P=0.0925$ ).

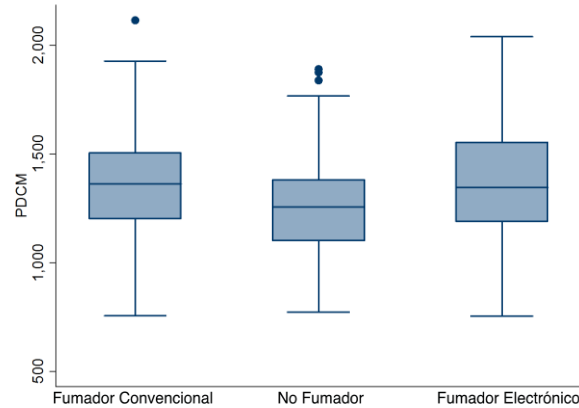


Figura 21: Distribución de grupos en relación a DCM

### Diámetro Nuclear en Mucosa Yugal

Los datos fueron sometidos a la prueba de One Way ANOVA no encontrando diferencias significativas entre los grupos ( $p=0.2867$ ). La distribución de los datos se muestra en la figura 22.

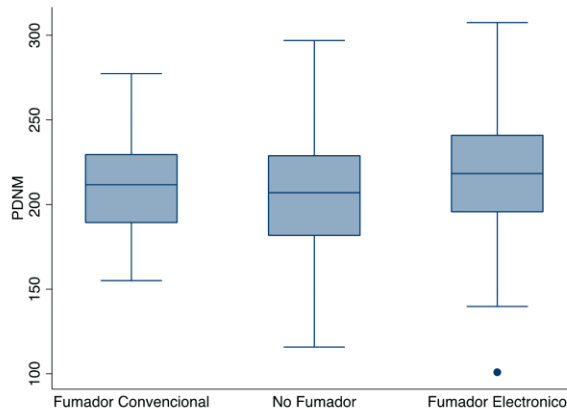


Figura 22: Distribución de grupos en relación a DNM

### Área Celular en Mucosa Yugal

Los datos (Figura 23) fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0001$ ).

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, se identificó que esta diferencia existía entre el grupo Fumador de Cigarrillo Convencional y No Fumador ( $p=0.0243$ ). También se encontró esta diferencia significativa entre No Fumador y usuario de Cigarrillo Electrónico ( $p=0.00$ ).

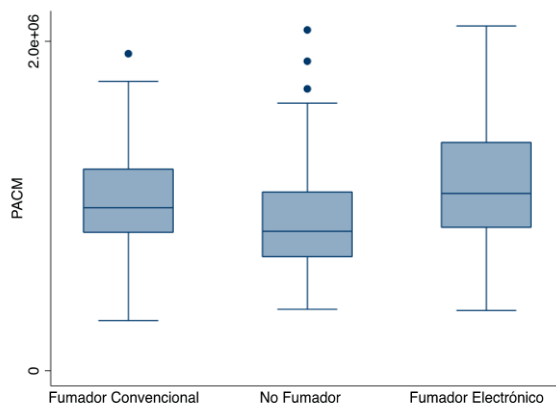


Figura 23: Distribución de grupos en relación a ACM

### Área Nuclear en Mucosa Yugal

Los datos (Figura 24) fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0773$ ).

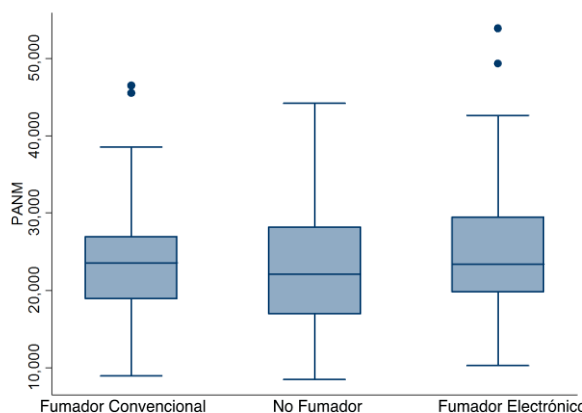


Figura 24: Distribución de grupos en relación a ANM

### Área Citoplasma en Mucosa Yugal

Los datos fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $p=0,0001$ ).

Aplicando el test de Mann-Whitney ajustado con Bonferroni, se identificó que esta diferencia se encontraba entre el grupo Fumador de Cigarrillo Convencional y No Fumador ( $p=0.0084$ ). También se observó esta diferencia significativa entre No Fumador y usuario de Cigarrillo Electrónico ( $p=0.00$ ). La distribución de los datos de grafica en la figura 25.

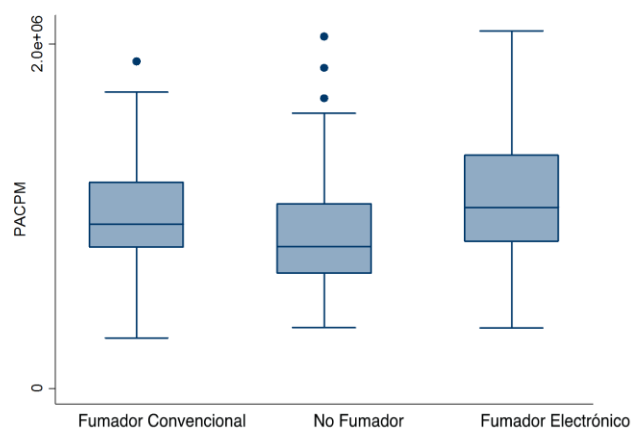


Figura 25: Distribución de grupos en relación a ACPM

### Relación Área Núcleo-Citoplasma en Mejilla

Los datos (Figura 26) fueron sometidos a la prueba de Kruskal Wallis, no encontrando diferencias significativas en la distribución de los grupos ( $0,1661$ ).

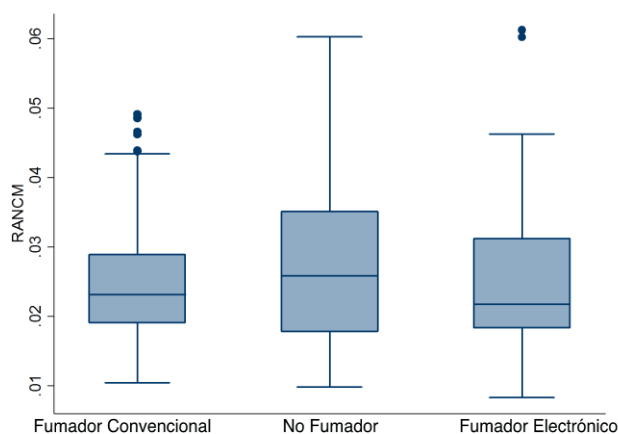


Figura 26: Distribución de grupos en relación a RANCM

## VI. DISCUSIÓN

En este estudio participaron 31 pacientes sistémicamente sanos divididos en 3 grupos: no fumadores (casos = 11), fumadores de cigarrillo convencional (casos = 10) y usuarios de cigarrillo electrónico (casos = 10). A ellos, se les evaluó el estado periodontal y se realizó un análisis citomorfométrico de células epiteliales de mucosa yugal y de lengua obtenidas mediante citología exfoliativa. De los frotis efectuados, se obtuvo un total de 755 células con sus respectivas mediciones, siendo 380 de lengua y 375 de mucosa yugal.

Con respecto al análisis de los parámetros citomorfométricos, a nivel general destaca que los grupos etarios que tuvieron mayor relación núcleo citoplasma en células epiteliales de lengua fueron los de 18-26 años y el de 35-42 años, mientras que en mejilla, los valores mayores para este parámetro fueron para los grupos 18-26 años y de 27-34 años, lo que coincide con la literatura, que indica que a mayor edad los parámetros citomorfométricos disminuyen sus valores<sup>61,63</sup>.

Comparando los parámetros celulares de los 3 grupos, evidenciamos que la mayoría de los que arrojaron diferencias estadísticamente significativas involucraban al grupo de no fumadores con el grupo de usuarios de cigarrillo electrónico. Entre los parámetros de relevancia están el área nuclear en células linguales ( $p=0.081$ ), relación área núcleo citoplasma en lengua ( $p=0.0384$ ), área celular de células de mucosa yugal ( $p=0.000$ ) y área citoplasmática en células de mejilla ( $p=0.000$ ).

El incremento del área nuclear y la disminución del área citoplasmática responden a un aumento en la actividad celular asociada a diversos procesos, como pueden ser la estimulación, replicación, reparación, así como a la degeneración, procesos premalignos y neoplasias<sup>55</sup>. La media de la RANCL de pacientes no fumadores fue de 0,029, la de usuarios de cigarrillo electrónico de 0,029, y la de pacientes fumadores de cigarrillo convencional fue de 0,033; de esto podemos deducir que los pacientes con la RANCL más alta son los pacientes fumadores de cigarrillo convencional, donde el tamaño del núcleo en relación al citoplasma está aumentado y se asocia a los procesos no beneficiosos anteriormente relatados. La RANCL elevada en pacientes fumadores de cigarrillo convencional se fundamenta con estudios que indican que aquellos tejidos expuestos al cigarrillo responden a nivel celular con un aumento del tamaño nuclear, una disminución del tamaño del citoplasma en consecuencia<sup>55,59,60,64</sup>, y un aumento en la relación del tamaño núcleo/citoplasma<sup>56,60</sup>, que se exacerba a mayor cantidad de años fumando y número de cigarrillos diarios<sup>56</sup>.

Los cambios epiteliales que sufre la mucosa bucal y el tejido gingival de individuos fumadores se describen como similares a los estadios tempranos de la displasia, donde la pérdida del patrón epitelial normal comprende la presencia de

crestas bulbosas, la pérdida de polaridad celular y el aumento de la capa parabasal. Estas características se han visualizado en un 82,14% de los fumadores según un estudio realizado por Naderi el 2015<sup>38</sup>. Sin embargo en nuestros resultados analizados no observamos ningún patrón de displasia ni de pérdida de polaridad celular en ninguno de los 3 grupos estudiados.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio, debido a la escasez de investigaciones que evalúen los efectos clínicos y citológicos del cigarrillo electrónico, no son comparables ni extrapolables, principalmente por el tamaño muestral. Además, los estudios actualmente disponibles solamente involucran dentro de su análisis la comparación de los parámetros citomorfométricos de células epiteliales de mucosa oral entre fumadores de cigarrillo convencional y no fumadores, realizados principalmente en India, por lo que nuestra población con la de estos estudios no son comparables, debido a las características raciales y socioculturales<sup>61,63,65,69</sup>.

Sobre el análisis del estado periodontal, los usuarios de cigarrillo electrónico presentaron un promedio en el índice de sangrado de 21.16%, mientras que en los fumadores de cigarrillo convencional fue de 23.58% y en los no fumadores de 15.17%. Con estos resultados vemos que el grupo de no fumadores presentó el menor índice de sangrado de la muestra, lo que se contradice con la literatura, ya que ésta indica que la exposición a la nicotina en los fumadores conduce a una menor vascularización y disminución del diámetro y densidad de los capilares sanguíneos<sup>39,40</sup>, a través de la estimulación de la producción de adrenalina y noradrenalina, generando vasoconstricción, lo que trae como consecuencia la disminución del sangrado y de la producción de exudado<sup>30</sup>.

Los usuarios de cigarrillo electrónico presentaron una media en el índice PISA de 746,36 mm<sup>2</sup>, mientras que los fumadores de cigarrillo convencional para el mismo parámetro tuvieron una media de 683,33 mm<sup>2</sup>, y los no fumadores de 646,14mm<sup>2</sup>, con diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de no fumadores y de usuarios de cigarrillo electrónico (p=0.0021), mostrando con ello que los pacientes que utilizan estos dispositivos presentan mayor inflamación de los tejidos periodontales. Estos resultados pueden justificarse con el estudio Vicky Yu y cols., donde se analizó el impacto del vapor emitido por los cigarrillos electrónicos sobre células epiteliales, evidenciando un aumento de la respuesta inflamatoria posterior a la exposición, tanto en modelos humanos como en ratones. Además, documentan la presencia de especies reactivas del oxígeno (ROS) relacionadas con ruptura de ADN y daño oxidativo, cuya acumulación podría volver susceptibles estas células a presentar potencial carcinogénico<sup>32</sup>.

Comparando los resultados obtenidos en el análisis periodontal, se observó que existe una mayor afección de los tejidos periodontales en aquellos que utilizan cigarrillo electrónico. Sin embargo, se debe considerar la experiencia previa de fumadores de cigarrillo convencional que presentaba la gran mayoría de los

pacientes examinados en este grupo, por lo que el nivel de daño evidenciado puede estar en relación tanto a la exposición previa a las sustancias citotóxicas del cigarrillo convencional como a la actual, por el contacto de los tejidos periodontales con los vapores emitidos por el cigarrillo electrónico. Lo anterior, se sostiene con la evidencia disponible, que indica que existe una disminución de la actividad metabólica de fibroblastos gingivales y un aumento del estrés oxidativo<sup>3</sup>, lo que conllevaría al daño periodontal. Aunque, según la misma literatura, sería de igual modo posible que el cambio de cigarrillo convencional a electrónico pueda favorecer en parte a la disminución de los efectos nocivos provocados por el uso del primero, ya que se ha demostrado que el vapor emitido por estos dispositivos tiene menor potencial citotóxico<sup>5</sup>, pero la evidencia sigue siendo escasa al respecto.

Nuestro estudio indica que efectivamente existen diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros periodontales y citomorfométricos entre el grupo de los no fumadores y el grupo de usuarios de cigarrillo electrónico, mas no se aprecian mayores diferencias de este último grupo con los fumadores de cigarrillo convencional. De esto podríamos deducir que ambos grupos, tanto el de fumadores de cigarrillo convencional como usuarios de cigarrillo electrónico presentarían similitudes en los parámetros periodontales y citomorfométricos.

Además, coincidimos con la literatura en el hecho de que la evidencia disponible actualmente no es suficiente para declarar a los dispositivos como totalmente seguros para la salud, sin embargo, podrían presentar efectos adversos menos intensos en comparación al cigarrillo convencional<sup>3,5,22,28</sup>. Son necesarios más estudios tanto in vitro como clínicos en humanos para conocer su comportamiento y determinar cómo comprometen tanto sistémicamente como localmente, a nivel bucal, la salud de las personas.

Con respecto a las limitaciones del estudio, estas estuvieron en base al rango de error de la técnica citológica y a la dificultad de determinar realmente, en el grupo de pacientes que fuman cigarrillo convencional, la cantidad de cigarrillos diarios fumados y el tiempo que los pacientes mantenían este hábito. En el grupo de usuarios de cigarrillo electrónico, la dificultad estuvo en determinar la cantidad de mililitros diarios consumidos, ya que este no depende solamente del número de aspiraciones, sino también del modelo del dispositivo, según la capacidad del contenedor y lo que se vaporiza con cada uso.

Por otra parte, se debe aclarar que el tamaño de la muestra fue bastante pequeño debido a todas las exclusiones que se realizaron. Además, fue difícil encontrar a usuarios exclusivos de cigarrillo electrónico, pues la mayoría de las personas que utilizan estos dispositivos son fumadores mixtos, es decir, utilizan tanto cigarrillo electrónico como cigarrillo convencional, y por otro lado, es algo relativamente nuevo en Chile, por lo que el universo de personas que los utilizan

es acotado. Al existir un menor tamaño muestral los resultados se ven enormemente afectados, debido a que a pesar de que se identificaron diferencias importantes entre los grupos, estos no fueron estadísticamente significativos, principalmente por el bajo número de pacientes contenidos en cada grupo.

Otra de las limitaciones que se presentaron, fue la poca variabilidad en cuanto a la edad de los participantes: la mayoría de las personas examinadas se encontraban en los rangos etarios de 18-26 y 27-34 años y sólo en el grupo de los usuarios de cigarrillo electrónico hubo personas sobre los 35 años.

Resumiendo lo anterior, podemos decir que los tres grupos analizados en este estudio no fueron homogéneos, donde la distribución por sexo, edad y cantidad de pacientes en cada grupo no permitió crear conjuntos completamente comparables uno con otro.

## VII. CONCLUSIONES

El análisis citomorfométrico realizado en células epiteliales de borde lateral de lengua en los 3 grupos mostró variaciones en el diámetro celular, área celular y área citoplasmática para los usuarios de cigarrillo electrónico. Las diferencias entre estos valores y los obtenidos en los fumadores de cigarrillo convencional son escasas, siendo las del primero levemente superiores. Mientras, entre los usuarios de estos dispositivos y los no fumadores, sólo hubo diferencias significativas para la relación núcleo citoplasma.

Para las células epiteliales de mucosa yugal, las mediciones indican que existen cambios en los parámetros de diámetro nuclear, diámetro celular, área celular, área nuclear y citoplasmática en el grupo de usuarios de cigarrillo electrónico, siendo sus valores muy similares a los obtenidos por los fumadores de cigarrillo convencional y sólo existe diferencia significativa para la relación núcleo-citoplasma entre aquellos que utilizan estos dispositivos y los no fumadores.

El estado periodontal de los usuarios de cigarrillo electrónico mostró ser similar al de los fumadores, sugiriendo, por una parte, que estos dispositivos lograrían generar un deterioro en la salud periodontal, y por otro lado, que podrían ser perpetuadores de un estado periodontal desfavorable preestablecido por el hábito tabáquico previo. Aunque la literatura actual evidencia la posibilidad de que los cigarrillos electrónicos sean menos perjudiciales, más estudios son requeridos para definir si el cigarrillo electrónico es efectivamente menos nocivo para los tejidos periodontales.

Con respecto al estado periodontal de los usuarios de cigarrillo electrónico comparado con el grupo de no fumadores, se observó que este último presentó valores menores para todas las variables periodontales estudiadas (IP, IS, PESA, PISA, ALSA, NSA), con lo que se determina que el uso de cigarrillo electrónico sí podría tener el potencial para generar alteraciones periodontales versus aquellos individuos que no utilizan estos dispositivos ni fuman cigarrillo.

## **VIII. SUGERENCIAS**

Para asegurar el nivel de significancia de los resultados, es sumamente necesario aumentar el tamaño muestral, y conjuntamente con esto, que haya mayor variabilidad entre los sujetos, de esta forma se obtendrán resultados de mayor peso y que se puedan extrapolar a la población general. Además, se podría realizar la selección de la muestra de manera aleatoria, favoreciendo lo mencionado anteriormente.

Junto con aumentar la muestra, es necesario que exista una mayor variabilidad en cuanto a la edad en todos los grupos a examinar, además de que los grupos sean más homogéneos en cuanto a sexo. Ambas acciones asegurarían una mayor variabilidad y la obtención de resultados con mayor significancia.

En un futuro estudio sería ideal, antes de incluir a los sujetos en él, poder realizarles, de acuerdo a la necesidad de cada uno, tratamiento periodontal; ya sea instrucción de higiene, desbridaje supra y/o subgingival, con la finalidad de aislar el factor higiene dental para poder evidenciar de mejor manera los efectos esperados producidos tanto por el cigarrillo electrónico como por el cigarrillo convencional.

## IX. RESUMEN

### DESCRIPCIÓN EFECTOS DEL CIGARRILLO ELECTRÓNICO SOBRE PERIODONTO Y CÉLULAS EPITELIALES, COMPARADO CON FUMADORES Y NO-FUMADORES

**INTRODUCCIÓN:** Los cigarrillos electrónicos (EC) son dispositivos popularizados por ofrecer sensación similar a fumar sin algunos compuestos nocivos del tabaco. Sus efectos sobre tejidos orales sólo se han analizado *in vitro* y no existen estudios clínicos.

**OBJETIVO:** Describir características de células epiteliales y estado periodontal en usuarios de EC, comparado con fumadores y no-fumadores.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** A 31 sujetos sanos [10 fumadores (F), 11 no-fumadores (NF), 10 usuarios de cigarrillo electrónico (UCE)] se les evaluó su estado periodontal usando PISA, PESA, ALSA, índice de placa (IP), sangrado gingival (SG) y sitios con pérdida de inserción >4mm (NSA). Se colectaron células epiteliales de borde lingual y mucosa yugal con *citobrush*, teñidas con Papanicolau y medidas usando *software* Micrometrics SE Premium 4, evaluando diámetro celular (DC) y nuclear (DN), área celular (AC), nuclear (AN) y citoplasmática (ACP) y relación área núcleo-citoplasma (RANC). Los datos fueron analizados usando One Way ANOVA, Kruskal Wallis y Mann-Whitney, con significancia  $p < 0.05$ , en STATA 12.

**RESULTADOS:** Los UCE mostraron diferencias significativas con NF para PESA ( $p=0.0044$ ), PISA ( $p=0.0021$ ), ALSA ( $p=0.0033$ ) y NSA ( $p=0.0192$ ). Las mediciones de células linguales ( $n=380$ ) mostraron DC, AC y ACP mayores para UCE, pero sólo significativo con NF para RANC ( $p=0.0384$ ). En mucosa yugal ( $n=375$ ) todos los valores fueron mayores para ECU, menos RANC, siendo significativo para AC ( $p=0.00$ ) y ACP ( $p=0.00$ ) con NF.

**DISCUSIÓN:** La alteración de parámetros celulares implica procesos de degeneración y reparación, por estrés oxidativo y ruptura de ADN. La mayor afección del periodonto en UCE puede asociarse a menor actividad metabólica y estrés oxidativo en fibroblastos gingivales, sin embargo, debe considerarse el daño acumulado previamente por el hábito tabáquico.

**CONCLUSIÓN:** el uso de EC parece estar asociado a alteraciones del estado periodontal y citomorfométrico, sugiriendo que no son completamente seguros para la salud bucal. Sin embargo, más estudios son necesarios para determinar efectos sobre tejidos orales.

## X. REFERENCIAS

1. Shafey O, Eriksen M, Ross H, Mackay J. Capítulos 22 y 32. In: Levin B, ed. *Atlas Del Tabaco*. 3°. ; 2009:70-90.
2. Subsecretaria de Salud Pública M. *Ley Núm. 20.660 Modifica Ley N° 19.419, En Materia de Ambientes Libres de Humo de Tabaco*. Chile; 2013:3.
3. Sancilio S, Gallorini M, Cataldi A, di Giacomo V. Cytotoxicity and apoptosis induction by e-cigarette fluids in human gingival fibroblasts. *Clin Oral Investig*. 2016;20(3):477-483.
4. OMS. Sistemas electrónicos de administración de nicotina Informe de la OMS. Conferencia de las Partes en el Convenio Marco de la OMS para el Control del Tabaco. [http://www.who.int/tobacco/communications/statements/electronic\\_cigarettes/es/](http://www.who.int/tobacco/communications/statements/electronic_cigarettes/es/). Published 2014. Accessed November 24, 2015.
5. Willershausen I, Wolf T, Weyer V, Sader R, Ghanaati S, Willershausen B. Influence of E-smoking liquids on human periodontal ligament fibroblasts. *Head Face Med*. 2014;10(1):39.
6. Zacarías MA. Tabaquismo en Chile, un problema país, el contrabando y la tributación de ilícitos. 2014.
7. MINSAL. Encuesta Nacional de Salud ENS Chile 2009-2010. *Gob Chile*. 2010;1(1):1-13.
8. Johnson G, Guthmiller J. The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol 2000*. 2007;44:178-194.
9. Nociti FH, Casati MZ, Duarte PM. Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015;67(1):187-210.
10. Raja M. Diagnostic Methods for Detection of Cotinine Level in Tobacco Users: A Review. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(3):4-6.
11. Revisi CDE. Tabaquismo y cáncer bucal : una revisión teórica. *Rev Med UV*. 2010;10(1):30-37.
12. Álvarez M. Comportamiento clínico del carcinoma escamocelular bucal en la Unidad de Cirugía Maxilofacial y Estomatología del Hospital Universitario San Vicente de Paúl (HUSVP.), Medellín, entre enero de 1990 y diciembre de 1996. *Rev Fac Odontol Univ Antioquia*. 2009;16(1 y 2):26-32.

13. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 2009;45(4-5):309-316.
14. Riera S P, Martínez R B. Morbilidad y mortalidad por cáncer oral y faríngeo en Chile. *Rev Med Chil.* 2005;133(5):555-563.
15. Abdelaziz MS, Osman TE. Detection of cytomorphological changes in oral mucosa among alcoholics and cigarette smokers. *Oman Med J.* 2011;26(5):349-352.
16. PAHO, CHILE. Sobre el cancer de la cavidad oral o bucal. Previene el Cancer Oral. Internet. Published 2012.
17. Novak J, Novak K, Preshaw PM. Smoking and Periodontal Disease. In: *Carranza's Clinical Periodontology*. 11th ed. Elsevier; 2012:294-301.
18. Nasry H a, Preshaw PM, Stacey F, Heasman L, Swan M, Heasman P a. Smoking cessation advice for patients with chronic periodontitis. *Br Dent J.* 2006;200:272-275; discussion 265. doi:10.1038/sj.bdj.4813307.
19. Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 2004;31(4):267-272. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00476.x.
20. Fiorini T, Muszkopf ML, Oppermann RV, Susin C. Is there a positive effect of smoking cessation on periodontal health? A systematic review. *J Periodontol.* 2014;85(1):83-91.
21. Fromme H, Schober W. Waterpipes and e-cigarettes : Impact of alternative smoking techniques on indoor air quality and health. *Atmos Environ.* 2015;106:429-441.
22. Caponnetto P, Campagna D, Papale G, Russo C, Polosa R. The emerging phenomenon of electronic cigarettes. *Expert Rev Respir Med.* 2012;6(1):63-74.
23. McRobbie H, Bullen C, Hajek P. Electronic cigarettes for smoking cessation and reduction ( Review ). *Cochrane Libr.* 2014;(12):06-20.
24. ¿Para que sirven las baterías con voltaje variable? -Cigarrillos Electrónicos. [www.Cigarrilloselectronicos.com](http://www.Cigarrilloselectronicos.com). Published 2014. Accessed November 29, 2015.
25. MINSAL. Determinación régimen de control a aplicar a los productos denominados genéricamente cigarrillos electrónicos, sus componentes y cualquier otro dispositivo similar que sea formulado sobre la base del principio activo nicotina. <http://bcn.cl/1xnr6>. Published 2010. Accessed

November 15, 2015.

26. Hee Y, Gawron M, Lukasz M. Changes in puffing behavior among smokers who switched from tobacco to electronic cigarettes. *Addict Behav.* 2015;48:1-4.
27. Farsalinos K, Romagna G, Tsiapras D, Kyrzopoulos S, Voudris V. Characteristics, Perceived Side Effects and Benefits of Electronic Cigarette Use: A Worldwide Survey of More than 19,000 Consumers. *Int J Environ Res Public Health.* 2014;11(4):4356-4373.
28. Gualano MR, Passi S, Bert F, La Torre G, Scaioli G, Siliquini R. Electronic cigarettes: assessing the efficacy and the adverse effects through a systematic review of published studies. *J Public Health (Oxf).* 2014;37(3):1-10.
29. Schaller K, Ruppert L, Kahnet S, Bethke C, Nair U, Pötscheke-Langer M. Electronic Cigarettes- An Overview. *Red Ser Tob Prev Tob Control.* 2013;19:03-11.
30. Reuther WJ, Hale B, Matharu J, Blythe JN, Brennan PA. Do you mind if i vape? Immediate effects of electronic cigarettes on perfusion in buccal mucosal tissue - A pilot study. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2016;54(3):338-341.
31. Romagna G, Alliffranchini E, Bocchietto E, Todeschi S, Esposito M, Farsalinos KE. Cytotoxicity evaluation of electronic cigarette vapor extract on cultured mammalian fibroblasts (ClearStream-LIFE): comparison with tobacco cigarette smoke extract. *Inhal Toxicol.* 2013;25(6):354-361.
32. Yu V, Rahimy M, Korrapati A, et al. Electronic cigarettes induce DNA strand breaks and cell death independently of nicotine in cell lines. *Oral Oncol.* 2016;52:58-65.
33. Shetty P. Oral Mucosa Membrane. In: *Orban's Oral Histology and Embryology.* ; 2011:244-270.
34. Ferraris MEG de, Campos Muñoz A. Cavidad Bucal. In: *Histología Y Embriología Bucodental.* ; 2002:114-130.
35. Eisenberg E, Natarajan E, Formaker BK. Oral Mucosa and Mucosal Sensation. In: *Fundamentals of Oral Histology and Physiology.* 1st ed. Wiley; 2014:169-179.
36. Nanci A. Oral Mucosa. In: *Ten Cate's Oral Histology.* Vol 53. 8th ed. Elsevier; 2013:282-305.

37. Flete Estrada A, Cáribas A, Payares G, Villarroel-Dorrego M. Cambios histopatológicos de la mucosa bucal de ratas expuestas al humo de cigarrillos. *Av Odontoestomatol.* 2014;30(4):219-225.
38. Naderi N, Semyari H, Elahinia Z. The Impact of Smoking on Gingiva: a Histopatological Study. *Iran J Pathol.* 2015;10(3):214-220.
39. Maryam S, Bijani A, Faraji R. A histopathological study of smoking on free gingiva in patients with moderate to severe periodontitis. *Casp J Dent Researsh.* 2013;2(1):39-45.
40. Pejdic A, Zivkovic V, Bajagic V, Mirkovic D. Histological changes of gingival epithelium in smokers and non-smokers. *Open Med.* 2012;7(6):756-760.
41. Romero A, CÃ¡ceres M, Arancibia R, et al. Cigarette smoke condensate inhibits collagen gel contraction and prostaglandin E2 production in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2015;50(3):371-379.
42. Rahman BU, Rahman MM, Arslan A. The effects of cigarette smoking on human gingival tissues (a histopathological study). *J Pak Med Assoc.* 1994;44(9):210-212.
43. Lindeboom J a., Mathura KR, Harkisoen S, Van Den Akker HP, Ince C. Effect of smoking on the gingival capillary density: Assessment of gingival capillary density with orthogonal polarization spectral imaging. *J Clin Periodontol.* 2005;32:1208-1212.
44. Bansal H, Sandhu Vs, Bhandari R, Sharma D. Evaluation of micronuclei in tobacco users: A study in Punjabi population. *Contemp Clin Dent.* 2012;3(2):184-187.
45. Kumar A, Kumar A, Ritu R, Parveen S, Akhtar MJ. Clinopathological and Cytological Changes in Oral Mucosa of Patients Having Tobacco Smoking Habbit. *J Evol Med Dent Sci.* 2014;3(66):14250-14256.
46. Pérez M, Reboiras M, García A. Utilización de la citología exfoliativa como método diagnóstico del cáncer y precáncer oral. In: *Tendencias Actuales En El Cáncer Oral.* Universidad de Santiago de Compostela; 2011:81.
47. Freitas MD. Aplicaciones de la citología exfoliativa en el diagnóstico del cáncer oral. *Med Oral.* 2004;9(4):355-361.
48. Verma R, Singh A, Verma R. Evaluation of exfoliative cytology in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions : A cytomorphometric analysis. *Dent Res J (Isfahan).* 2015;12(1):1-7.
49. Srivastava G. Biopsy. In: *Essentials of Oral Medicine.* 1st ed. Jaypee

Brothers Publishers; 2008:11-13.

50. Kaur M, Rao Siddartha N. Usefulness of Oral Exfoliative Cytology in Dental Practice. *J Oral Heal Community Dent.* 2013;77(33):161-165.
51. Kazanowska K, Hałoń A, Radwan-Oczko M. The Role and Application of Exfoliative Cytology in the Diagnosis of Oral Mucosa Pathology – Contemporary Knowledge with Review of the Literature. *Adv Clin Exp Med.* 2014;23(2):299-305.
52. Dueñas O. Historia george papanicolau y de la tinción de papanicolau. *Rev Inst Méd “Sucre.”* 2006;71(127):99-101.
53. Salas I, Prado R, Muñoz R. Procesamiento de Muestras. In: *Manual de Procedimientos de Laboratorio de Citología.* PAHO; 2002:41-49.
54. Zamorano C, Sepúlveda J. Procesamiento de los frotis de Papanicolaou en el Laboratorio de Citopatología. *Col Tecnólogos Médicos Chile.* 2011:1-6.
55. Seifi S, Feizi F, Mehdizadeh M, Khafri S, Ahmadi B. Evaluation of cytological alterations of oral mucosa in smokers and waterpipe users. *Cell J.* 2014;15(4):302-309.
56. Singh M, Sircar K, Tandon A, Chowdhry A, Popli DB. The role of tobacco as an etiological agent for oral cancer: Cytomorphometrical analysis of the buccal mucosa in tobacco users. *Dent Res J (Isfahan).* 2014;11(6):649-655.
57. Mehrotra R. The Role of Cytology in Oral Lesions. *Diagn Cytopathol.* 2011;40(1):73-83.
58. Kumaresan GD, Jagannathan N. Exfoliative Cytology - A Predictive Diagnostic Tool. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014;6(5):9-11.
59. Göregen M, Akgül HM, Gündoğdu C. The cytomorphological analysis of buccal mucosa cells in smokers. *Turk J med Sci.* 2011;41(2):205-210.
60. Babuta S, Garg R, Mogra K, Dagal N. Cytomorphometrical analysis of exfoliated buccal mucosal cells: Effect of smoking. *Acta Medica Int.* 2014;1(1):22-27.
61. Patel PV, Kumar S, Kumar V, Vidya G. Quantitative cytomorphometric analysis of exfoliated normal gingival cells. *J Cytol.* 2011;28(2):66-72.
62. Cowpe JG, Longmore RB, Green MW. Quantitative exfoliative cytology of normal oral squames: an age, site and sex-related survey. *J R Soc Med.* 1985;78(12):995-1004.

63. Anuradha A, Sivapathasundharam B. Image analysis of normal exfoliated gingival cells. *Indian JDentRes*. 2007;18(0970-9290):63-66.
64. Einstein T, Sivapathasundharam B. Cytomorphometric analysis of the buccal mucosa of tobacco users. *Indian J Dent Res*. 2005;16(2):42-46.
65. Khot K, Deshmane S, Bagri-Manjarekar K, Warke D, Kotak K. A cytomorphometric analysis of oral mucosal changes in tobacco users. *J Nat Sci Biol Med*. 2015;6(3):22-24.
66. Ministerio de Salud. *Reglamento Sobre Manejo de Residuos En Establecimientos de Atencion de Salud (REAS)*. Chile: Internet; 2009:3-5. <http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/REAS.pdf>. Accessed November 30, 2015.
67. CONICYT. *Manual de Normas de Bioseguridad*. Chile: Internet; 2008:90-96. <http://www.conicyt.cl/fondecyt/2012/09/10/manual-de-normas-de-bioseguridad-2008/>. Accessed November 30, 2015.
68. Maria TM, Jercic I. Guia de Bioseguridad para Laboratorios Clinicos. In: *Departamento Laboratorio Biomédico Nacional Y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile*. Chile: Internet; 2013:17-23. [http://www.ispch.cl/sites/default/files/Manual\\_Bioseguridad\\_ISPCH.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/Manual_Bioseguridad_ISPCH.pdf). Accessed November 30, 2015.
69. Nivia M, Sunil S, Rathy R, Anilkumar T. Comparative cytomorphometric analysis of oral mucosal cells in normal, tobacco users, oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *J Cytol*. 2015;32(4):253-260.

## **XI. ANEXOS**

### **ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Investigador Principal: Dr. Jaime Segovia

Este consentimiento informado está dirigido a los pacientes, hombres y mujeres entre los 18 a 40 años, fumadores y ex fumadores de cigarrillo convencional y fumadores actuales de cigarrillo electrónico, de la V región, atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso, los cuales han sido invitados a participar en la investigación “Efecto del Cigarrillo Electrónico en la Mucosa Bucal y Tejidos Periodontales”.

El objetivo de nuestra investigación es determinar si el cigarrillo electrónico es menos dañino para los tejidos bucales que el cigarrillo convencional.

En esta investigación se hará un examen periodontal (a las encías) y se tomará una muestra de su mucosa con un cepillo para citología, raspando suavemente la cara interna de su mejilla. Este procedimiento no produce ningún dolor ni daño en los tejidos, tampoco deja cicatriz.

Los pacientes que participarán en este estudio se escogieron mediante una encuesta a disposición en internet. Se escogieron pacientes que fueran fumadores o ex fumadores de cigarrillo convencional, y pacientes que fueran fumadores de cigarrillo electrónico.

La participación de cada paciente es voluntaria. El paciente escoge si participar en la investigación o no hacerlo.

El tiempo considerado para esta investigación es de una sesión clínica.

Esta investigación no conlleva ningún riesgo para el paciente, y como beneficios el paciente podrá conocer su diagnóstico periodontal (en qué condición se encuentran sus encías y la necesidad de tratamiento de éstas), si presenta alguna lesión en la mucosa que requiera de tratamiento y la posibilidad de ser atendido en las diferentes cátedras de la Escuela de Odontología, para resolver otras necesidades relacionadas con su salud bucal.

Cada paciente por participar en nuestra investigación, recibirá como compensación una profilaxis y destartraje (limpieza dental y a las encías) gratis.

El proceso de la investigación será estrictamente confidencial, su nombre no aparecerá en ningún informe cuando la investigación sea publicada.

Los resultados que encontremos sobre la salud de la mucosa de los pacientes serán compartidos con el paciente en cuestión. Los resultados generales de todos los pacientes participantes de esta investigación serán compartidos con las personas interesadas en el tema para aportar con conocimiento desconocido hasta el momento sobre este tema.

En el caso de detectarse una necesidad de tratamiento urgente (amplia destrucción periodontal y/o dentaria, infecciones agudas u otros) o atención especializada en Patología, los pacientes serán derivados a los servicios correspondientes de la Escuela.

**He leído la información proporcionada. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante.**

**Nombre del Participante** \_\_\_\_\_

**Firma del Participante** \_\_\_\_\_

**Fecha** \_\_\_\_\_ **Día/mes/año**

## **ANEXO 2: PROTOCOLO DE TINCIÓN PAPANICOLAOU, MODIFICADA POR DR. WILFREDO GONZÁLEZ Y MONTAJE DE PORTAOBJETOS**

Se realizó el montaje de la batería completa, que contiene 14 pasos (1) por los cuales deben pasar cada una de las muestras para ser teñidas. Para ello se utilizaron diferentes recipientes, algunos plásticos y otros de vidrio, en los cuales se depositaron las tinciones y alcoholes que se usaron para la tinción; todos ellos ordenados con número y uno al lado del otro para que las muestras pasaran por cada uno de los pasos de forma secuencial. Los portaobjetos fueron transportados de un líquido a otro en un carro para portaobjetos, en el cual se pudieron transportar más de 10 muestras a la vez. El tiempo de inmersión fue medido por cronómetro.

Se comenzó por el proceso de *hidratación de las muestras*. Los portaobjetos fueron sumergidos primero por 10 minutos en Alcohol al 95% (2), luego 15 segundos en Alcohol al 70% (3), después otros 15 segundos en Alcohol al 50%(4) y finalmente 15 segundos en Agua destilada (5). Finalizada esta etapa se procede a realizar la inmersión de las muestras en la primera tinción, la Hematoxilina de Harris (6), en la cual fueron dejadas por 6 minutos. Completados los 6 minutos se tomaron las muestras y se realizaron 10 inmersiones en agua de la llave corriendo (7). A continuación, se procede a realizar el proceso de *deshidratación de las muestras*, por lo que el carro fue sumergido con los portaobjetos 15 segundos en Alcohol al 50%(8), luego 15 segundos en Alcohol al 70%(9) y para finalizar la deshidratación se sumergió 15 segundos en Alcohol al 95%(10). Terminado este proceso, las muestras fueron inmersas en la segunda tinción utilizada para PAP, el Orange G (11), por 2 minutos. Seguido de esto, el carro fue sumergido por 15 segundos en Alcohol al 95%(12) para luego ser llevado a la última tinción utilizada en PAP, EA 50 (13). En esta las muestras fueron sumergidas por 3 minutos. Terminada la tinción con EA 50, las muestras se sumergieron 15 segundos en Alcohol al 95% (14) y para finalizar todo el proceso de tinción, se realizaron 10 inmersiones en Xilol (15) y se dejaron secar sobre toalla nova (16).



1. Montaje de la Batería



2. Alcohol 95 %



3. Alcohol 70%



4. Alcohol 50%



5. Agua Destilada



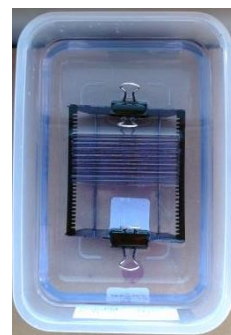
6. Hematoxilina de Harris



7. Inmersión en agua



8. Alcohol 50%



9. Alcohol 70%



10. Alcohol 95%



11. Orange G



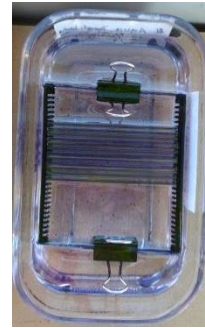
12. Alcohol al 95%



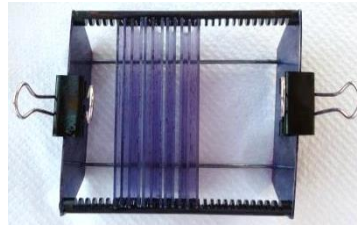
13. EA 50



14. Alcohol al 95%

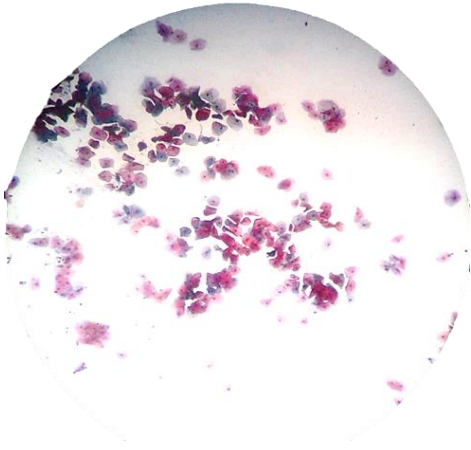


17. Xilol

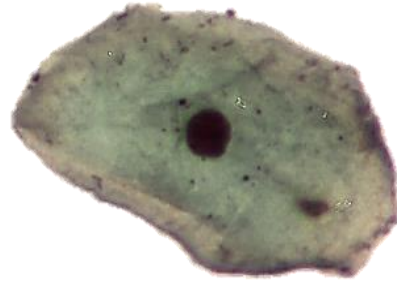


16. Secado de Muestras

## Resultados proceso de tinción



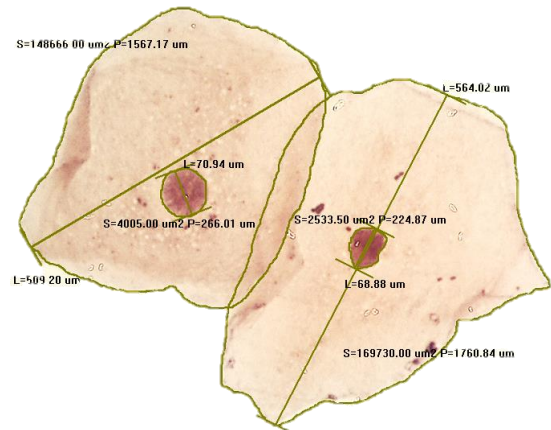
Frotis de células epiteliales de borde lateral de lengua, aumento 4x.



Célula teñida con EA 50, aumento 40x



Células teñidas fuertemente con Hematoxilina (izquierda) y Orange G (derecha). Aumento 40x.



Resultado del proceso de medición de diámetros y áreas celulares y nucleares, a través del programa Micrometrics SE Premium 4.

## Protocolo de montaje de las muestras

Como primera acción, se sumergió el portaobjeto ya teñido en Xilol (1). A continuación, se retiró el exceso de xilol (2), pero sólo en la parte posterior del portaobjetos. Luego, sobre el portaobjetos se agregaron 2 a 3 gotas de bálsamo para montar *Shandon Consul-Mount (Histology Formulation (3-4))*, y seguido de esto se posicionó de manera suave el cubreobjetos (5), sólo apoyándolo desde la orilla y llevándolo a la unión con el portaobjetos muy delicadamente, esperando que el bálsamo escurriera por la superficie del portaobjetos cuidando de no dejar burbujas. Se retiraron las burbujas que hayan quedado en el proceso presionando suavemente el cubreobjetos con una pinza, retirando los excesos de bálsamo en las orillas delicadamente con una gasa humedecida con Xilol. Para terminar el proceso, los portaobjetos montados fueron llevados al horno de secado, a 20° C por un máximo de 24 horas (6) con la finalidad de que se secase el bálsamo de montar y el cubreobjetos se adhiriera al portaobjetos y a la muestra (7).



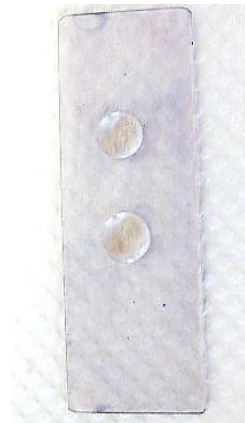
1. Xilol de Montaje



2. Se elimina exceso de Xilol



3. Bálsamo de montar



4. Bálsamo en portaobjetos



5. Aplicación de Cubreobjeto



6. Portaobjetos montados en  
horno a 20°C



7. Muestras finalmente secas

### ANEXO 3: PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRA

Antes de realizar el frotis, se pidió al paciente que se enjuagara con agua, para remover cualquier tipo de resto alimenticio y detritus que se encontrara en la cavidad bucal. A continuación, con un cepillo citológico para toma de muestra de PAP desechable (1), se separó la mejilla y se frotó el cepillo en la mucosa yugal (2). Primero en la derecha, de abajo a arriba, girando el cepillo con una intensidad moderada que permitiera remover células de la mucosa; siguiendo el mismo procedimiento en la mucosa yugal del lado izquierdo. Luego de tomadas las muestras de ambas mejillas, se tomaron dos portaobjetos limpios (4), y se frotó el cepillo sobre uno de estos, de izquierda a derecha, repitiendo el movimiento de giro y esparciendo la muestra a lo largo del portaobjetos (5). Seguido a esto, la otra lámina de portaobjetos se colocó encima de la muestra, quedando ambas láminas adheridas y a continuación se deslizó una sobre la otra hasta separarlas, con el fin de dejar una muestra mejor distribuida, más uniforme y de menor grosor para poder ser observada fácilmente bajo el microscopio(6). Para la fijación de las muestras se utilizó un cito-fijador para uso en citodiagnóstico (citospray) marca C.C.G (7), con el cual se roció cada una de las muestras a una distancia de 10 cm (8). Se esperó hasta que estuviera seco por lo menos 10 minutos para luego sumergir cada portaobjetos con las muestras ya fijadas en Alcohol al 95% para asegurar la fijación hasta el momento de la tinción de la muestra (que fue en todos los casos no más allá de las 24 horas).

Para la toma de muestras de la lengua, se le pidió al paciente que sacara la lengua y ésta fue tomada con una gasa y llevada hacia el lado contrario de donde se iba a tomar la muestra (en el caso de la toma de muestra del lado derecho, se llevó la lengua hacia el lado izquierdo para exponer la zona a frotar y viceversa) y con el cepillo citológico de toma de muestra de PAP desechable, se procedió a frotar el borde de lengua de atrás hacia adelante y de abajo a arriba, girando el cepillo y generando una presión moderada que permitiese remover células de la zona (3). Se realizó el mismo procedimiento tanto para el lado derecho como para el izquierdo. Estos cepillos fueron frotados en portaobjetos limpios de igual manera en que se realizó en la toma de muestras de mucosa yugal, siguiendo el mismo procedimiento hasta su fijación (pasos 4-5-6-7-8).

Importante es aclarar que cada portaobjeto fue marcado antes de ser utilizado con el número de ficha del paciente, y si eran muestras de mucosa o de lengua.



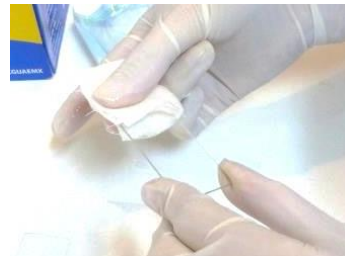
1. Cepillo Citológico PAP desechable



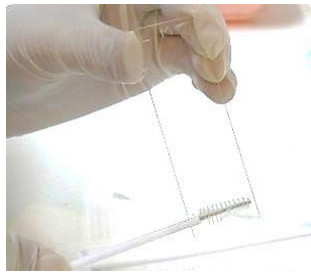
2. Toma de Muestra mucosa yugal



3. Toma muestra Lengua



4. Limpieza portaobjeto



5. Frotis



6. Adelgazamiento de frotis



7. Citofijador



8. Fijación de la muestra

#### ANEXO 4: PROTOCOLO DE TOMA DE ÍNDICE DE PLACA

Finalizada la toma de muestra se procedió a teñir todas las superficies dentarias con Fucsina. Se utilizó una motita de algodón, la cual fue sumergida en la fucsina dispensada en un vaso dappen (1) y se frotó por los dientes con la ayuda de la pinza de la bandeja de examen (2). Después de haber teñido todas las superficies dentarias con la ayuda de la mota de algodón, se le pidió al paciente que se realizara tres enjuagues con agua, removiendo el exceso del líquido, dejando sólo las superficies con presencia de placa bacteriana teñidas (3). A continuación, las superficies teñidas fueron anotadas en el índice de Higiene de la ficha de cada paciente.



1. Fucsina en vaso Dappen



2. Tinción de todas las superficies dentarias



3. Biofilm teñido luego de enjuagues con agua

**ANEXO 5: ENCUESTA PARA CAPTACIÓN DE PACIENTE A INCLUIR EN LA MUESTRA.**

1. Nombre completo: \_\_\_\_\_
2. Edad: \_\_\_\_\_
3. Mail contacto (En uso) \_\_\_\_\_
4. Teléfono: \_\_\_\_\_
5. ¿En qué comuna de Valparaíso vive?: \_\_\_\_\_
6. ¿Presenta alguna enfermedad?: \_\_\_\_\_
7. Toma algún medicamento diariamente: \_\_\_\_\_
8. ¿Fuma actualmente cigarrros? (tabaco) Sí  No
9. ¿Cuándo tiempo lleva fumando cigarro (meses o años): \_\_\_\_\_
10. ¿Cuántos cigarrros fuma al día?: \_\_\_\_\_
11. ¿Usa cigarrillo electrónico actualmente? Sí  No
12. ¿Cuánto tiempo lleva usando cigarrillo electrónico? (meses o años)
13. ¿Cuántas veces al día usa cigarrillo electrónico?
14. ¿Usa líquidos con NICOTINA para el cigarrillo electrónico? Sí  No
15. ¿Esta dispuesto a participar en este estudio? Sí  No

## ANEXO: 6 FICHA CLÍNICA DE REGISTRO

### DATOS DEL PACIENTE:

Nº FICHA: \_\_\_\_\_

- Nombre: \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_
- Rut: \_\_\_\_\_
- Dirección: \_\_\_\_\_
- Teléfono: \_\_\_\_\_ Mail: \_\_\_\_\_
- Fecha Examen: \_\_\_\_\_

### ANAMNESIS:

- Antecedentes médicos relevantes:

---

---

- Antecedentes odontológicos generales:

→ Experiencia previa odontológica      SI       NO

→ Antecedentes de enfermedad periodontal      SI       NO

\* Tipo de tratamiento      Conservador       Quirúrgico

\* Fecha del Último tratamiento \_\_\_\_\_

### HÁBITOS NOCIVOS:

→ Fuma      SI       NO

Tabaco       Cigarrillo electrónico



**ANEXO 7: REGISTRO DE MUESTRAS CITOLÓGÍA EXFOLIATIVA**

**Nº FICHA CLÍNICA:** \_\_\_\_\_

**NOMBRE PACIENTE:** \_\_\_\_\_

**RUT:** \_\_\_\_\_

**FECHA TOMA DE MUESTRA (dd/mm/aa):** \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**SITIOS DE EXTRACCIÓN MUESTRA - CODIFICACIÓN**

**MUCOSA YUGAL – MEJILLA (M)**

- INDICAR UBICACIÓN

DERECHO (D)       IZQUIERDO (IZ)

**LENGUA (L)**

- INDICAR UBICACIÓN:

DERECHO (D)       IZQUIERDO (IZ)   
SUPERIOR (S)       INFERIOR (IN)   
POSTERIOR (P)       ANTERIOR (A)

**PACIENTE SOLICITA RESULTADOS** SI  NO

**OBSERVACIONES:**

---

---

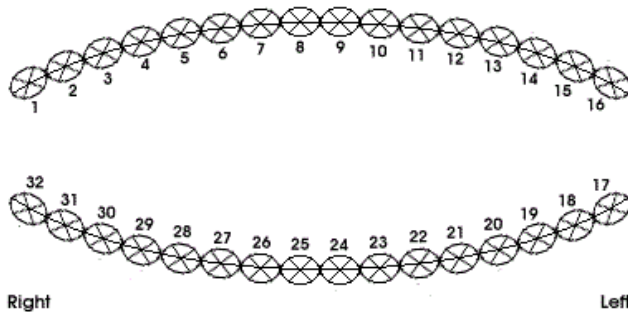
---

---

## ANEXO 8: REGISTRO ÍNDICE DE PLACA Y HEMORRÁGICO

### 1. ÍNDICE DE SANGRADO:

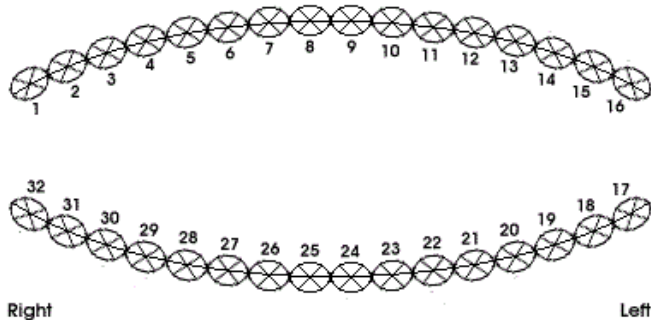
- PACIENTE: \_\_\_\_\_
- N° FICHA: \_\_\_\_\_
- FECHA: \_\_\_\_\_



TOTAL: \_\_\_\_\_ %

### 2. ÍNDICE DE PLACA:

- PACIENTE: \_\_\_\_\_
- N° FICHA: \_\_\_\_\_
- FECHA: \_\_\_\_\_



TOTAL: \_\_\_\_\_ %



**ANEXO 10: SOLICITUD DE PERMISO PARA USO DE LAS INSTALACIONES CLÍNICAS Y LABORATORIO DE LA ESCUELA DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO PARA REALIZACIÓN DE EXAMEN, TOMA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS CITOLÓGICO.**

**Carta de respaldo institucional para investigación**

La Dirección de Escuela de Odontología - Universidad de Valparaíso, autoriza el desarrollo de la investigación “Comparación de Efectos del Cigarrillo Electrónico y Convencional en la Mucosa Bucal y Tejidos Periodontales”, a ejecutarse en las dependencias de esta unidad académica, en el marco del desarrollo de la asignatura Seminario de tesis I y II, 2015 -2016.

La investigación tiene como responsable a Dr. Jaime Segovia Chamorro e investigadores asociados a Nicole Hauser Fuentes, Heva Olivares Paoa, Monserrat Toro Quilodrán y Carolyne Toledo García.

Esta investigación requiere (marque con una X)

	<b>SI</b>	<b>NO</b>
Interacción con Seres Humanos (SSHH)	<b>X</b>	
Experimentación o intervención clínica, farmacológica, ortopédica u otra en SSHH	<b>X</b>	
Investigación in vitro (que no implique directamente al SH)		
Investigación con registros clínicos identificables (Fichas, Modelos, exámenes Imagenológicos, fotografías, otros.)	<b>X</b>	
Muestras biológicas (sangre, saliva) u otros registros histológicos identificables	<b>X</b>	
Investigación en desechos biológicos (dientes extraídos)		
Otros elementos de bioseguridad		

Se extiende esta carta de respaldo para ser presentada en Comité de Bioética Institucional.

PROF. DR. ANTONIO RADICH M.  
DIRECTOR DE ESCUELA