

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE LOS GENES 520, 538 y 1280 DE *Porphyromonas gingivalis* EN PRESENCIA DE NICOTINA

Por

CD ANA KAREN MORENO SALDAÑA

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría de Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

Diciembre, 2025

Maestría de Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE LOS GENES 520, 538 y 1280 DE *Porphyromonas gingivalis* EN PRESENCIA DE NICOTINA

Comité Académico de Maestría

Presidente

Secretario

Vocal

Maestría de Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE LOS GENES 520, 538 y 1280 DE *Porphyromonas gingivalis* EN PRESENCIA DE NICOTINA

Ana Karen Moreno Saldaña
TESISTA

Comité de Tesis

Dra. Myriam Angélica De la Garza Ramos
DIRECTOR DE TESIS

Dr. Jesús Israel Rodríguez Pulido
CODIRECTOR DE TESIS

Dra. Marianela Garza Enríquez
ASESOR METODOLÓGICO

Dra. Maria Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
ASESOR METODOLÓGICO

Dr. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda
ASESOR METODOLOGICO

DEDICATORIA

Gracias a Dios, por darme la fortaleza en los momentos de cansancio y la luz necesaria para nunca rendirme, así como por su amor incondicional que siempre me sostuvo.

A mis padres, Alejandro Moreno Garza y Claudia Saldaña Rodríguez, por ser mi mayor ejemplo y mi motor de vida. Gracias por su apoyo infinito, por su amor diario, por comprenderme incluso en mis silencios y por motivarme a seguir adelante un día a la vez. Sin ustedes, este sueño jamás se habría hecho realidad.

A mis hermanos, Alex y Sofy, gracias por estar a mi lado con palabras de aliento, por su apoyo sincero y por la paciencia que me tuvieron en esta etapa.

A mis amigos del posgrado, gracias por caminar conmigo en este proceso, por las sonrisas compartidas, por los consejos y por recordarme que nunca estuve sola en este camino.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Myriam, gracias por apoyarme en todo momento, por tu paciencia infinita al explicarme y aconsejarme, y por ser no solo una excelente guía académica, sino también una gran consejera y un ser humano admirable.

Al Dr. Jesús, gracias por acompañarme en cada paso de esta tesis, por tus consejos oportunos, tu respaldo constante y por estar siempre dispuesto a escucharme y orientarme.

A la Dra. Norma Rodríguez, gracias por tu ayuda incondicional, por resolver cada duda que surgía en el camino y por guiarme con tanta dedicación a lo largo de este trayecto.

A todos los Doctores y Doctoras que formaron parte de mi formación en el posgrado, gracias por compartir generosamente sus conocimientos, por su tiempo y por sembrar en mí la pasión por seguir aprendiendo.

Finalmente, agradezco profundamente a Conahcyt por el apoyo brindado a través de la beca otorgada, la cual hizo posible cubrir los materiales necesarios para la realización de este proyecto. Sin este respaldo, este logro no habría sido posible.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
NOMENCLATURA	viii
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE GRAFICA.....	¡Error! Marcador no definido.
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	3
3. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general	4
3.2 Objetivos específicos.....	4
4. ANTECEDENTES.....	5
4.1 Salud periodontal.....	5
4.2. Clasificación de enfermedades periodontales	6
4.2.1. Gingivitis.....	7
4.2.2. Periodontitis.....	7
4.3. Placa dentobacteriana	8
4.3.1. Factor de virulencia.....	10
4.4. Tabaco convencional.....	11
4.4.1. Componentes químicos del tabaco convencional	11
4.4.2. Efectos del tabaco en la salud oral	13
4.4.3. Cambios en la microflora oral debido al tabaco	14
4.5. Cigarrillo electrónico	15
4.5.1. Ingredientes comunes en los líquidos de los cigarrillos electrónicos.....	17
4.5.2. Efectos de los componentes específicos de los cigarrillos electrónicos en el microbioma oral.....	17
4.5.3. Nicotina y su impacto en la salud oral	19
4.6. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	20
4.6.1 Rol de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en enfermedades periodontales	21
4.6.2 Virulencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i>	22
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
5.1 Diseño.....	26
5.2. Universo de estudio.	26
5.3. Tamaño de la muestra.	26

5.4. Criterios de selección:	26
5.4.1. Criterios de Inclusión	26
5.4.2. Criterios de exclusión	26
5.4.3 Criterios de eliminación	26
5.5 Descripción de procedimiento	27
5.5.1 Preparación del tabaco	27
5.5.2 Medios de cultivo	27
5.5.3 Medio de cultivo de Trypticaseína de soya + Nicotina de tabaco	27
5.5.4 Medio de cultivo de Trypticaseína de soya + Líquido de cigarrillo electrónico	28
5.5.5 PCR RNA	28
5.5.6 Clasificación y agrupación de dientes	30
5.5.7 Medios de cultivo	30
5.5.8 Evaluación de la formación de biofilm en el esmalte	31
5.5.9 Tinción de Gram	31
5.6 Análisis estadístico	33
5.7 Consideraciones éticas	33
6. RESULTADOS	34
6.1 Expresión del Gen 520	34
6.2 Expresión del gen 538	34
6.3 Expresión del gen 1280	34
6.4 Expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el grupo control	35
6.5 Expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el grupo experimental de tabaco	35
6.6 Expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el grupo experimental de nicotina de cigarro electrónico	36
6.7 Comparación de expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria <i>Porphyromonas gingivalis</i> entre grupos	37
6.8 Formación de biofilm en concentración 1/10	37
6.9 Formación de biofilm en concentración 100%	38
7. DISCUSIÓN	40
8. CONCLUSIÓN	45
9. LITERATURA CITADA	48
RESUMEN BIOGRÁFICO	60

NOMENCLATURA

E-cigarrillo	Cigarrillo electrónico
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
RNA	Acido ribonucleico
PCR	Reacción de cadena polimerasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
HPA	Hidrocarburos policíclicos aromáticos
Mm	Milimetro
Ph	Evaporación (mm)
Mg/ml	Miligramos/ mililitros
Rpm	Repeticiones por minuto
Rgpa	Patrón electroforético A
QS	Quorum Sensing
PMN	Polimorfonucleares

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pagina
1. Resultados de expresión de genes en Dilución al 100% y 1/10%.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pagina
1. Tabaco.....	27
2. Cultivo de Tripticaseína de soya + Nicotina de tabaco.....	28
3. Cultivo de control y Cultivo de Tripticaseína de soya + Nicotina de tabaco....	28
4. Tubos Eppendorf	29
5. Extracción de RNA y DNA	30
6. Cortes longitudinales de dientes	30
7. Adición del concentrado de nicotina y medio con <i>P. gingivalis</i> en superficie radicular.....	31
8. Protocolo de tinción de Gram en cortes longitudinales de raíces radiculares....	32
9. Visualización microscópica del biofilm en raíz radicular tras tinción de Gram..	32
10. Visualización microscópica del biofilm de tabaco en raíz radicular tras tinción de Gram.....	33
11. Grupo control.....	35
12. Grupo de cigarro de tabaco.....	36
13. Grupo de cigarro electrónico.....	36
14. Área de concentraciones del grupo de cigarro electrónico y tabaco.....	38
15. Comparación de medias $\pm$ desviación estándar del área pigmentada de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en los grupos experimentales.....	39
16. Comparación de la formación de biofilm entre grupos de nicotina de tabaco y cigarro electrónico (100% y 1/10).....	39

TESISTA: CD Ana Karen Moreno Saldaña
DIRECTOR DE TESIS: Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos
CODIRECTOR DE TESIS: Dr. Jesús Israel Rodríguez Pulido
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE LOS GENES 520, 538 y 1280 DE *Porphyromonas gingivalis* EN PRESENCIA DE NICOTINA

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El humo de tabaco y cigarro electrónico favorece la creación de biofilm que estimulan el desarrollo de ciertas bacterias periodontales tal como la *Porphyromonas gingivalis*. Se ha encontrado en esta bacteria una serie de factores de virulencia tales como HmuY y las gingipains Kgp/RgpA, los cuales han sido relacionados con la periodontitis e inclusive con enfermedades sistémicas. **OBJETIVO:** Determinar la expresión de genes de *Porphyromonas gingivalis* en presencia de nicotina del cigarro electrónico y tabaco. **METODOLOGÍA:** Se llevó a cabo la metilación de tabaco para obtener concentrado de nicotina, preparando medios de cultivo con tripticaseína de soya y diferentes compuestos. Se activó la bacteria *Porphyromonas gingivalis*, y se evaluó la formación de biofilm en dientes expuestos a medios con nicotina. Se aplicó la técnica de PCR RNA por medio de fluorescencia y tinción de Gram para analizar la interacción bacteriana en cortes dentales. **RESULTADOS:** La nicotina moduló significativamente la expresión génica en *P. gingivalis*, destacando el gen 520 como el más afectado con una disminución altamente significativa ($p < 0.001$), mientras que el gen 538 presentó una sobreexpresión también relevante en presencia de nicotina. En la formación de biofilm, el grupo expuesto a cigarro electrónico mostró consistentemente los valores más altos frente al tabaco, aunque sin alcanzar significancia estadística ($p > 0.05$). **CONCLUSIÓN:** Este estudio evidenció que la nicotina modula de manera distinta la expresión de los genes 520, 538 y 1280 de *P. gingivalis*, donde el gen 520 fue significativamente inhibido, el 538 se sobreexpresó con vapeo y el 1280 aumentó con tabaco; además, aunque no se encontraron diferencias significativas en la formación de biofilm, el cigarro electrónico mostró consistentemente valores más elevados.

TESISTA: CD Ana Karen Moreno Saldaña
DIRECTOR DE TESIS: Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos
CODIRECTOR DE TESIS: Dr. Jesús Israel Rodríguez Pulido
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ANALYSIS OF EXPRESSION OF GENES 520, 538, 1280 *Porphyromonas gingivalis*
IN THE PRESENCE OF NICOTINE

ABSTRACT

INTRODUCTION: Tobacco smoke and electronic cigarette vapor promote the formation of biofilms that stimulate the development of certain periodontal bacteria such as *Porphyromonas gingivalis*. A series of virulence factors, such as HmuY and the gingipains Kgp/RgpA, have been found in this bacterium, which have been associated with periodontitis and even systemic diseases. **OBJECTIVE:** Determine the expression of genes in *Porphyromonas gingivalis* in the presence of nicotine from electronic cigarettes and tobacco. **METHODOLOGY:** Tobacco was methylated to obtain nicotine concentrate, and culture media were prepared with soy trypticasein and various compounds. *Porphyromonas gingivalis* was activated, and biofilm formation was evaluated on teeth exposed to nicotine-containing media. PCR RNA technique with fluorescence and Gram staining were applied to analyze bacterial interaction on dental sections. **RESULTS:** Nicotine significantly modulated gene expression in *P. gingivalis*, with gene 520 showing the most pronounced decrease ($p < 0.001$), while gene 538 exhibited relevant overexpression under nicotine exposure. Regarding biofilm formation, the e-cigarette group consistently displayed higher values compared to tobacco, although the differences did not reach statistical significance ($p > 0.05$). **CONCLUSION:** This study showed that nicotine differentially modulates the expression of *P. gingivalis* genes 520, 538, and 1280, with gene 520 being significantly inhibited, gene 538 overexpressed with vaping, and gene 1280 increased with tobacco; additionally, although no significant differences were observed in biofilm formation, e-cigarettes consistently showed higher values.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso de formación de biofilm bacteriana ocurre en dos etapas principales: una inicial, caracterizada por la adhesión de los microorganismos a la superficie, seguida de una fase de multiplicación y organización celular que da lugar a estructuras complejas.

El tabaquismo constituye actualmente uno de los principales problemas de salud pública, siendo responsable de cerca de nueve millones de muertes anuales a nivel mundial, lo que representa alrededor del 15 % de la mortalidad global.

El humo del tabaco interrumpe el funcionamiento de prácticamente todos los sistemas de órganos humanos, causando la mayoría de las muertes por cáncer, enfermedades cardíacas y enfermedades respiratorias no cancerosas. A pesar de la promoción de los cigarrillos electrónicos como una alternativa menos dañina, existe evidencia que sugiere que sus componentes también pueden inducir efectos adversos en la salud.

El líquido utilizado en los e-cigarrillos tiene el potencial de causar cambios químicos que resultan en la producción de sustancias, como las emisiones de carbonilo, que podrían tener el riesgo de causar daño a los pulmones.

Cada vez hay más información que sugiere que el humo del tabaco favorece la creación de biofilm en múltiples tipos de bacterias que causan enfermedades. Existen reportes que demuestran la relación entre la nicotina y la biofilm dado que el extracto del humo de cigarro estimula a *P. gingivalis* y contribuye a que se desarrolle una enfermedad periodontal. En este estudio se busca comprobar si la nicotina del cigarro electrónico esta en relación con la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en la formación de biofilm y su actividad metabólica.

Debido a lo anterior surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo se comportan los genes de virulencia 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en presencia de nicotina de cigarrillo electrónico y cigarrillo?

Se llevó a cabo la metilación de tabaco para obtener concentrado de nicotina, preparando medios de cultivo con tripticaseína de soya y diferentes compuestos. Se activó la bacteria *Porphyromonas gingivalis*, y se evaluó la formación de biofilm en dientes expuestos a medios con nicotina. Se aplicó la técnica de PCR RNA por medio de fluorescencia y tinción de Gram para analizar la interacción bacteriana en cortes dentales.

El análisis de expresión relativa ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) mostró que la presencia de nicotina indujo cambios diferenciales en los genes evaluados. El gen 520 presentó una disminución significativa en su expresión en comparación con el control ($p < 0.001$). Por el contrario, el gen 538 evidenció un ligero incremento en su expresión, también estadísticamente significativo ($p < 0.001$). Finalmente, el gen 1280 mostró una marcada reducción en sus niveles de expresión, lo que sugiere un efecto regulador negativo asociado a la exposición a nicotina.

Por el contrario, el análisis estadístico del segundo estudio mostró que las áreas pigmentadas de biofilm fueron consistentemente mayores en las muestras expuestas a extractos de cigarro electrónico, tanto en concentración 10%, como en 100%, en comparación con el tabaco. Estos hallazgos sugieren que, aunque existe una tendencia hacia una mayor formación de biofilm inducida por el cigarro electrónico, será necesario ampliar el tamaño muestral para confirmar este efecto.

2. HIPÓTESIS

Hi: La expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* es mayor en nicotina del cigarro electrónico, que en nicotina de tabaco.

Ho: La expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* es menor en presencia de nicotina del cigarro electrónico y nicotina del tabaco.

Ha: La expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* no hay diferencia en presencia de nicotina del cigarro electrónico y nicotina del tabaco.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Determinar la expresión de genes de *Porphyromonas gingivalis* en presencia de nicotina del cigarro electrónico.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar la expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en presencia de la nicotina del cigarro electrónico con el cigarro convencional de tabaco.
- Evaluar la formación de biofilm en superficies radiculares con nicotina y con cigarro electrónico.

4. ANTECEDENTES

4.1 Salud periodontal

La definición más práctica de salud periodontal sería un estado sin enfermedad periodontal inflamatoria, lo cual implica la falta de inflamación relacionada con gingivitis o periodontitis, evaluada clínicamente, como un requisito previo para considerar que alguien tiene salud periodontal (West, 2018). Existe un debate sobre si condiciones morfológicas alteradas resultantes de exposiciones previas a la enfermedad, como recesión gingival, pérdida de inserción y pérdida ósea, pueden ser consideradas como nuevas condiciones saludables en ausencia de signos y síntomas clínicos de inflamación (Mariotti & Hefti, 2015).

La salud puede ser evaluada desde una perspectiva tanto histológica, como clínica, y debe ser contemplada en el contexto de un enfoque preventivo inicial y un objetivo terapéutico final. Por lo tanto, la salud periodontal puede existir antes de que la enfermedad se manifieste, pero, a su vez, la salud periodontal puede ser restaurada en un periodonto que ha sufrido cambios anatómicos (Wehmeyer *et al.*, 2014).

Se define a través de la completa ausencia de infiltrado inflamatorio, junto con índices gingivales y de placa dental que resultan en valores iguales a cero. En los seres humanos, un estado de encías clínicamente saludables, incluso si se mantiene durante un período prolongado, siempre se caracteriza histológicamente por un pequeño infiltrado de células inflamatorias (Lang & Bartold, 2018).

La salud periodontal se definiría como la ausencia de evidencia histológica de inflamación periodontal y la ausencia de cambios anatómicos en el periodonto. Sin embargo, es importante reconocer que en la mayoría de los adultos, esto es poco probable. Por lo tanto, el término "clínicamente saludable" debe ser adoptado para abarcar la ausencia o una reducción muy significativa de inflamación periodontal clínica en un periodonto que está anatómicamente intacto o en uno que ha sufrido cambios.

Además, es necesario desarrollar una definición o modelo comprometido para la salud periodontal clínica en personas que han experimentado enfermedad periodontal (gingivitis o periodontitis), han recibido tratamiento y luego han regresado a un estado de salud clínica en un periodonto completo (en el caso de la gingivitis) o en uno que ha sufrido cambios (en el caso de la periodontitis) (Mahanonda *et al.*, 2016).

Los determinantes de la salud periodontal clínica se dividen en determinantes microbiológicos, que dependen de la composición de la placa supragingival y de la biopelícula subgingival, determinantes del huésped, que pueden ser factores locales como bolsas periodontales, restauraciones dentales, anatomía de las raíces y posición de los dientes, o factores sistémicos como la función inmunológica del huésped, la salud general y la genética, y determinantes ambientales, que dependen del tabaquismo, medicamentos, estrés y nutrición (Darveau *et al.*, 2012).

Estas 4 categorías incluyen: 1) salud periodontal prístina, definida como la completa ausencia de inflamación clínica y vigilancia inmunológica fisiológica en un periodonto con soporte normal (sin pérdida de inserción o de hueso). La salud periodontal prístina es poco probable que se observa clínicamente; 2) salud periodontal clínica, caracterizada por la ausencia o niveles mínimos de inflamación clínica en un periodonto con soporte normal; 3) estabilidad de la enfermedad periodontal en un periodonto que ha sufrido cambios; 4) remisión/control de la enfermedad periodontal en un periodonto que ha sufrido cambios (Lang & Bartold, 2018).

4.2. Clasificación de enfermedades periodontales

En lugar de considerar las enfermedades periodontales como simples infecciones bacterianas, deben ser comprendidas como enfermedades complejas de naturaleza multifactorial que involucran una complicada interacción entre la microbiota subgingival, las respuestas inmunológicas e inflamatorias del huésped y factores ambientales que las modifican (Lang & Bartold, 2018).

El pH cambia de la neutralidad en el surco gingival sano a un pH por encima de 8.0 en bolsas periodontales inflamadas o enfermas (Forng *et al.*, 2000).

4.2.1. Gingivitis

La gingivitis es una condición iniciada por acumulación de placa dentobacteriana la cual causará inflamación y es caracterizada por signos tales como encía enrojecida y edema, sin embargo, no es dolorosa y tiene ausencia de inserción clínica (Murakami *et al.*, 2018).

Es importante mencionar que, a diferencia de la periodontitis, la gingivitis es reversible si se elimina el factor causante. Además, es un proceso inflamatorio limitado a la encía, que no es destructivo, sólo afecta la encía, un síntoma importante que ocurre al sondear es el sangrado (Makkar *et al.*, 2018).

De acuerdo a la AAP (American Academy of Periodontology) la definición de caso de gingivitis es pérdida de inserción clínica < 3 mm, profundidad de bolsa < 4 mm, sangrado al sondaje > 20 % y sin pérdida de hueso alveolar radiográfico (Trombelli *et al.*, 2018).

La gingivitis localizada, se define como un paciente que presenta un índice de sangrado al sondaje $\geq 10\%$ y $\leq 30\%$, sin pérdida de inserción clínica y sin pérdida ósea radiográfica; o la gingivitis generalizada, definida como un paciente que presenta un índice de sangrado al sondaje $> 30\%$, sin pérdida de inserción y sin pérdida ósea radiográfica (Holmstrup *et al.*, 2018).

4.2.2. Periodontitis

La periodontitis es la sexta patología más común en el mundo, afectando aproximadamente a 750 millones de personas, y son la principal causa de pérdida dental, lo que resulta en disfunción masticatoria que afecta la calidad de vida, la nutrición y la autoestima de los pacientes, lo que resulta en un alto costo en salud y un impacto económico en los diversos sistemas de salud (López-Valverde *et al.*, 2023; Chapple *et al.*, 2015).

Se caracteriza por una inflamación mediada por microorganismos y el huésped que resulta en la pérdida de la inserción clínica periodontal (Caton *et al.*, 2018).

Además, la periodontitis a diferencia de la gingivitis es una condición irreversible por lo que se caracteriza por la inflamación de las encías que se propaga más allá de la encía, lo que conduce a la descomposición de la unión del tejido conectivo a la raíz y a la reabsorción del hueso alveolar (D'Ambrosio *et al.*, 2022).

La destrucción progresiva de la unión del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar provocan la migración apical del epitelio gingival y la formación de bolsas periodontales (Makkar *et al.*, 2018).

Un paciente se considera un caso de periodontitis si se cumplen las siguientes condiciones:

Es detectable una pérdida de inserción clínica interproximal en ≥ 2 dientes que no son adyacentes. Se detecta una pérdida de inserción clínica vestibular o palatino/lingual de ≥ 3 mm con formación de bolsa > 3 mm en ≥ 2 dientes (Wehmeyer *et al.*, 2014).

Además, la pérdida de inserción observada no puede atribuirse a causas no relacionadas con la enfermedad periodontal, como: 1) recesión gingival de origen traumático; 2) caries dental que se extiende en la zona cervical del diente; 3) la presencia de pérdida de inserción en el aspecto distal de un segundo molar y asociada a la mal posición o extracción de un tercer molar; 4) una lesión endodóntica que drena a través del periodonto marginal; y 5) la ocurrencia de una fractura vertical de la raíz (Tonetti *et al.*, 2018).

4.3. Placa dentobacteriana

La película adquirida que se adhiere a la superficie dental es el primer paso para la formación del biofilm dental, seguido por la unión de las células bacterianas a la película adquirida (Zhang *et al.*, 2019).

Los biofilms bacterianos son agrupaciones de bacterias que están adheridas a una superficie y/o entre sí y están incrustadas en una matriz autogenerada, lo que les permite sobrevivir en entornos ecológicos complejos con abundantes y diversos microorganismos orales, asociados con diversas enfermedades bucales (Huang *et al.*,

2014). Esta matriz está compuesta por sustancias como proteínas ,polisacáridos, así como eDNA. (Donlan & Costerton, 2002)

Además de la protección ofrecida por la matriz, las bacterias en los biofilms pueden emplear varias estrategias de supervivencia para evadir los sistemas de defensa del huésped (Hall-Stoodley & Stoodley, 2009). Al permanecer en estado latente y ocultas del sistema inmunológico, pueden causar daño tisular local y posteriormente provocar una infección aguda (Rath *et al.*, 2021). Dentro del biofilm, las bacterias se adaptan a la anoxia ambiental y a la limitación de nutrientes exhibiendo un metabolismo alterado, expresión génica y producción de proteínas, lo que puede llevar a una tasa metabólica más baja y una reducción en la tasa de división celular (Vestby *et al.*, 2020).

Basándose en la película adquirida formada por proteínas salivales, las bacterias colonizadoras iniciales, como *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus sanguinis*, se unen específicamente a sus receptores salivales complementarios a través de sus adhesinas superficiales (Kolenbrander *et al.*, 2010).

Durante la maduración de los biofilms de microorganismos orales, las principales bacterias de los biofilms cambian de *Streptococcus* en la etapa inicial a anaerobios obligados más tarde, como *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* y *Prevotella*, y especialmente *Actinomyces* (X. Li *et al.*, 2022).

Las más desarrolladas están compuestas por bacterias, sustancias polisacáridos fuera de las células, ADN que se encuentra fuera de las células y proteínas. Dada su alta resistencia tanto al sistema inmunológico humano como a los antibióticos más modernos, además de que desempeñan un papel significativo en la aparición de muchas infecciones crónicas en humanos (Rabin *et al.*, 2015).

4.3.1. Factor de virulencia

La comunicación entre especies iguales o diferentes está mediada por señales químicas sintetizadas y secretadas por las bacterias. Estas señales se pueden dividir en dos grupos. Un grupo está relacionado con la densidad celular y el quórum sensing (QS), y el otro grupo implica señales producidas por bacterias en varias etapas de crecimiento (X. Li *et al.*, 2022).

QS es un proceso de comunicación microbiana de célula a célula principalmente dependiente de la densidad poblacional (Zhao *et al.*, 2020). Este mismo regula varios procesos celulares, que principalmente implican la regulación de la luminiscencia bacteriana, factores de virulencia, tolerancia a desinfectantes, formación de esporas, producción de toxinas, motilidad, formación de biofilm y resistencia a fármacos (Azimi *et al.*, 2020; Nag *et al.*, 2021).

A medida que aumenta la densidad poblacional, las señales se acumulan localmente y, una vez que se alcanza una concentración umbral, el autoinductor interactúa con la proteína receptora. Cuando se activan diferentes genes objetivos, el comportamiento fisiológico de las bacterias, como su virulencia, competencia, patogenicidad, se altera (Abisado *et al.*, 2018). Esta extraordinaria capacidad para adaptarse y modificar diferentes microhábitats permite a las bacterias en los biofilms soportar diversas y estresantes condiciones, facilitando la supervivencia a nivel poblacional (Hall-Stoodley & Stoodley, 2009).

Es evidente que la exposición al tabaco crea un entorno estresante al cual los patógenos periodontales, especialmente *Porphyromonas gingivalis*, pueden adaptarse cambiando sus expresiones génicas y proteicas (Silva, 2021).

A pesar de que un exceso en la expresión de factores de virulencia, como las exotoxinas, puede aumentar la capacidad de las bacterias para causar enfermedades en el huésped, también puede desencadenar respuestas inmunológicas más intensas.

Esto, a su vez, puede llevar a inflamaciones agudas, hipersensibilidad y, en última instancia, a la rápida eliminación de las células bacterianas. Por lo tanto, la regulación de la actividad génica relacionada con la virulencia es esencial para que las bacterias sobrevivan y se adapten en el organismo huésped (Shi *et al.*, 2019).

4.4. Tabaco convencional

El consumo de tabaco es responsable de casi 9 millones de muertes anuales en todo el mundo (aproximadamente el 15% de todas las muertes a nivel mundial), lo que lo convierte en el factor de riesgo conductual más letal, superado únicamente por la presión arterial sistólica alta en su contribución a la mortalidad humana (Tabaco, s. f.; Le Foll *et al.*, 2022).

El humo del tabaco interrumpe el funcionamiento de prácticamente todos los sistemas de órganos humanos, causando la mayoría de las muertes por cáncer, enfermedades cardíacas y enfermedades respiratorias no cancerosas (GBD 2019 Risk Factors Collaborators, 2020).

El hábito de fumar cigarrillos aumenta el riesgo de prácticamente todas las afecciones orales que los profesionales dentales tienen la tarea de tratar y reduce las posibilidades de que muchos tratamientos dentales sean exitosos. El tabaquismo está fuertemente relacionado con un mayor riesgo de cáncer en la cavidad oral o la faringe, con evidencia que respalda una relación dosis-respuesta y un riesgo sinérgico con el consumo de alcohol (Chaffee *et al.*, 2021).

4.4.1. Componentes químicos del tabaco convencional

El humo de los cigarrillos contiene mas de 7000 sustancias químicas tóxicas, siendo la nicotina el componente principal (Haghighi *et al.*, 2022; Soleimani *et al.*, 2022).

Entre sus componentes se encuentran nitrógeno, oxígeno, dióxido de carbono, monóxido de carbono, agua, argón, hidrógeno, acetona, óxidos de nitrógeno y compuestos de azufre volátiles (Hong *et al.*, 2022; Y. Li & Hecht, 2022; Richardot *et al.*, 2024). Estas sustancias químicas están ligadas a partículas de aerosol o están libres en la fase gaseosa.

Los compuestos químicos presentes en el tabaco pueden evaporarse en el humo o reaccionar para formar otras sustancias químicas (Counts *et al.*, 2005;Dobaradaran *et al.*, 2020). La fase particulada puede quedar atrapada en el filtro e incluye el resto del peso del humo con más de 3500 compuestos químicos individuales, como la nicotina, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), metales pesados, nitrosaminas, carbonilos, fenoles, insecticidas, BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) y otros compuestos (Baker *et al.*, 2004;Brunnemann *et al.*, 1989;Counts *et al.*, 2004;Dobaradaran *et al.*, 2019).

El humo producido por el consumo de cigarrillos contiene cantidades significativas de agentes conocidos por su capacidad de inducir el cáncer, así como de sustancias que podrían tener el potencial de ser cancerígenas, entre las cuales se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las N-nitrosaminas, las aminas aromáticas y metales (Bhat *et al.*, 2023).

Entre los principales agentes cancerígenos se incluyen los hidrocarburos policíclicos aromáticos, como el benzopireno, las nitrosaminas, aldehídos y elementos inorgánicos como el níquel, el plomo y el polonio-210. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) se forman cuando la materia orgánica se quema de manera incompleta (Etemadi *et al.*, 2023; Martos Berbel, 2018).

Las N-nitrosaminas se encuentran en el humo del cigarrillo en forma volátil y están relacionadas con la nicotina y otros alcaloides del tabaco (Ballén *et al.*, 2006).

Las aminas aromáticas fueron los primeros carcinógenos que se confirmaron debido a su presencia en entornos industriales.

Los hidrocarburos volátiles, como el benceno, son causantes de leucemia en seres humanos, y el níquel y el cadmio (metales) también han sido confirmados como carcinógenos en seres humanos (Ilies *et al.*, 2020).

Estos compuestos provocan la apoptosis celular y dañan el ADN celular. En principio, los mecanismos de reparación pueden corregir la información genética dañada, pero la exposición prolongada a los carcinógenos puede dar lugar a mutaciones en los genes que controlan la división, proliferación y crecimiento de las células (Hecht, 2003).

4.4.2. Efectos del tabaco en la salud oral

La nicotina, un componente altamente tóxico del tabaco, se encuentra en niveles significativamente elevados en la saliva de los fumadores, con concentraciones que pueden alcanzar hasta 2.3 mg/mL (Shi *et al.*, 2019).

Por otro lado, el acto de fumar también se ha asociado con la disminución de la producción de saliva, la calidad de la misma y el pH salival, lo que a su vez contribuye a la proliferación de las bacterias *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis* (Nelson *et al.*, 2019).

El acto de fumar cigarrillos desempeña un papel significativo en el desarrollo de las caries dentales. Varios estudios epidemiológicos a nivel global han documentado una fuerte conexión entre fumar y la incidencia de caries dental (Han, 2021).

Durante el período de 125 años siguiente, se han realizado diversos estudios clínicos y poblacionales que han evidenciado vínculos significativos entre el hábito de fumar cigarrillos y afecciones de las encías, una disminución en la sujeción del tejido epitelial y la altura del hueso alveolar, así como la pérdida de dientes. Estos estudios también han señalado en general una mayor acumulación de placa y cálculos en las personas que fuman (Chaffee *et al.*, 2021).

El consumo de cigarrillos aumenta el riesgo de todos los tipos histológicos de cáncer de pulmón, incluyendo el carcinoma de células escamosas, el carcinoma de células pequeñas, el adenocarcinoma (incluyendo el carcinoma bronquioloalveolar) y el carcinoma de células grandes. Está asociado causalmente con el cáncer de la cavidad oral (incluyendo el labio y la lengua (Hecht, 2003; Ford & Rich, 2021).

Muchos de los componentes químicos del tabaco, así como sus productos finales de combustión, son sustancias irritantes capaces de producir alteraciones leucoplásicas en la mucosa bucal (Schepman *et al.*, 2001).

Otro efecto del tabaco en la cavidad oral es la gingivitis y periodontitis ya que se ha demostrado que la nicotina induce un efecto vasoconstrictor periférico que minimiza la entrega de oxígeno a los tejidos, lo cual aumenta el riesgo, la patogénesis y la exacerbación de la enfermedad periodontal mediante una combinación de varios mecanismos: 1) Disminución de la perfusión gingival, lo que restringe la entrega de nutrientes y oxígeno, así como la eliminación de productos de desecho; 2) supresión de la respuesta inmunitaria, especialmente la inflamación; 3) supresión de la recuperación morfológica y funcional del periodonto; y 4) disbiosis y aumento de la infectividad de la microbiota oral. Estos factores combinados dificultan la cicatrización de heridas y aceleran la enfermedad periodontal (Akinkugbe *et al.*, 2016; Silva, 2021; Yaragani *et al.*, 2020).

4.4.3. Cambios en la microflora oral debido al tabaco

Los cambios en el microbioma oral, a menudo asociados con una salud deficiente del huésped (es decir, higiene oral deficiente, uso de tabaco, etc.), rompen el vínculo simbiótico con el huésped. La subsiguiente disbiosis conduce a la acumulación de bacterias patógenas en el margen subgingival y la liberación de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). La inflamación local resultante provoca un aumento en el fluido gingival crevicular (GCF) derivado de la sangre, lo que proporciona un entorno adecuado para la proliferación de bacterias. (Farias *et al.*, 2024).

La comunidad bacteriana subgingival que crece en la bolsa periodontal la cual impulsa la respuesta inmune innata, que consiste en el reclutamiento de neutrófilos y células asesinas naturales (NK). El entorno proinflamatorio rico en citocinas resultante refuerza el reclutamiento de más células inmunológicas y la degradación del tejido circundante (Silva, 2021; Farias *et al.*, 2024).

La concentración de nicotina en la saliva de los fumadores puede variar en un rango de 0.07 y 1.56mg/ml y aunque esta cantidad puede parecer pequeña, es capaz de contribuir al desarrollo de enfermedades bucales graves (Haghighi *et al.*, 2022).

Además de esto, la nicotina tiene un impacto crítico en el microbioma oral al alterar el crecimiento, la adherencia y la formación de biofilm de microorganismos patógenos (Wu *et al.*, 2018).

Investigaciones recientes han demostrado que los posibles efectos del tabaquismo en el microbioma oral incluyen la creación de un entorno anaeróbico, daño a la inmunidad del huésped, alteración del pH de la saliva oral y la adhesión de bacterias orales, así como los efectos antibacterianos de las sustancias tóxicas en el humo del cigarrillo (X. Li *et al.*, 2022).

Finalmente, parece que el tabaquismo disminuye la capacidad reparadora de las células periodontales, incluyendo fibroblastos, osteoblastos y cementoblastos, reduciendo la capacidad de formar nuevo tejido e interrumpiendo potencialmente la capacidad de respuesta a la terapia periodontal (Chaffee *et al.*, 2021).

El tabaquismo puede perturbar la homeostasis de la composición microbiana comensal oral, enfermedades de las encías y alteraciones dentales, lo que desempeña un papel importante en la remodelación de la comunidad microbiana oral (Wang *et al.*, 2022). Cada vez hay más información que sugiere que el humo del tabaco favorece la creación de biofilm en múltiples tipos de bacterias que causan enfermedades (Šmiga *et al.*, s. f.).

4.5. Cigarrillo electrónico

El uso de cigarrillos electrónicos se conoce comúnmente como vapeo, técnicamente el dispositivo emite y el usuario inhala un aerosol, compuesto por una suspensión de una mezcla de gases, vapores y partículas acuosas (Holliday *et al.*, 2021; Sapru *et al.*, 2020).

Los cigarrillos electrónicos están diseñados para proporcionar un aerosol que contiene nicotina al usuario. Entre las 20 muestras de 10 marcas diferentes, el rango de nicotina en las etiquetas fue de 6 a 30 mg (Stratton *et al.*, 2018).

Al activar el cigarrillo electrónico, la nicotina se libera del líquido electrónico en partículas de aerosol o se volatiliza a nicotina en fase gaseosa, que luego se inhala. Al igual que con el humo del tabaco, se espera que la nicotina en fase gaseosa se absorba en la boca y las vías respiratorias superiores, lo que puede contribuir a los efectos sensoriales de la nicotina en la boca y la garganta (Balfour *et al.*, 2021).

El líquido utilizado en los cigarrillos electrónicos (e-cigarrillos) tiene el potencial de causar cambios químicos que resultan en la producción de sustancias, como las emisiones de carbonilo, que podrían tener el riesgo de causar daño a los pulmones (Nelson *et al.*, 2019; Marques *et al.*, 2021).

Se está indicando que a pesar de la promoción de los e-cigarrillos como una opción más segura que los cigarrillos tradicionales (D'Ambrosio *et al.*, 2022). A pesar de estas afirmaciones, se informó que los e-cigarrillos inducen inflamación y generan radicales libres destructivos que afectan al sistema inmunológico innato y aumentan las infecciones bucales (Haghighi *et al.*, 2022).

Para los jóvenes en particular, la exposición a la nicotina puede afectar negativamente el desarrollo del cerebro en la adolescencia y aumentar el riesgo de dependencia a la nicotina a largo plazo (Chaffee *et al.*, 2021).

Se han reportado lesiones por explosiones intraorales causadas por cigarrillos electrónicos y representan una complicación poco común del uso de cigarrillos electrónicos. Las lesiones por explosión resultantes del sobrecalentamiento de la batería interna de iones de litio durante el proceso de vapeo han resultado en varias lesiones orales que incluyen, entre otras, fractura dental, avulsión dental, fractura dentoalveolar, formación de hematomas, ulceración traumática y tatuajes, quemaduras intraorales y necrosis subsiguiente, perforación palatal con extensión hacia la cavidad nasal y déficits

extensos de tejido blando que requieren cirugía correctiva considerable tanto cosmetológica como funcional(Sultan *et al.*, 2021) (Irusa *et al.*, 2020).

4.5.1. Ingredientes en los líquidos de los cigarrillos electrónicos

Los líquidos electrónicos están compuestos únicamente por unos pocos ingredientes, como el propilenglicol o la glicerina vegetal con o sin nicotina y saborizantes (Walley *et al.*, 2019).

En contraste con el aerosol generado por los cigarrillos electrónicos genéricos, la inhalación de aerosoles que contienen productos de cannabis, especialmente aquellos adquiridos en el mercado negro, se sabe que contienen acetato de vitamina E, una sustancia química que ha demostrado ser extremadamente peligrosa, causando lesiones pulmonares graves e incluso la muerte (Nelson *et al.*, 2019;Gaiha *et al.*, 2022).

También se ha encontrado que contienen sustancias como formaldehído, acetaldehído, acroleína y distintos metales pesados. Algunas de estas sustancias son catalogadas como citotóxicas y carcinógenas (Llambí *et al.*, 2020;McLeish *et al.*, 2022).

4.5.2. Efectos de los componentes específicos de los cigarrillos electrónicos en el microbioma oral

Se ha demostrado que el biofilm expuesta al aerosol de cigarrillos electrónicos son ricos en material de matriz y tenían una mayor área y volumen que los biofilms de control (Yang *et al.*, 2023). Es importante destacar que estos efectos se deben a componentes de los cigarrillos electrónicos como glicerol o polietilenglicol que se utilizan como vehículos en los cigarrillos electrónicos y pueden ser una fuente de nutrientes para los microorganismos (Ganesan *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020).

También es posible que los cigarrillos electrónicos modulen el microbioma bucal de manera indirecta. De hecho, se ha demostrado que afectan los niveles de proteínas antimicrobianas y citoquinas en la saliva (Cichońska *et al.*, 2019). In vitro, la exposición a cigarrillos electrónicos aumentó la producción de citoquinas proinflamatorias por líneas

celulares premalignas y malignas, así como aceleró la infección por bacterias bucales (Pushalkar *et al.*, 2020).

El microbioma salival parece ser diferente en los usuarios de cigarrillos electrónicos sin historial de tabaquismo en comparación con fumadores o nunca fumadores. Se observó un aumento en la β -diversidad (variación de las comunidades microbianas entre muestras) y niveles más altos de *Actinomyces*, *Porphyromonas* y *Veillonella* en los usuarios de cigarrillos electrónicos (Pushalkar *et al.*, 2020; Thomas *et al.*, 2022).

Estudios microbiológicos han indicado que los usuarios de cigarrillos electrónicos tienen un microbioma distintivo, y hay indicios de que esto podría ser más patógeno en comparación con los no usuarios (Holliday *et al.*, 2021).

Los e-cigarrillos modulan el microbioma oral y aumentan la abundancia de patógenos orales, alteran la respuesta del huésped y promueven la inflamación de las encías (Wang *et al.*, 2022). Los resultados de estudios *in vitro* mostraron que el uso de cigarrillos electrónicos es capaz de alterar la diferenciación de los miofibroblastos, causar daño al ADN, inducir estrés oxidativo y aumentar las citoquinas inflamatorias en la encía humana y los fibroblastos del ligamento periodontal (D'Ambrosio *et al.*, 2022).

Un estudio reciente también ha demostrado que las concentraciones de albúmina y ácido úrico detectables en la saliva completa difieren entre fumadores y no fumadores, siendo más bajas en los no fumadores (Zarabadipour *et al.*, 2022).

Estudios *in vitro* han mostrado que la exposición a cigarrillos electrónicos tiene un efecto relativamente modesto en el crecimiento y supervivencia de los estreptococos orales en comparación con el humo del cigarrillo (Cuadra *et al.*, 2019).

El propilenglicol es un compuesto presente en todos los dispositivos el cual irrita las mucosas de las vías respiratorias al ser inhalado, La glicerina se considera segura cuando es consumida por vía oral, pero se desconocen sus efectos cuando es inhalada. Con el propósito de que al fumador le resulte mas agradable el sabor se le agregan saborizantes

lo cual esta comprobado que algunos de ellos podrían incrementar los efectos inflamatorios sobre las mucosas del sistema respiratorio y son considerados potencialmente peligrosos (Llambí *et al.*, 2020).

4.5.3. Nicotina y su impacto en la salud oral

La nicotina es el principal componente psicoactivo y químicamente adictivo en el humo del tabaco (Holliday *et al.*, 2021). La nicotina podría afectar directamente la respiración mitocondrial, la autofagia celular y las moléculas de señalización celular en un entorno con un pH adecuado (pK_a de la nicotina = 7.9)(W. Zhang *et al.*, 2022).

La estimulación inducida por la nicotina en el sistema nervioso central resulta en la liberación de múltiples neurotransmisores en el cerebro, siendo la dopamina dominante, que se ha relacionado con los efectos farmacodinámicos de la nicotina, y está asociada con el placer (Stratton *et al.*, 2018).

Una revisión reciente de la evidencia *in vitro* concluyó que la nicotina, el componente altamente adictivo, por sí sola es poco probable que sea citotóxica para los tejidos bucales a niveles fisiológicos (Chaffee *et al.*, 2021).

Sin embargo en estudios se ha demostrado que puede inhibir la diferenciación de los osteoblastos y que fumar dificulta la respuesta de cicatrización después de una cirugía periodontal (Saito *et al.*, 2013).

La nicotina es capaz de inducir la migración de células displásicas orales mediante la activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico dependiente de la sintasa de ácidos grasos y contribuye a la patogénesis de la periodontitis (W. Zhang *et al.*, 2022).

Se informó de una prevalencia significativamente aumentada estadísticamente de estomatitis nicotínica, lengua peluda y queilitis angular en un estudio reciente prospectivo de casos. Es plausible que los usuarios puedan experimentar una incidencia aumentada de estomatitis nicotínica considerando que el líquido dentro de los cigarrillos electronicos es vaporizado por calor y este calor, a su vez, puede causar estomatitis nicotínica.

(Sultan *et al.*, 2021).

El uso de cigarrillos electrónicos se asocia con una mayor diversidad alfa en la microbiota oral, lo que sugiere disbiosis y un posible riesgo de enfermedad periodontal. Además, bacterias del complejo rojo, como *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, se han relacionado con el desarrollo de carcinoma oral. Asimismo, los géneros *Lactobacillus* y *Treponema* se han detectado en pacientes con carcinoma oral asociado al tabaquismo (Miluna-Meldere *et al.*, 2024).

4.6. *Porphyromonas gingivalis*

Es una bacteria anaerobia, gramnegativa, se considera colonizador tardío, en forma de bastón, que forma colonias negras en agar sangre y requiere la presencia de hemo o hemina y vitamina K en su medio de crecimiento. Además, es conocido que *P. gingivalis* favorece el desarrollo de la enfermedad periodontal (Yilmaz, 2008).

Es un colonizador del epitelio oral y un componente importante de los microbiomas subgingivales. *P. gingivalis* es responsable de la forma crónica de la periodontitis, ya que puede remodelar la comunidad bacteriana comensal para promover un estado de disbiosis (Mei *et al.*, 2020; Olsen *et al.*, 2017).

P. gingivalis se considera el principal agente etiológico y patógeno clave responsable de la alteración de la homeostasis del huésped, el aumento de la formación de biofilm polimicrobiano, la causación de disbiosis y el desarrollo de la periodontitis (Xu *et al.*, 2020; Reyes, 2021).

Esta bacteria también participa en un papel crucial en el desarrollo de enfermedades periodontales severas al colonizar el surco subgingival. Su presencia es notablemente más alta en fumadores que en no fumadores, y la infección tiende a ser más persistente en individuos que fuman en comparación con aquellos que no lo hacen (Y. Zhang *et al.*, 2019; Orrego-Cardozo *et al.*, 2015a).

La persistencia de *P. gingivalis* en la cavidad oral de fumadores puede atribuirse a una respuesta inmunológica comprometida y/o a una mayor virulencia bacteriana (Bagaitkar *et al.*, 2009).

Estudios recientes han demostrado que los anaerobios periodontales, principalmente *P. gingivalis*, también desempeñan un importante papel contributivo en enfermedades sistémicas, como la diabetes, la artritis reumatoide, Alzheimer y también se ha establecido una conexión en aterosclerosis ya que esta bacteria penetra en el flujo sanguíneo y provoca la formación de células de espuma (Nelson *et al.*, 2019; Dominy *et al.*, 2019; Johansson *et al.*, 2016).

4.6.1 Rol de *Porphyromonas gingivalis* en enfermedades periodontales

El análisis de las especies bacterianas asociadas con enfermedades periodontales ha revelado un aumento en la abundancia de aquellas pertenecientes al filo Bacteroidetes, con una prevalencia de miembros del "complejo rojo" (*porphyromonas gingivalis*, *tannerella forsythia*, *treponema denticola* y *Agreggatibacter actinomycetemcomitans*), que están relacionados con las características clínicas de las enfermedades periodontales (Xu *et al.*, 2020).

El pH óptimo para el crecimiento de *P. gingivalis* se encuentra dentro del rango de 7.5 a 8.0 (Forng *et al.*, 2000).

Los componentes bacterianos de *Porphyromonas gingivalis* tienen la capacidad de penetrar y causar daño a las células epiteliales, lo que se evidencia por las respuestas inmunológicas locales y sistémicas que se desencadenan contra estos antígenos. Factores como la colagenasa, toxinas macromoleculares, lipopolisacáridos, vesículas de membrana externa y proteasas asociadas pueden penetrar en los tejidos gingivales, provocando una respuesta del huésped que resulta en la destrucción directa del tejido (Orrego-Cardozo *et al.*, 2015b).

Por otra parte, se ha observado que *P. gingivalis* tiene la capacidad de evadir la respuesta del huésped. Su colonización se ve influenciada por la saliva, que actúa como un vehículo para la transmisión y la colonización inicial en el entorno bucal. Además, la película adquirida que cubre las superficies dentales proporciona puntos de anclaje para las fimbrias bacterianas, las cuales también tienen afinidad por otras bacterias que colonizan los tejidos.

Durante el proceso de infección, *P. gingivalis* puede llegar al surco gingival mediante proliferación y difusión, o mediante el transporte de bacterias desalojadas. Además de proporcionar sitios de unión, *P. gingivalis* altera la composición y cantidad de la microbiota comensal, lo que contribuye a la pérdida de hueso alveolar (Cutler *et al.*, 1995; Hajishengallis *et al.*, 2011).

Se ha demostrado además que la bacteria, destruye el tejido conectivo y el hueso alrededor de la raíz del diente, provoca la liberación de interleucina 8 (IL-8) y TNF α , lo que conduce a un aumento en el número y la actividad de los polimorfonucleares (PMN), que causan la producción de ROS como respuesta del huésped a la infección. Como resultado, los pacientes con enfermedad periodontal tienen un aumento en el número y la actividad de los PMN, así como un alto nivel de liberación de ROS, lo que lleva a un aumento del daño oxidativo en el tejido gingival, el ligamento periodontal y el hueso alveolar (López-Valverde *et al.*, 2023; Sculley & Langley-Evans, 2002).

4.6.2 Virulencia de *Porphyromonas gingivalis*

Recientemente se ha demostrado, que *P. gingivalis* se adapta al estrés ambiental presentado por el extracto de humo de cigarrillo (CSE) al alterar la expresión de varios genes y proteínas de la membrana externa que son clave para disminuir su potencial inflamatorio (Bagaitkar *et al.*, 2011).

Las estrategias de supervivencia y patogenicidad de *P. gingivalis* dependen en gran medida de sus diversos factores de virulencia, que incluyen sus propios componentes

estructurales (lipopolisacáridos, fimbrias, hemaglutinina, HmuY ,proteínas de choque térmico, etc.) y componentes secretorios (gingipainas y vesículas de membrana externa) (Xu *et al.*, 2020) Su expresión está relacionada principalmente cuando *P. gingivalis* crece en condiciones ricas en fuentes de hierro y hemo, similares a las que se encuentran en la periodontitis grave (Śmiga *et al.*, s. f. ;Mulhall *et al.*, 2020).

Las fimbrias son cruciales para permitir que *P. gingivalis* se una específicamente a las células eucariotas y a otras especies de bacterias para mejorar la motilidad bacteriana, la formación de biofilm y la invasión bacteriana de las células. También puede actuar en diversas células del huésped y subvertir el aclaramiento inmune del huésped (Enersen *et al.*, 2013).

El lipopolisacárido (LPS) de *P. gingivalis* puede desencadenar la respuesta inmune innata mediante la activación de los receptores tipo Toll (TLRs). El componente lipídico A del LPS de *P. gingivalis* exhibe dos variaciones predominantes de acilación que se atribuyen a diferentes cepas y condiciones microambientales: el LPS penta-acilado activa el TLR4, mientras que el LPS tetra-acilado actúa como antagonista del TLR4 y agonista del TLR2. La proteína de choque térmico 60 (HSP60) de *P. gingivalis* es notablemente inmunogénica y desempeña un papel crítico en las enfermedades autoinmunes inducidas por *P. gingivalis* (Jeong *et al.*, 2012).

Las gingipainas, que consisten en lisina-gingipaina (Kgp) y arginina-gingipaina (Rgp), tienen múltiples impactos tanto en la inmunidad innata como en la adquirida. Estas enzimas desempeñan roles esenciales en la colonización del huésped, la desactivación de la defensa del huésped, la destrucción de tejidos y la adquisición de nutrientes (Xie, 2015). Las vesículas de membrana externa (OMVs) de *P. gingivalis* están enriquecidas en mediadores de virulencia importantes, como gingipainas, LPS y la cápsula, y participan en el desarrollo de biofilm, la interacción con el huésped, la colonización y la evasión de la defensa inmune (Guo *et al.*, 2010).

Además, sus características distintivas, como las gingipainas concentradas, junto con su capacidad para viajar a sitios distantes, podrían participar en trastornos sistémicos asociados a *P. gingivalis* (Gui *et al.*, 2016; Mei *et al.*, 2020).

4.6.3. Expresión de genes de *P. gingivalis*

Los microorganismos típicamente se adaptan a las señales ambientales activando y desactivando la expresión de genes de virulencia, lo que a su vez permite un crecimiento y supervivencia óptimos en diferentes nichos ambientales. Esta estrategia de adaptación incluye detectar y responder a cambios en nutrientes, pH, temperatura, tensión de oxígeno, potencial redox, flora microbiana y osmolaridad. Para que una bacteria pueda adherirse, penetrar, replicarse y colonizar células hospederas, es crítico que los genes de virulencia se expresen durante ciertos períodos del proceso infeccioso (Wright *et al.*, 2013).

Así, a lo largo de las diferentes etapas de una infección, se activan y desactivan diferentes conjuntos de factores de virulencia en respuesta a diferentes señales ambientales, permitiendo que la bacteria se adapte eficazmente a su nicho variable.

El término "factores de virulencia", en un sentido amplio, se ha utilizado para definir cualquier factor bacteriano que confiera a una bacteria la capacidad de adherirse, penetrar, replicarse y colonizar células hospederas (Fornng *et al.*, 2000).

Una respuesta dramática a la formación de biofilm de monoespecie es exhibida por *P. gingivalis*, con un 18% del genoma regulado diferencialmente en comparación con organismos planctónicos. Muchos de los genes regulados están asociados con la biogénesis del envoltorio celular, la replicación del ADN y el metabolismo, apoyando el concepto de que las células en transición del estado planctónico al estado de biofilm exhiben una tasa más baja de crecimiento y metabolismo celular (Lo *et al.*, 2009).

Los genes involucrados en la adhesión y la formación temprana de biofilm, *fimA* y *mfa1*, fueron regulados al alza en biofilm temprana, mientras que *fimA* fue regulado a la

baja en las etapas posteriores (Yamamoto *et al.*, 2011). Las condiciones ambientales predominantes, influenciadas por la dieta o factores externos como lo es la nicotina del tabacco y cigarro electronico pueden tener un papel importante en la regulación de la actividad génica dentro de la comunidad microbiana oral (Bradshaw *et al.*, 1989).

Diferentes azúcares o carbohidratos complejos influyen en la expresión de vías metabólicas específicas y tienen un impacto en los mecanismos que controlan la integridad celular y la secreción de la matriz de biofilm extracelular. El metabolismo de carbohidratos está integrado con sistemas de señalización célula-célula, como la vía del autoinductor-2 (LuxS/AI-2, ver abajo) (Klein *et al.*, 2010).

Una cepa deficiente en LuxS de *S. mutans* se vio afectada en la expresión de genes involucrados en el metabolismo de carbohidratos, reparación del ADN, síntesis de aminoácidos y proteínas y tolerancia al estrés (Wen *et al.*, 2011). Un resultado fenotípico de la pérdida de LuxS es una diferencia fundamental en la arquitectura de la biofilm. La correlación entre los niveles de ARNm y las cantidades de proteínas no siempre es fuerte y, por lo tanto, también es importante comprender la adaptación de la comunidad a nivel de proteoma (Nealson & Hastings, 1979).

P. gingivalis muestra una abundancia diferencial de 47 proteínas cuando se cultiva en condiciones planctónicas versus de biofilm (Ang *et al.*, 2008). Un alto porcentaje de estos cambios estaban asociados con el envoltorio celular. La presencia aumentada de proteínas asociadas con el transporte y metabolismo de hemina indicaba que las células de *P. gingivalis* estaban entrando en un estado de inanición (Ang *et al.*, 2008).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño

En la presente investigación se realizó un estudio de tipo comparativo, abierto, experimental, prospectivo y transversal.

5.2. Universo de estudio.

- Cepa bacteriana *Porphyromonas gingivalis* (ATCC W83) y medios de cultivo.
- *Porphyromonas gingivalis* se incubó a 37 grados antes de su uso. Seguido por el crecimiento durante la noche en el caldo de Tripticaseína de soya.
- Nicotina de tabaco
- Líquido de cigarro electrónico

5.3. Tamaño de la muestra.

El estudio es un ensayo *in vitro*, por lo que las pruebas serán realizadas por triplicado.

5.4. Criterios de selección:

5.4.1. Criterios de Inclusión.

- Se incluirá la cepa *Porphyromonas gingivalis* ATCC W83.
- Líquido de cigarrillo electrónico con nicotina (Ragnarok Legend).
- Cigarrillos Marlboro rojo®.

5.4.2. Criterios de exclusión.

- Líquido de cigarrillo electrónico sin nicotina.
- Cigarrillos de saborizantes artificiales u otra marca que no sea Marlboro rojo.

5.4.3 Criterios de eliminación.

- Cepas contaminadas.
- Tubos contaminados.
- Otras marcas de cigarrillos.
- Otra marca de líquido de cigarrillo electrónico.

5.5 Descripción de procedimiento

5.5.1 Preparación del tabaco

En un matraz de 500ml se colocó 21.32g de tabaco. Se agregaron 250 ml de alcohol metílico (96%) y se colocó en la incubadora orbital a 37 grados durante 2 días. La metilación de tabaco se vertió en 4 cajas de Petri estériles, cubriéndolas con aluminio con pequeños orificios para que así el alcohol etílico se evapora. Una vez ya evaporado el alcohol se procedió a recolectar el concentrado de la nicotina.

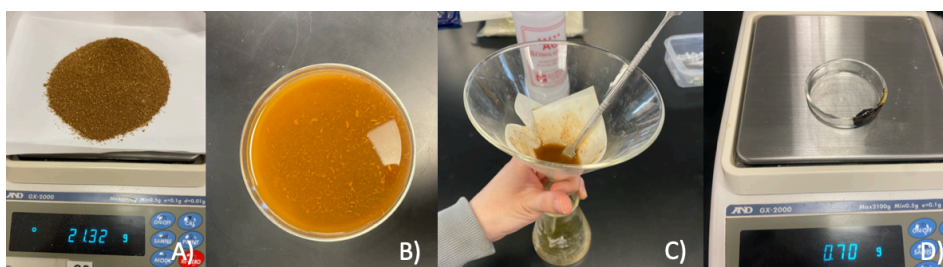


Fig 1 A)Tabaco B)Tabaco con alcohol C)Concentrado de nicotina D)Concentrado de nicotina

5.5.2 Medios de cultivo

En un matraz de 500ml se colocó 300 ml de agua destilada y se agregaron 9 gr de Trypticaseína de soya. Se llevó a la placa agitadora hasta que se creó una mezcla homogénea. Se introdujo a la autoclave para su esterilización y posteriormente se llevó a la campana de flujo para activar la bacteria *Porphyromonas gingivalis*.

5.5.3 Medio de cultivo de Trypticaseína de soya + Nicotina de tabaco

En un matraz de 500 ml se colocaron 300 ml de agua destilada y se agregaron 9 gr de Trypticaseína de soya. Se colocó en la placa agitadora hasta que se creó una mezcla homogénea. Posteriormente se dividen los 300 ml de medio de cultivo en 6 matraces de 50 ml cada uno y se llevan a la campana de flujo y se coloca en cada matraz las concentraciones de nicotina de tabaco (0, 250µg/ml) al 100% y 1/10.. Se colocan en la placa agitadora para poder esterilizar el medio en la autoclave. Una vez terminado el ciclo

de esterilización se llevó de nuevo a la campana de flujo para activar la bacteria *Porphyromonas gingivalis*. Se retiraron 1000 micro litros del medio de cultivo y se colocaron 1000 microlitros de la bacteria.

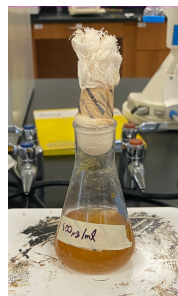


Fig 2 Cultivo de Tripticaseína de soya + Nicotina de tabaco

5.5.4 Medio de cultivo de Tripticaseína de soya + Líquido de cigarrillo electrónico

En un matraz de 500 ml se colocaron 300 ml de agua destilada y se agregaron 9gr de Tripticaseína de soya. Se colocó en la placa agitadora hasta que se creó una mezcla homogénea. Posteriormente se dividen los 300 ml de medio de cultivo en 6 matraces de 50 ml cada uno y se llevan a la campana de flujo y se coloca en cada matraz las concentraciones de nicotina de tabaco (0, 250 μ g/ml) al 100% y 1/10.. Se colocan en la placa agitadora para poder esterilizar el medio en la autoclave. Una vez terminado el ciclo de esterilización se llevó de nuevo a la campana de flujo para activar la bacteria *Porphyromonas gingivalis*. Se retiraron 1000 micro litros del medio de cultivo y se colocaron 1000 micro litros de las bacterias.

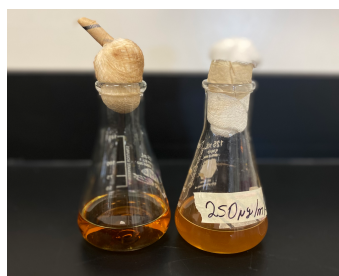


Fig 3 Cultivo de control y Cultivo de Tripticaseína de soya + Nicotina de tabaco

5.5.5 PCR RNA

Pasadas las 24 horas de incubación de las bacterias con el medio de cultivo el siguiente paso es la extracción de RNA, se tomó 1ml de muestra en tubo Eppendorf y se centrifugó

por 90 segundos a 13rpm. Se colocó 1ml de agua estéril y se homogeniza con el vortex y centrifugadora otra vez por 90 segundo. Se repitió ese paso por triplicado.

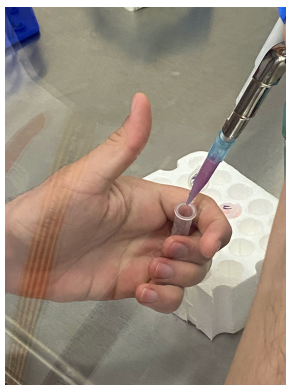


Fig 4 Tubos Eppendorf

Posteriormente se colocó 1 ml de Trisol en cada una de las muestras y se dejó reposar por 5 minutos. Se colocó 0.2 ml de cloroformo y se pone en el vortex, se dejó incubar 15 minutos a temperatura ambiente y luego se centrifuga durante otros 15 minutos a 12 rpm de 2-8°C.

Luego se colocó el RNA con pipeta y se pasó a tubo nuevo, se le colocó 0.5ml de Isopropanol. Se incubó de 5-10 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó por 10 minutos a 12 rpm a temperatura 2 a 8°C.

Se colocó el DNA con pipeta y se pasó a tubo nuevo, se le colocó 0.3ml de Etanol puro y se pone en vortex.

Se incubó de 5-10 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó 5 minutos a 7.5 rpm a temperatura 2 a 8°C.

Se retiró el Isopropanol del tubo y se colocó 1ml de Etanol al 75%, se utilizó el vortex por 10 segundos y se centrifugó a 7,500G por 5 minutos de 2-8°C. Se dejó secar de 5 a 10 minutos en el secado y se agregó agua libre de núcleo.

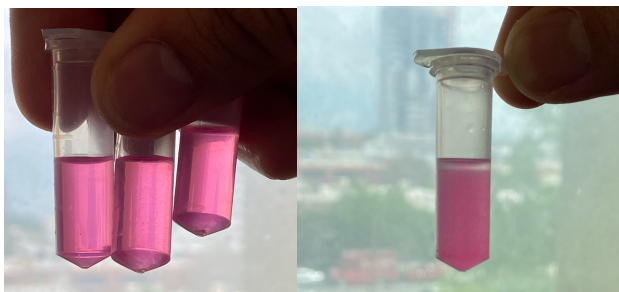


Fig 5 Extracción de RNA y DNA

5.5.6 Clasificación y agrupación de dientes

La selección de los dientes fue al azar. Antes de proceder a realizar los cortes fueron lavados con pasta dental y posteriormente se esterilizaron. Una vez ya limpios se realizaron cortes con disco de diamante, los cortes fueron longitudinales de las raíces de los dientes. Se procedió a lavar los cortes con agua bidestilada y posteriormente secados. El montaje de los cortes obtenidos se realizó sobre un portaobjetos pegándolos con cianocrilato.



Fig 6 Cortes longitudinales de dientes

5.5.7 Medios de cultivo

En un matraz de 500ml se colocó 300 ml de agua destilada y se agregaron 9 gr de Trypticaseína de soya. Se llevó a la placa agitadora hasta que se creó una mezcla

homogénea. Se introdujo a la autoclave para su esterilización y posteriormente se llevó a la campana de flujo para activar la bacteria *Porphyromonas gingivalis*.

5.5.8 Evaluación de la formación de biofilm en el esmalte

Tras la activación de *Porphyromonas gingivalis* y la preparación de los medios con nicotina proveniente de tabaco y de cigarro electrónico, se colocaron en cajas de Petri esterilizadas los cortes de raíces fijados sobre portaobjetos. En tres de las cajas se empleó una concentración de 1.23g al 100 % de nicotina de tabaco y, en otras tres, nicotina de cigarro electrónico al 100 %. Adicionalmente, se prepararon tres cajas con 0.00123gr de concentración de nicotina de tabaco a una dilución 1/10 y tres con nicotina de cigarro electrónico en la misma dilución. Antes de la incubación, se añadieron 1000 µL de la suspensión bacteriana y 1000 µL del medio de cultivo a cada caja de

Petri.

Posteriormente, las cajas se colocaron en la incubadora y se mantuvieron durante 12 horas.



Fig 7 Adición del concentrado de nicotina y medio con *P. gingivalis* en superficie radicular

5.5.9 Tinción de Gram

Pasadas las 24 horas desde la activación de la bacteria la cual fue determinada a través de cinéticas realizadas a *P. gingivalis*, está además calculada a través de la escala de Mc Farland para determinar la proporción de bacterias utilizadas para el experimento.

Se retiraron los grupos de los tubos con las láminas de los cortes de las raíces de los dientes y una vez ya secas y fijadas, se colocó cristal violeta (1 gota en cada diente) y se dejó actuar por un minuto. Se enjuaga con agua corriente. Se colocó yodo lugol y se esperó

1 minuto y se enjuaga de nuevo con alcohol-cetona. Posteriormente se colocó safranina al 0.25% y se permitió reposar durante 1 minuto con enjuague posterior de agua corriente. Se dejaron las laminas con los cortes sobre una superficie a que se secan para después poder llevarlos al microscopio y poder observar los resultados. Evaluación de biofilm: Estereoscopio (10X) + análisis de área con ImageJ.



Fig 8 Protocolo de tinción de Gram en cortes longitudinales de raíces radiculares

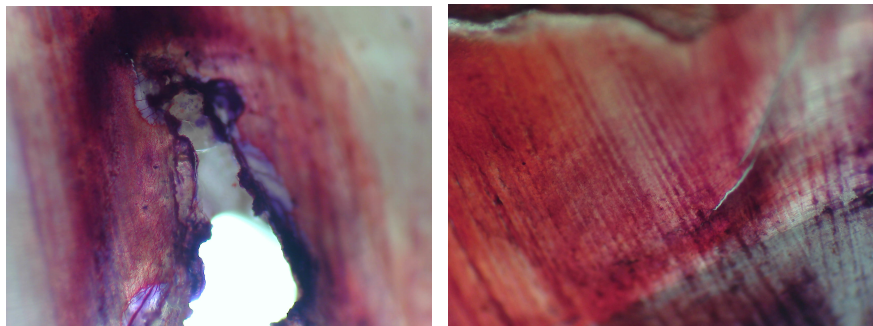


Fig 9 Visualización microscópica del biofilm de cigarro electrónico en raíz radicular tras tinción de Gram

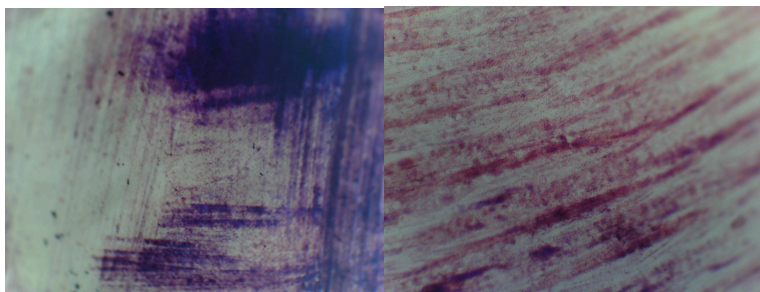


Fig 10. Visualización microscópica del biofilm de tabaco en raíz radicular tras tinción de Gram

5.6 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba t de Student y ANOVA para el análisis de datos de q PCR. Se consideró que $P < 0.001$ era significativamente diferente.

5.7 Consideraciones éticas

“Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, investigación sin riesgo, no requiere consentimiento informado.

Título segundo, Capítulo VI De la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos artículos 59 (obtención, conservación, utilización preparación suministro y destino final.) y 60 (además del debido respeto al cadáver humano, la observación del título decimocuarto en cuanto a la materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos.)

El protocolo de investigación este aprobado por el comité de Bioética SPSI- 010613.

6. RESULTADOS

Esta investigación se realiza con el fin de dar a conocer el comportamiento de los genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en respuesta a ambos tipos de nicotina, comparando los resultados con un grupo control.

6.1 Expresión del Gen 520

El análisis de expresión relativa evidenció que el gen 520 presentó una disminución significativa en presencia de nicotina de tabaco, con respecto al grupo control ($2^{-\Delta\Delta Ct} < 1$; $p < 0.001$). Este hallazgo sugiere que la nicotina ejerce un efecto regulador negativo sobre este gen, el cual se encuentra asociado con un efecto inhibitorio directo sobre los mecanismos asociados a la degradación del tejido conectivo gingival y la destrucción del ligamento periodontal (Patel *et al.*, 2021). Su menor expresión en presencia de nicotina sugiere que esta podría alterar la capacidad invasiva de *P. gingivalis* (Hirano *et al.*, 2012).

6.2 Expresión del gen 538

En contraste, el gen 538 mostró una ligera sobreexpresión bajo la condición de tabaco, en comparación con el control ($2^{-\Delta\Delta Ct} > 1$; $p < 0.001$). Dado que este gen está relacionado con la respuesta inflamatoria, los resultados sugieren que la exposición a nicotina puede favorecer la activación de vías inflamatorias, contribuyendo al establecimiento de un microambiente más propicio para la progresión de la periodontitis y favoreciendo la supervivencia bacteriana en un entorno hostil. Su mayor expresión en el grupo del vapor podría indicar una adaptación de *P. gingivalis* a la exposición de nicotina vaporizada, lo que podría aumentar la inflamación gingival (Park *et al.*, 2004).

6.3 Expresión del gen 1280

El gen 1280 presentó una reducción marcada en sus niveles de expresión en presencia de nicotina ($2^{-\Delta\Delta Ct} < 1$), lo que apunta hacia un efecto inhibitorio significativo. Este gen está implicado con la producción de proteasas que degradan la matriz extracelular, facilitando la invasión bacteriana. Su mayor expresión en el grupo de tabaco sugiere que

la nicotina tradicional podría potenciar la agresividad de *P. gingivalis*, contribuyendo a una mayor destrucción del hueso alveolar y predisposición a la periodontitis severa (Solbiati *et al.*, 2020).

6.4 Expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el grupo control

Se observó que en el grupo que está al 100%, el gen 520 en el grupo control de *P. gingivalis* hubo más incremento en comparación con el de tabaco por 4.94 y en el del vapor por 4.77. Se observó que en el grupo que está diluido 1/10 en el gen 520 en el grupo control de *P. gingivalis* hubo más incremento, en comparación con el de tabaco por 5.77 y en el del vapor por 4.47. En el gen 538 hubo un mayor incremento en el grupo de control por 1.28. en comparación con el grupo vapor y 1.7 con el grupo de tabaco (Tabla 1 y Fig. 1).

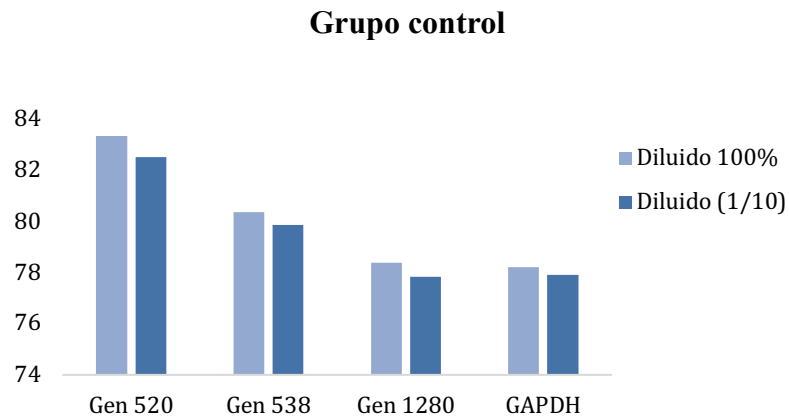


Figura 11. *Grupo control*

6.5 Expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el grupo experimental de tabaco

Se observó que en el grupo que está diluido 100% en el gen 1280 se observó que en el grupo de tabaco hubo un mayor aumento, con el grupo control hay una diferencia de 1.66 en comparación con el del vapor y de 1.09 con el grupo control. En el grupo que está diluido 1/10 en el gen 1280 se observa que en el grupo de tabaco hubo un mayor aumento,

con el grupo control hay una diferencia de 1.15 y en comparación con el del vapor 1.56 (Tabla 1 y Fig. 2).

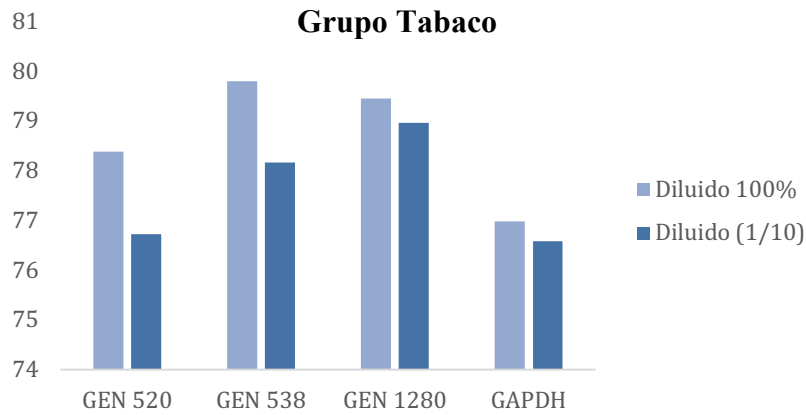


Figura 12. Grupo de cigarro de tabaco

6.6 Expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el grupo experimental de nicotina de cigarro electrónico

En el grupo que esta diluido al 100% en el gen 538 hubo un mayor incremento en el vapor por 0.41 en comparación con el grupo control y 0.96 con el grupo de tabaco (Tabla 1 y Fig. 3).

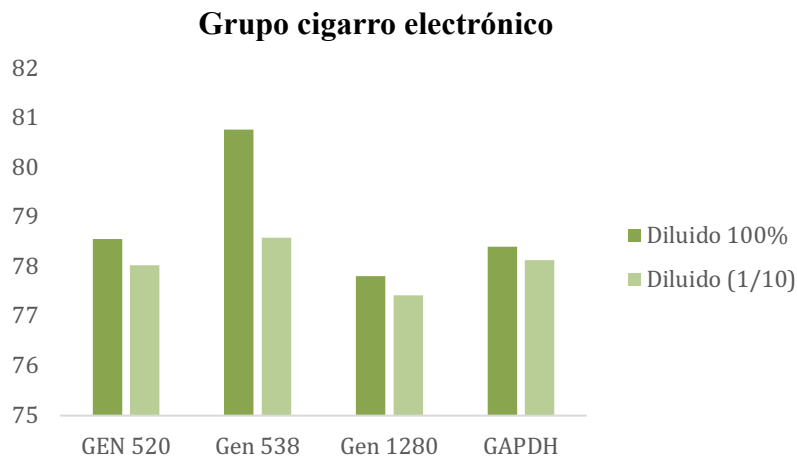


Figura 13. Grupo de cigarro electrónico

6.7 Comparación de expresión de genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* entre grupos

En el Gen 520 con la dilución al 100% el grupo control de *P. gingivalis* mostró un mayor incremento comparado con el grupo de tabaco (4.94) y el grupo del vapor (4.77). Y en la dilución al 1/10 en el grupo control tuvo más incremento frente al tabaco (5.77) y el vapor (4.47) (Tabla 1).

En el Gen 538 con la dilución al 100% se mostró que el incremento fue mayor en el grupo del vapor por 0.41 comparado con el grupo control, y por 0.96 frente al grupo de tabaco. Y en la dilución al 1/10 en el grupo control mostró un incremento mayor por 1.28 frente al grupo del vapor y por 1.7 frente al grupo de tabaco (Tabla 1).

En el Gen 1280 con la dilución al 100% en el grupo de tabaco se mostró el mayor aumento, con una diferencia de 1.66 frente al vapor y de 1.09 frente al grupo control. Y en la dilución al 1/10 el tabaco presentó el mayor aumento, con una diferencia de 1.15 frente al grupo control y de 1.56 frente al vapor (Tabla 1).

Tabla 1

Resultados de expresión de genes en dilución al 100% y 1/10%

Dilución	100%					(1/10)				
Gen	520	538	1280	16s	GAPDH	520	538	1280	16S	GAPDH
Tabaco	78.39	79.81	79.47	82.6	76.99	76.73	78.17	78.98	82.16	76.59
Vaper	78.56	80.77	77.81	78.27	78.4	78.03	78.59	77.42	77.91	78.13
<i>Pg</i>	83.33	80.36	78.38	81.41	78.2	82.5	79.87	77.83	81.12	77.9

En el valor de la prueba T student (p) hubo un cambio significativo de 0.001% en el gen 520 con respecto al gen calibrado GAPDH.

6.8 Formación de biofilm en concentración 1/10

En la concentración al 10 %, las áreas pigmentadas de *Porphyromonas gingivalis* mostraron promedios semejantes entre las fuentes de nicotina evaluadas. El grupo

expuesto al cigarro electrónico presentó un área media de $297,545 \mu\text{m}^2 (\pm 154,146)$, mientras que en el grupo tratado con tabaco el promedio fue de $246,186 \mu\text{m}^2 (\pm 2,291)$.

La prueba t de Student indicó que esta diferencia no es significativa ($p = 0.684$). Aunque la media del grupo de cigarro electrónico fue mayor, la variabilidad de los datos en este grupo fue amplia, lo que disminuyó la posibilidad de detectar significancia estadística.

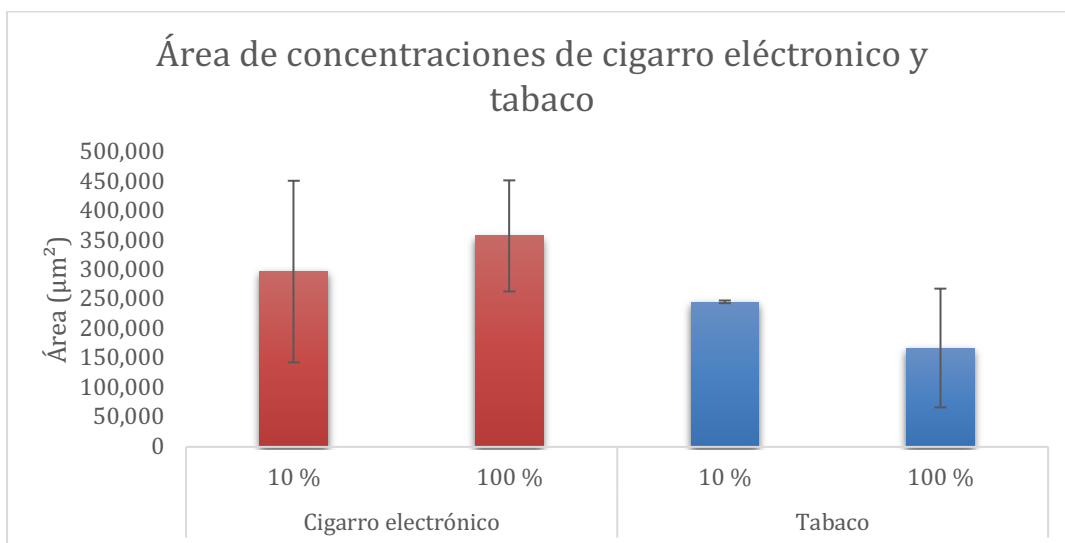


Figura 14. Área de concentraciones del grupo de cigarro electrónico y tabaco

6.9 Formación de biofilm en concentración 100%

En la concentración 100%, se observaron diferencias más marcadas. El grupo de cigarro electrónico alcanzó un área promedio de $358,099 \mu\text{m}^2 (\pm 94,266)$, mientras que el grupo de tabaco presentó un área media de $167,846 \mu\text{m}^2 (\pm 100,752)$. En términos comparativos, la nicotina proveniente del cigarro electrónico favoreció consistentemente una mayor formación de biofilm en ambas concentraciones evaluadas, siendo esta diferencia más pronunciada en la concentración al 100%.

A pesar de la diferencia evidente en los promedios, la prueba t de Student tampoco mostró significancia estadística ($p = 0.720$). Esto indica que la mayor formación de

biofilm con cigarro electrónico corresponde a una tendencia y no a un hallazgo concluyente.

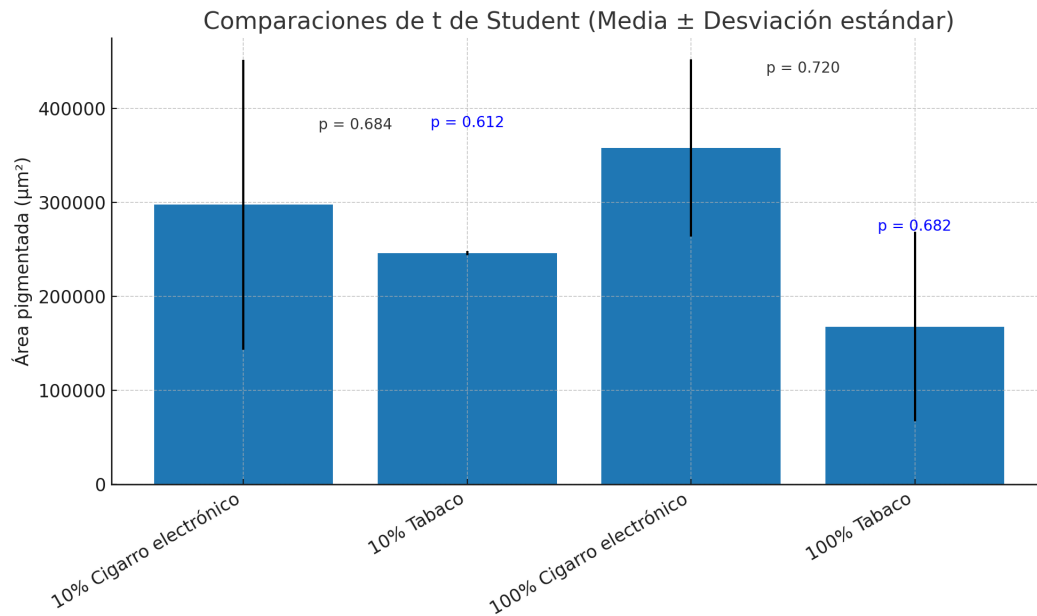


Figura 15 Comparación de medias $\pm$ desviación estándar del área pigmentada de *Porphyromonas gingivalis* en los grupos experimentales.

NICOTINA

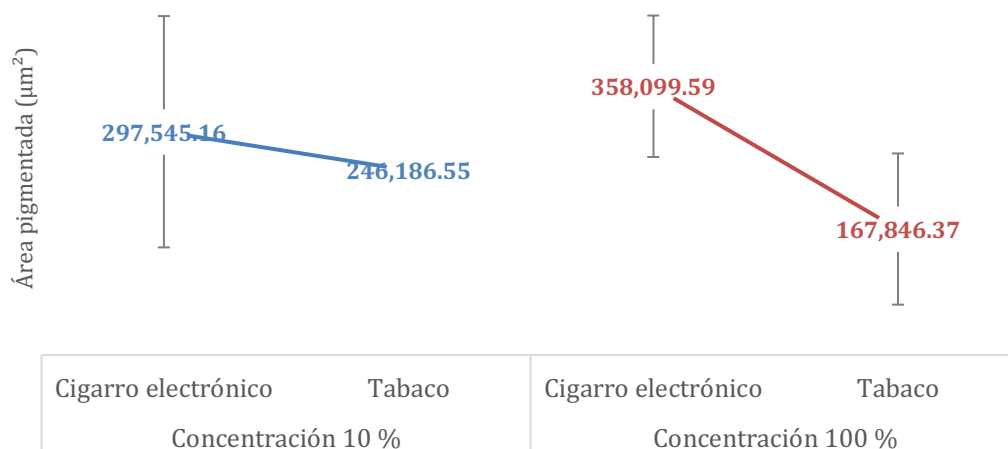


Figura 16. Comparación de la formación de biofilm entre grupos de nicotina de tabaco y cigarro electrónico (100% y 1/10)

7. DISCUSIÓN

Los genes estudiados en *Porphyromonas gingivalis* están involucrados en mecanismos que afectan la patogenicidad de la bacteria y su impacto sobre los tejidos periodontales. La presente investigación exploró la modulación genética de *Porphyromonas gingivalis* en respuesta a la exposición a nicotina proveniente del tabaco convencional y del cigarro electrónico, y sus implicaciones en la patogenicidad periodontal.

En este estudio se observó que el gen 520 presentó una disminución significativa de expresión en presencia de nicotina, tanto en tabaco como en cigarro electrónico, en comparación con el grupo control. En la dilución al 100 %, el control mostró valores 4.94 veces más altos que tabaco y 4.77 veces más que vapor, mientras que en la dilución 1/10 la diferencia fue aún mayor 5.77 y 4.47 veces más, respectivamente; $p < 0.001$. Estos resultados sugieren que la nicotina actúa como un regulador negativo, reduciendo la expresión de este gen y con ello la capacidad de *P. gingivalis* de participar en procesos asociados a la destrucción del tejido conectivo gingival. Comparando con lo descrito por Lihui (2005), se observa un comportamiento opuesto, ya que en el mutante *luxS* este mismo gen fue sobreexpresado 2.26 veces en microarreglos y 3.14 veces en PCR en tiempo real. Esto indica que mientras la ausencia de *luxS* activa al gen 520 como respuesta de adaptación, la nicotina lo inhibe, reduciendo potencialmente la capacidad invasiva bacteriana (Lihui, 2005).

En contraste, el gen 538 mostró una ligera sobreexpresión bajo la influencia de nicotina. En la concentración al 100 %, el grupo de cigarro electrónico presentó un incremento de 0.41 veces frente al control y de 0.96 frente al tabaco. Aunque en la dilución 1/10 el control tuvo valores superiores 1.28 veces más que vapor y 1.7 más que tabaco, la tendencia en el grupo de nicotina vaporizada fue hacia una mayor activación. Dado que este gen se asocia con procesos inflamatorios, su incremento podría indicar una adaptación de *P. gingivalis* a la exposición de nicotina, favoreciendo un microambiente proinflamatorio. Estos resultados concuerdan parcialmente con lo reportado por Lihui (2005), quien encontró que el gen 538 estaba sobreexpresado en el mutante *luxS* hasta

4.05 veces más en PCR, reforzando la idea de que tanto la nicotina como la ausencia de *luxS* pueden estimular mecanismos que incrementan la supervivencia bacteriana en condiciones adversas (Lihui, 2005).

Por otro lado, el gen 1280 mostró incrementos significativos principalmente en el grupo de tabaco. En la dilución al 100 %, los niveles fueron 1.66 veces más altos que en vapor y 1.09 veces más que en el control; en la dilución 1/10 también se observaron diferencias relevantes 1.56 veces más que vapor y 1.15 más que control; $p < 0.001$. Esto sugiere que la nicotina del tabaco potencia la expresión de este gen, posiblemente incrementando la agresividad de *P. gingivalis* y contribuyendo a la destrucción tisular asociada a periodontitis. En contraste, Lihui (2005) encontró que este gen se regulaba a la baja en el mutante *luxS*, con una reducción cercana al 50 % de su nivel normal. Estas diferencias muestran que la regulación de este gen depende fuertemente del estímulo: mientras la ausencia de *luxS* reprime su expresión, la exposición a nicotina, especialmente la del tabaco, lo estimula (Lihui, 2005).

En el presente estudio, el gen 520 mostró una disminución significativa en presencia de nicotina, tanto de tabaco como de cigarro electrónico, con reducciones de hasta 5.7 y 4.4 veces frente al control en dilución 1/10 ($p < 0.001$). Este hallazgo sugiere un efecto inhibitorio sobre los mecanismos asociados a la degradación del tejido conectivo gingival. En contraste, De la Garza-Ramos *et al.* (2011) reportaron que este gen (PG0520) se incrementó de forma importante al co-cultivarse con *Streptococcus intermedius*, alcanzando valores de hasta 3.1 veces más que en cultivo puro, lo que confirma que la regulación de este locus depende fuertemente del microambiente bacteriano (De La Garza-Ramos *et al.*, 2011).

En cuanto al gen 538, en nuestro modelo se observó una ligera sobreexpresión, más marcada en el grupo de cigarro electrónico, mientras que el tabaco presentó valores menores. Estos cambios, aunque modestos, apuntan hacia la activación de vías inflamatorias. De manera consistente, De la Garza-Ramos *et al.* (2011) evidenciaron un aumento mucho mayor en este gen (PG0538), con valores que alcanzaron 8.89 veces en

condiciones de co-cultivo, lo que refuerza su papel como un marcador de adaptación a condiciones de estrés y potenciador de la inflamación (De La Garza-Ramos *et al.*, 2011).

Finalmente, el gen 1280 mostró en nuestro análisis una mayor expresión en el grupo de tabaco, con diferencias de hasta 1.66 veces frente al vapor y 1.09 frente al control. Este resultado indica que la nicotina tradicional podría potenciar la agresividad de *P. gingivalis* al favorecer la degradación de matriz extracelular. De forma semejante, De la Garza-Ramos *et al.* (2011) documentaron que este gen (PG1280) también se incrementa en condiciones de interacción bacteriana, alcanzando hasta 5.02 veces en co-cultivo, lo cual confirma que tanto factores químicos como microbianos modulan su expresión y, con ello, la capacidad destructiva de la bacteria (De La Garza-Ramos *et al.*, 2011).

En el segundo estudio, se observó una tendencia hacia mayor área de biofilm en los grupos expuestos a nicotina de cigarro electrónico, tanto en 100 % ($358,099 \mu\text{m}^2 \pm 94,266$ vs. $167,846 \mu\text{m}^2 \pm 100,752$ en tabaco; $p = 0.720$) como en 1/10 ($297,545 \mu\text{m}^2 \pm 154,146$ en vapor vs. $246,186 \mu\text{m}^2 \pm 2,291$ en tabaco; $p = 0.684$). ArRejaie *et al.* (2024) obtuvieron un patrón similar al evaluar la formación de biofilm de *P. gingivalis* en presencia de extractos de humo de tabaco y vapor de cigarro electrónico, encontrando que ambos estímulos aumentaban la biomasa respecto al control, pero sin diferencias significativas entre fuentes. Li *et al.* (2025) reportaron, en un modelo polimicrobiano con flujo salival simulado, que el aerosol de cigarro electrónico generó un aumento significativo de la biofilm total, incluso superior al del tabaco, lo que atribuyeron a la presencia de compuestos higroscópicos como glicerina y propilenglicol. (Y. Li & Hecht, 2022) (ArRejaie *et al.* 2024).

En el estudio de Bagaitkar *et al.* (2011), se evaluó el efecto del humo de tabaco en la formación de biofilm de *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus gordonii*. Los resultados mostraron que la exposición al humo de tabaco aumentó significativamente la formación de microcolonias de biofilm en comparación con los controles, tanto en número como en altura promedio, con valores de $p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente. Además, se observó un incremento en la expresión de la proteína fimbrial principal FimA en *P. gingivalis* expuesta al humo de tabaco, lo que favoreció la interacción con *S. gordonii* y

la formación del biofilm dual. Por otro lado, la exposición al humo de tabaco redujo la capacidad proinflamatoria del biofilm de *P. gingivalis*, con niveles de TNF- α e IL-6 significativamente más bajos en comparación con los controles ($p < 0.01$) (Bagaitkar *et al.*, 2011).

Estos hallazgos sugieren que el humo de tabaco promueve la formación de biofilm de *P. gingivalis* y *S. gordonii* al aumentar la expresión de FimA y favorecer las interacciones interbacterianas, mientras que reduce la respuesta inflamatoria asociada al biofilm. Comparando estos resultados con los obtenidos en tu estudio, donde se observó una tendencia hacia mayor área de biofilm en los grupos expuestos a nicotina de cigarro electrónico, tanto en 100 % como en 1/10, aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.720$ y $p = 0.684$, respectivamente), se puede inferir que la nicotina en los cigarrillos electrónicos podría tener un efecto similar al humo de tabaco en la formación de biofilm de *P. gingivalis* (Bagaitkar *et al.*, 2011).

En este estudio se empleó una concentración total de 1.23 g de nicotina (1,230 mg), lo que permite dimensionar la magnitud de la exposición en términos de productos de consumo habituales. Considerando que un cigarrillo tradicional aporta en promedio 1–1.5 mg de nicotina absorbida, la cantidad utilizada equivale aproximadamente a 820–1,230 cigarrillos. En el caso de los cigarrillos electrónicos, la equivalencia depende de la concentración de nicotina y la capacidad de los dispositivos; en promedio, esta dosis correspondería a un rango cercano a 12,000–15,000 inhalaciones (puffs) en algunas presentaciones comerciales de alta concentración. De manera complementaria, también se empleó una dosis menor de 0.0023 g (2.3 mg) de nicotina, la cual corresponde aproximadamente al consumo de 1–2 cigarrillos tradicionales o 20–30 inhalaciones de cigarrillo electrónico, dependiendo de la concentración del dispositivo. Estas estimaciones permiten contextualizar que la exposición experimental abarcó tanto dosis altas como bajas de nicotina, evidenciando la dificultad de establecer una equivalencia uniforme entre cigarrillos convencionales y electrónicos debido a la variabilidad en sus formulaciones y diseños (Ann Tee-Melegrito, 2023).

Nuestros datos, que evidenciaron un área de biofilm mayor en cigarro electrónico (297,545 μm^2 a 10 % y 358,099 μm^2 a 100 %) en comparación con tabaco (246,186 μm^2 y 167,846 μm^2 , respectivamente), así como diferencias en la expresión génica —con una reducción de hasta 5.7 veces en el gen 520 frente al control, una ligera sobreexpresión en el gen 538 (0.41 veces más en vapor que en control a 100 %), y un incremento notable en el gen 1280 en tabaco (1.66 veces más que vapor a 100 %) — apoyan la hipótesis de que el cigarro electrónico no es microbiológicamente más seguro, ya que puede estimular vías de virulencia equivalentes o superiores al tabaco.

Estos hallazgos tienen implicaciones relevantes para la salud periodontal, dado que la virulencia de *P. gingivalis* no depende únicamente de la biomasa del biofilm, sino también de la expresión de factores de adhesión, resistencia y destrucción tisular. En este sentido, la combinación de análisis fenotípicos y moleculares proporciona una visión más completa del riesgo. Los resultados aportan evidencia a la creciente discusión sobre los efectos del cigarro electrónico, indicando que su impacto bacteriano podría ser comparable al del tabaco convencional, pero que se requiere de estudios adicionales, con un mayor tamaño de muestra y condiciones experimentales que simulen más fielmente el ambiente oral, para confirmar estas observaciones.

8. CONCLUSIÓN

El presente estudio permite comprender el comportamiento de los genes 520, 538 y 1280 de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en respuesta a la exposición a nicotina proveniente del tabaco y del cigarro electrónico, en comparación con un grupo control. Los resultados obtenidos muestran que la expresión de estos genes varía significativamente según el tipo de nicotina a la que está expuesta la bacteria, lo que sugiere que la nicotina desempeña un papel importante en la regulación génica de *P. gingivalis* y en su potencial patogénico dentro del entorno periodontal.

El gen 520 mostró una mayor expresión en el grupo control en comparación con los grupos expuestos a nicotina de tabaco y nicotina de cigarro electrónico. Esto indica que la presencia de nicotina puede modular negativamente la expresión de este gen, lo que podría tener implicaciones en la adhesión bacteriana y la colonización de la biofilm subgingival. Dado que este gen está involucrado en la regulación de mecanismos de virulencia, su menor expresión podría influir en la capacidad de la bacteria para persistir en el medio oral y provocar daños en los tejidos periodontales.

El gen 538 presentó un aumento significativo en su expresión en el grupo expuesto a vapeo en comparación con el grupo control y el grupo expuesto a tabaco. Este hallazgo sugiere que la nicotina presente en los cigarros electrónicos podría inducir cambios en la actividad de *P. gingivalis*, favoreciendo la expresión de genes relacionados con la inflamación y la destrucción del tejido periodontal. Este gen se asocia con la regulación de proteasas implicadas en la degradación de la matriz extracelular y la disrupción de la integridad gingival, lo que podría explicar su incremento en presencia de nicotina de vapeo y su posible participación en la progresión de la periodontitis.

Por otro lado, el gen 1280 exhibió una mayor expresión en el grupo expuesto a tabaco, con diferencias significativas respecto al grupo de vapeo y el grupo control. Este gen está relacionado con la regulación de factores de virulencia clave para la supervivencia de *P.*

gingivalis en un ambiente hostil, lo que sugiere que la exposición a la nicotina del tabaco podría potenciar la agresividad de esta bacteria dentro del ecosistema periodontal. Su sobreexpresión en presencia de tabaco indica que la nicotina de origen convencional puede generar un entorno favorable para la proliferación bacteriana, exacerbando los daños en el tejido gingival y favoreciendo la progresión de la enfermedad periodontal.

Los resultados de la investigación refuerzan la hipótesis de que la nicotina, independientemente de su origen, es un factor determinante en la modulación de la expresión génica de *P. gingivalis*, afectando su virulencia y su capacidad de causar daño en los tejidos periodontales. Sin embargo, se observan diferencias en la respuesta bacteriana según la fuente de nicotina. La nicotina del cigarro electrónico parece inducir la expresión de genes asociados con la inflamación y la destrucción del tejido, mientras que la nicotina del tabaco promueve la expresión de genes vinculados con la supervivencia y la virulencia bacteriana. Esto sugiere que, si bien ambos tipos de nicotina pueden agravar la enfermedad periodontal, sus mecanismos de acción podrían ser distintos y merecen una investigación más profunda.

Los hallazgos de esta investigación tienen implicaciones clínicas relevantes, ya que evidencian el impacto del consumo de nicotina en la microbiota oral y en la progresión de la enfermedad periodontal. La modulación de la expresión génica de *P. gingivalis* podría ser un factor clave en la exacerbación de la periodontitis en pacientes fumadores, ya sea de tabaco tradicional o de cigarro electrónico. Además, los resultados resaltan la necesidad de estrategias preventivas y terapéuticas dirigidas a reducir los efectos de la nicotina en la salud periodontal, así como la importancia de la educación del paciente sobre los riesgos asociados al consumo de nicotina en cualquier forma.

Además en el segundo estudio en el cual se analizó la formación de biofilm de *Porphyromonas gingivalis* en presencia de nicotina proveniente de tabaco convencional y cigarro electrónico, a concentraciones del 10 % y del 100 %, los resultados obtenidos mediante la prueba t de Student mostraron que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre los grupos evaluados.

A pesar de ello, se identificaron tendencias relevantes: el cigarro electrónico presentó valores promedio más elevados de biofilm en ambas concentraciones, mientras que el tabaco mostró una reducción al pasar de 10 % a 100 %. Estas observaciones sugieren que, aunque la nicotina del cigarro electrónico no evidenció un efecto concluyente en este modelo experimental, podría favorecer una mayor formación de biofilm en comparación con el tabaco.

La falta de significancia estadística puede atribuirse al número reducido de muestras y a la alta variabilidad en los grupos, particularmente en los expuestos a cigarro electrónico. Por lo tanto, los resultados deben interpretarse como tendencias preliminares y no como conclusiones definitivas.

En conjunto, los hallazgos refuerzan la necesidad de continuar investigando el impacto del cigarro electrónico sobre la microbiota oral y su potencial relación con la patogenicidad de *P. gingivalis*. Estudios futuros con mayor tamaño de muestra, modelos polimicrobianos y condiciones experimentales más cercanas a la cavidad oral permitirán esclarecer si el cigarro electrónico constituye un factor de riesgo equiparable o incluso superior al tabaco en el desarrollo de enfermedad periodontal.

9. LITERATURA CITADA

- Abisado, R. G., Benomar, S., Klaus, J. R., Dandekar, A. A., & Chandler, J. R. (2018). Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBio*, 9(3), 10.1128/mbio.02331-17. <https://doi.org/10.1128/mbio.02331-17>
- Akinkugbe, A. A., Slade, G. D., Divaris, K., & Poole, C. (2016). Systematic Review and Meta-analysis of the Association Between Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Periodontitis Endpoints Among Nonsmokers. *Nicotine & Tobacco Research*, 18(11), 2047-2056. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw105>
- Ang, C.-S., Veith, P. D., Dashper, S. G., & Reynolds, E. C. (2008). Application of 16O/18O reverse proteolytic labeling to determine the effect of biofilm culture on the cell envelope proteome of *Porphyromonas gingivalis* W50. *Proteomics*, 8(8), 1645-1660. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700557>
- Ann Tee-Melegrito. (2023, julio 5). *Amount of nicotine in one cigarette*. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/how-much-nicotine-is-in-one-cigarette>
- Azimi, S., Klementiev, A. D., Whiteley, M., & Diggle, S. P. (2020). Bacterial Quorum Sensing During Infection. *Annual Review of Microbiology*, 74(Volume 74, 2020), 201-219. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-032020-093845>
- Bagaitkar, J., Daep, C. A., Patel, C. K., Renaud, D. E., Demuth, D. R., & Scott, D. A. (2011). Tobacco Smoke Augments *Porphyromonas gingivalis*—*Streptococcus gordonii* Biofilm Formation. *PLoS ONE*, 6(11), e27386. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027386>
- Bagaitkar, J., Williams, L. R., Renaud, D. E., Bemakanakere, M. R., Scott, D. A., & Demuth, D. R. (2009). Tobacco-induced alterations to *Porphyromonas gingivalis*-host interactions. *Environmental microbiology*, 11(5), 1242-1253. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01852.x>
- Baker, R. R., Massey, E. D., & Smith, G. (2004). An overview of the effects of tobacco ingredients on smoke chemistry and toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 53-83. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.01.001>
- Balfour, D. J. K., Benowitz, N. L., Colby, S. M., Hatsukami, D. K., Lando, H. A., Leischow, S. J., Lerman, C., Mermelstein, R. J., Niaura, R., Perkins, K. A., Pomerleau, O. F., Rigotti, N. A., Swan, G. E., Warner, K. E., & West, R. (2021). Balancing Consideration of the Risks and Benefits of E-Cigarettes. *American Journal of Public Health*, 111(9), 1661-1672. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2021.306416>
- Ballén, M. A., Jagua Gualdrón, A., Álvarez, D. L., & Rincón, A. (2006). EL CIGARRILLO: IMPLICACIONES PARA LA SALUD. *Revista de la Facultad de Medicina*, 54(3), 191-205.

- Bhat, T. A., Kalathil, S. G., Leigh, N., Hutson, A., Goniewicz, M. L., & Thanavala, Y. M. (2023). Do alternative tobacco products induce less adverse respiratory risk than cigarettes? *Respiratory Research*, 24, 261. <https://doi.org/10.1186/s12931-023-02568-2>
- Bradshaw, D. J., McKee, A. S., & Marsh, P. D. (1989). Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities in vitro. *Journal of Dental Research*, 68(9), 1298-1302. <https://doi.org/10.1177/00220345890680090101>
- Brunnemann, K. D., Kagan, M. R., Cox, J. E., & Hoffmann, D. (1989). Determination of benzene, toluene and 1,3-butadiene in cigarette smoke by GC-MSD. *Experimental Pathology*, 37(1), 108-113. [https://doi.org/10.1016/S0232-1513\(89\)80026-X](https://doi.org/10.1016/S0232-1513(89)80026-X)
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L. C., Jepsen, S., Kornman, K. S., Mealey, B. L., Papapanou, P. N., Sanz, M., & Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Periodontology*, 89(S1), S1-S8. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0157>
- Chaffee, B. W., Couch, E. T., Vora, M. V., & Holliday, R. S. (2021). Oral and Periodontal Implications of Tobacco and Nicotine Products. *Periodontology 2000*, 87(1), 241-253. <https://doi.org/10.1111/prd.12395>
- Chapple, I. L. C., Van der Weijden, F., Doerfer, C., Herrera, D., Shapira, L., Polak, D., Madianos, P., Louropoulou, A., Machtei, E., Donos, N., Greenwell, H., Van Winkelhoff, A. J., Eren Kuru, B., Arweiler, N., Teughels, W., Aimetti, M., Molina, A., Montero, E., & Graziani, F. (2015). Primary prevention of periodontitis: Managing gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(S16), S71-S76. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12366>
- Cichońska, D., Kusiak, A., Kochańska, B., Ochocińska, J., & Świetlik, D. (2019). Influence of Electronic Cigarettes on Selected Antibacterial Properties of Saliva. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(22), 4433. <https://doi.org/10.3390/ijerph16224433>
- Counts, M. E., Hsu, F. S., Laffoon, S. W., Dwyer, R. W., & Cox, R. H. (2004). Mainstream smoke constituent yields and predicting relationships from a worldwide market sample of cigarette brands: ISO smoking conditions. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 111-134. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2003.12.005>
- Counts, M. E., Morton, M. J., Laffoon, S. W., Cox, R. H., & Lipowicz, P. J. (2005). Smoke composition and predicting relationships for international commercial cigarettes smoked with three machine-smoking conditions. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41(3), 185-227. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2004.12.002>
- Cuadra, G. A., Smith, M. T., Nelson, J. M., Loh, E. K., & Palazzolo, D. L. (2019). A Comparison of Flavorless Electronic Cigarette-Generated Aerosol and Conventional Cigarette Smoke on the Survival and Growth of Common Oral Commensal Streptococci. *International Journal of Environmental Research and Public Health*,

16(10), 1669. <https://doi.org/10.3390/ijerph16101669>

- Cutler, C. W., Kalmar, J. R., & Genco, C. A. (1995). Pathogenic strategies of the oral anaerobe, *Porphyromonas gingivalis*. *Trends in Microbiology*, 3(2), 45-51. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)88874-5](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)88874-5)
- D'Ambrosio, F., Pisano, M., Amato, A., Iandolo, A., Caggiano, M., & Martina, S. (2022). Periodontal and Peri-Implant Health Status in Traditional vs. Heat-Not-Burn Tobacco and Electronic Cigarettes Smokers: A Systematic Review. *Dentistry Journal*, 10(6), 103. <https://doi.org/10.3390/dj10060103>
- Darveau, R. P., Hajishengallis, G., & Curtis, M. A. (2012). *Porphyromonas gingivalis* as a potential community activist for disease. *Journal of Dental Research*, 91(9), 816-820. <https://doi.org/10.1177/0022034512453589>
- De La Garza-Ramos, M. A., Alcázar-Pizaña, A., Garza-Enriquez, M., Caffesse, R., Aguirre-Arzola, V., Galán-Wong, L. J., & Pereyra-Alfárez, B. (2011). *Streptococcus intermedius* trigger quorum-sensing genes in *Porphyromonas gingivalis*. *Microorganisms in Industry and Environment*, 518-521. https://doi.org/10.1142/9789814322119_0113
- Dobaradaran, S., Schmidt, T. C., Lorenzo-Parodi, N., Jochmann, M. A., Nabipour, I., Raeisi, A., Stojanović, N., & Mahmoodi, M. (2019). Cigarette butts: An overlooked source of PAHs in the environment? *Environmental Pollution*, 249, 932-939. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.097>
- Dobaradaran, S., Schmidt, T. C., Lorenzo-Parodi, N., Kaziur-Cegla, W., Jochmann, M. A., Nabipour, I., Lutze, H. V., & Telgheder, U. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) leachates from cigarette butts into water. *Environmental Pollution*, 259, 113916. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113916>
- Dominy, S. S., Lynch, C., Ermini, F., Benedyk, M., Marczyk, A., Konradi, A., Nguyen, M., Haditsch, U., Raha, D., Griffin, C., Holsinger, L. J., Arastu-Kapur, S., Kaba, S., Lee, A., Ryder, M. I., Potempa, B., Mydel, P., Hellvard, A., Adamowicz, K., ... Potempa, J. (2019). *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Science Advances*, 5(1), eaau3333. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau3333>
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.2.167-193.2002>
- Enersen, M., Nakano, K., & Amano, A. (2013). *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Journal of Oral Microbiology*, 5(1), 20265. <https://doi.org/10.3402/jom.v5i0.20265>
- Etemadi, A., Poustchi, H., Chang, C. M., Calafat, A. M., Blount, B. C., Bhandari, D., Wang, L., Roshandel, G., Alexandridis, A., Botelho, J. C., Xia, B., Wang, Y., Sosnoff, C. S., Feng, J., Nalini, M., Khoshnia, M., Pourshams, A., Sotoudeh, M., Gail, M. H., ... Freedman, N. D. (2023). Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, volatile organic

- compounds, and tobacco-specific nitrosamines and incidence of esophageal cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 116(3), 379-388.
<https://doi.org/10.1093/jnci/djad218>
- Farias, R. N., Dias, I. L. B., Souza, L. F. de, Nóbrega, C. E. de S. P., Moreira, I. V. de Q., Farias, E. G., Alencar, M. L. de, Andrade, I. E. N. de, Ricarte, R. J. D., Ancelmo, J. G. T., Carvalho, A. de S. L., & Carolino, R. de A. (2024). Influência do tabagismo na microflora das vias aéreas. *Brazilian Journal of Health Review*, 7(1), 6903-6914.
<https://doi.org/10.34119/bjhrv7n1-562>
- Ford, P. J., & Rich, A. M. (2021). Tobacco Use and Oral Health. *Addiction*, 116(12), 3531-3540. <https://doi.org/10.1111/add.15513>
- Fornig, R., Champagne, C., Simpson, W., & Genco, C. (2000). Oral Microbiology: Environmental cues and gene expression in *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Diseases*, 6(6), 351-365.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2000.tb00127.x>
- Gaiha, S. M., Lin, C., Lempert, L. K., & Halpern-Felsher, B. (2022). Use Patterns, Flavors, Brands, and Ingredients of Nonnicotine e-Cigarettes Among Adolescents, Young Adults, and Adults in the United States. *JAMA Network Open*, 5(5), e2216194.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.16194>
- Ganesan, S. M., Dabdoub, S. M., Nagaraja, H. N., Scott, M. L., Pamulapati, S., Berman, M. L., Shields, P. G., Wewers, M. E., & Kumar, P. S. (2020). Adverse effects of electronic cigarettes on the disease-naïve oral microbiome. *Science Advances*, 6(22), eaaz0108.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz0108>
- GBD 2019 Risk Factors Collaborators. (2020). Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)*, 396(10258), 1223-1249.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2)
- Gui, M. J., Dashper, S. G., Slakeski, N., Chen, Y. -Y., & Reynolds, E. C. (2016). Spheres of influence: *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles. *Molecular Oral Microbiology*, 31(5), 365-378. <https://doi.org/10.1111/omi.12134>
- Guo, Y., Nguyen, K.-A., & Potempa, J. (2010). Dichotomy of gingipains action as virulence factors: From cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontology 2000*, 54(1), 15-44.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00377.x>
- Haghighi, F., Andriasian, L., Tran, N. C., & Lux, R. (2022). Effect of Cigarette and E-Cigarette Smoke Condensates on *Candida albicans* Biofilm Formation and Gene Expression. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(8), 4626.
<https://doi.org/10.3390/ijerph19084626>
- Hajishengallis, G., Liang, S., Payne, M. A., Hashim, A., Jotwani, R., Eskandari, M. A., McIntosh, T. L., et al. (2015). The oral microbiome: A key player in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 67(1), 1-13.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2015.00377.x>

- M. L., Alsam, A., Kirkwood, K. L., Lambris, J. D., Darveau, R. P., & Curtis, M. A. (2011). Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host & Microbe*, 10(5), 497-506. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.006>
- Hall-Stoodley, L., & Stoodley, P. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular Microbiology*, 11(7), 1034-1043. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01323.x>
- Han, Y. (2021). Effects of cigarette smoking on the growth of Streptococcus mutans biofilms: An in vitro study. *PLoS ONE*, 16(11), e0259895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259895>
- Hecht, S. S. (2003). Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 3(10), 733-744. <https://doi.org/10.1038/nrc1190>
- Hirano, T., Beck, D. A. C., Demuth, D. R., Hackett, M., & Lamont, R. J. (2012). Deep Sequencing of Porphyromonas gingivalis and Comparative Transcriptome Analysis of a LuxS Mutant. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 79. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00079>
- Holliday, R., Chaffee, B. W., Jakubovics, N. S., Kist, R., & Preshaw, P. M. (2021). Electronic Cigarettes and Oral Health. *Journal of Dental Research*, 100(9), 906-913. <https://doi.org/10.1177/00220345211002116>
- Holmstrup, P., Plemons, J., & Meyle, J. (2018). Non-plaque-induced gingival diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(S20), S28-S43. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12938>
- Hong, S. W., Teesdale-Spittle, P., Page, R., & Truman, P. (2022). A review of monoamine oxidase (MAO) inhibitors in tobacco or tobacco smoke. *NeuroToxicology*, 93, 163-172. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2022.09.008>
- Huang, R., Li, M., Ye, M., Yang, K., Xu, X., & Gregory, R. L. (2014). Effects of Nicotine on Streptococcus gordonii Growth, Biofilm Formation, and Cell Aggregation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(23), 7212-7218. <https://doi.org/10.1128/AEM.02395-14>
- Ilies, B. D., Moosakutty, S. P., Kharbatia, N. M., & Sarathy, S. M. (2020). Identification of volatile constituents released from IQOS heat-not-burn tobacco HeatSticks using a direct sampling method. *Tobacco Control*, tobaccocontrol-2019-055521. <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2019-055521>
- Irusa, K. F., Vence, B., & Donovan, T. (2020). Potential oral health effects of e-cigarettes and vaping: A review and case reports. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 32(3), 260-264. <https://doi.org/10.1111/jerd.12583>
- Jeong, E., Lee, J.-Y., Kim, S.-J., & Choi, J. (2012). Predominant immunoreactivity of Porphyromonas gingivalis heat shock protein in autoimmune diseases. *Journal of*

Periodontal Research, 47(6), 811-816. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01501.x>

- Johansson, L., Sherina, N., Kharlamova, N., Potempa, B., Larsson, B., Israelsson, L., Potempa, J., Rantapää-Dahlqvist, S., & Lundberg, K. (2016). Concentration of antibodies against *Porphyromonas gingivalis* is increased before the onset of symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 18(1), 201. <https://doi.org/10.1186/s13075-016-1100-4>
- Klein, M. I., DeBaz, L., Agidi, S., Lee, H., Xie, G., Lin, A. H.-M., Hamaker, B. R., Lemos, J. A., & Koo, H. (2010). Dynamics of *Streptococcus mutans* Transcriptome in Response to Starch and Sucrose during Biofilm Development. *PLoS ONE*, 5(10), e13478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013478>
- Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Periasamy, S., & Jakubovics, N. S. (2010). Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(7), 471-480. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2381>
- Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018). Periodontal health. *Journal of Periodontology*, 89(S1), S9-S16. <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0517>
- Le Foll, B., Piper, M. E., Fowler, C. D., Tonstad, S., Bierut, L., Lu, L., Jha, P., & Hall, W. D. (2022). Tobacco and nicotine use. *Nature Reviews Disease Primers*, 8(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41572-022-00346-w>
- Li, X., Liu, Y., Yang, X., Li, C., & Song, Z. (2022). The Oral Microbiota: Community Composition, Influencing Factors, Pathogenesis, and Interventions. *Frontiers in Microbiology*, 13, 895537. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.895537>
- Li, Y., & Hecht, S. S. (2022). Carcinogenic components of tobacco and tobacco smoke: A 2022 update. *Food and Chemical Toxicology*, 165, 113179. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113179>
- Lihui. (2005). *Microarray Analysis of Quorum-Sensing-Regulated Genes in Porphyromonas gingivalis*. <https://doi.org/10.1128/iai.73.7.4146-4154.2005>
- Llambí, L., Rodríguez, D., Soto, E., & Parodi, C. (2020). Cigarrillo electrónico y otros sistemas electrónicos de liberación de nicotina: *Revista Médica del Uruguay*, 36(1), Article 1. <https://doi.org/10.29193/RMU.36.1.7>
- Lo, A. W., Seers, C. A., Boyce, J. D., Dashper, S. G., Slakeski, N., Lissel, J. P., & Reynolds, E. C. (2009). Comparative transcriptomic analysis of *Porphyromonas gingivalis* biofilm and planktonic cells. *BMC Microbiology*, 9, 18. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-18>
- López-Valverde, N., López-Valverde, A., Montero, J., Rodríguez, C., Macedo de Sousa, B., & Aragonese, J. M. (2023). Antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activity of natural products in periodontal disease: A comprehensive review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1226907. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1226907>

- Mahanonda, R., Champaiboon, C., Subbalekha, K., Sa-Ard-Iam, N., Rattanathammatada, W., Thawanaphong, S., Rerkyen, P., Yoshimura, F., Nagano, K., Lang, N. P., & Pichyangkul, S. (2016). Human Memory B Cells in Healthy Gingiva, Gingivitis, and Periodontitis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 197(3), 715-725. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600540>
- Makkar, H., Reynolds, M. A., Wadhawan, A., Dagdag, A., Merchant, A. T., & Postolache, T. T. (2018). Periodontal, metabolic, and cardiovascular disease: Exploring the role of inflammation and mental health. *Pteridines*, 29(1), 124-163. <https://doi.org/10.1515/pteridines-2018-0013>
- Mariotti, A., & Hefti, A. F. (2015). Defining periodontal health. *BMC Oral Health*, 15(1), S6. <https://doi.org/10.1186/1472-6831-15-S1-S6>
- Marques, P., Piqueras, L., & Sanz, M.-J. (2021). An updated overview of e-cigarette impact on human health. *Respiratory Research*, 22(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s12931-021-01737-5>
- Martos Berbel, P. M. (2018). *Cigarrillo electrónico vs cigarrillo convencional*. http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/7154/TFG_MARTOS%20BERBEL,%20PEDRO%20MARIA.pdf?sequence=1
- McLeish, A. C., Hart, J. L., & Walker, K. L. (2022). College Student E-Cigarette Users' Knowledge about E-Cigarettes: Ingredients, Health Risks, Device Modifications, and Information Sources. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ijerph19041962>
- Mei, F., Xie, M., Huang, X., Long, Y., Lu, X., Wang, X., & Chen, L. (2020). Porphyromonas gingivalis and Its Systemic Impact: Current Status. *Pathogens*, 9(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110944>
- Miluna-Meldere, S., Rostoka, D., Broks, R., Viksne, K., Ciematnieks, R., Skadins, I., & Kroica, J. (2024). The Effects of Nicotine Pouches and E-Cigarettes on Oral Microbes: A Pilot Study. *Microorganisms*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081514>
- Mulhall, H., Huck, O., & Amar, S. (2020). Porphyromonas gingivalis, a Long-Range Pathogen: Systemic Impact and Therapeutic Implications. *Microorganisms*, 8(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060869>
- Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., & Chapple, I. L. C. (2018). Dental plaque-induced gingival conditions. *Journal of Periodontology*, 89 Suppl 1, S17-S27. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0095>
- Nag, M., Lahiri, D., Ghosh, A., Das, D., & Ray, R. R. (2021). Quorum Sensing. En R. R. Ray, M. Nag, & D. Lahiri (Eds.), *Biofilm-Mediated Diseases: Causes and Controls* (pp. 21-45). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-16-0745-5_2

- Nealson, K. H., & Hastings, J. W. (1979). Bacterial bioluminescence: Its control and ecological significance. *Microbiological Reviews*, 43(4), 496-518.
- Nelson, J. M., Cuadra, G. A., & Palazzolo, D. L. (2019). A Comparison of Flavorless Electronic Cigarette-Generated Aerosol and Conventional Cigarette Smoke on the Planktonic Growth of Common Oral Commensal Streptococci. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(24), 5004. <https://doi.org/10.3390/ijerph16245004>
- Olsen, I., Lambris, J. D., & Hajishengallis, G. (2017). Porphyromonas gingivalis disturbs host-commensal homeostasis by changing complement function. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1), 1340085. <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1340085>
- Orrego-Cardozo, M., Parra-Gil, M. A., Salgado-Morales, Y. P., Muñoz-Guarín, E., & Fandiño-Henao, V. (2015a). Porphyromonas gingivalis y enfermedades sistémicas. *CES Odontología*, 28(1), 57-73.
- Orrego-Cardozo, M., Parra-Gil, M. A., Salgado-Morales, Y. P., Muñoz-Guarín, E., & Fandiño-Henao, V. (2015b). Porphyromonas gingivalis y enfermedades sistémicas. *CES Odontología*, 28(1), 57-73.
- Park, Y., Yilmaz, Ö., Jung, I.-Y., & Lamont, R. J. (2004). Identification of Porphyromonas gingivalis Genes Specifically Expressed in Human Gingival Epithelial Cells by Using Differential Display Reverse Transcription-PCR. *Infection and Immunity*, 72(7), 3752-3758. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.7.3752-3758.2004>
- Patel, S., Howard, D., Chowdhury, N., Derieux, C., Wellslager, B., Yilmaz, Ö., & French, L. (2021). Characterization of Human Genes Modulated by Porphyromonas gingivalis Highlights the Ribosome, Hypothalamus, and Cholinergic Neurons. *Frontiers in Immunology*, 12, 646259. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.646259>
- Pushalkar, S., Paul, B., Li, Q., Yang, J., Vasconcelos, R., Makwana, S., González, J. M., Shah, S., Xie, C., Janal, M. N., Queiroz, E., Bederoff, M., Leinwand, J., Solarewicz, J., Xu, F., Aboseria, E., Guo, Y., Aguallo, D., Gomez, C., ... Saxena, D. (2020). Electronic Cigarette Aerosol Modulates the Oral Microbiome and Increases Risk of Infection. *iScience*, 23(3), 100884. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.100884>
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*, 7(4), 493-512. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.6>
- Rath, S., Bal, S. C. B., & Dubey, D. (2021). Oral Biofilm: Development Mechanism, Multidrug Resistance, and Their Effective Management with Novel Techniques. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 12(1), e0004. <https://doi.org/10.5041/RMMJ.10428>
- Reyes, L. (2021). Porphyromonas gingivalis. *Trends in Microbiology*, 29(4), 376-377. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.010>

- Richardot, W. H., Hamzai, L., Ghukasyan, T., Dodder, N. G., Quintana, P. JE., Matt, G. E., Sant, K. E., Lopez-Galvez, N., & Hoh, E. (2024). Novel chemical contaminants associated with thirdhand smoke in settled house dust. *Chemosphere*, 352, 141138. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141138>
- Saito, Y., Sato, S., Oginuma, T., Saito, Y., Arai, Y., & Ito, K. (2013). Effects of nicotine on guided bone augmentation in rat calvarium. *Clinical Oral Implants Research*, 24(5), 531-535. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02416.x>
- Sapru, S., Vardhan, M., Li, Q., Guo, Y., Li, X., & Saxena, D. (2020). E-cigarettes use in the United States: Reasons for use, perceptions, and effects on health. *BMC Public Health*, 20(1), 1518. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09572-x>
- Schepman, K., Bezemer, P., Van Der Meij, E., Smeele, L., & Van Der Waal, I. (2001). Tobacco usage in relation to the anatomical site of oral leukoplakia. *Oral Diseases*, 7(1), 25-27. <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2001.70105.x>
- Sculley, D. V., & Langley-Evans, S. C. (2002). Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61(1), 137-143. <https://doi.org/10.1079/PNS2001141>
- Shi, L., Wu, Y., Yang, C., Ma, Y., Zhang, Q., Huang, W., Zhu, X., Yan, Y., Wang, J., Zhu, T., Qu, D., Zheng, C., & Zhao, K.-Q. (2019). Effect of nicotine on *Staphylococcus aureus* biofilm formation and virulence factors. *Scientific Reports*, 9(1), 20243. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56627-0>
- Silva, H. (2021). Tobacco Use and Periodontal Disease—The Role of Microvascular Dysfunction. *Biology*, 10(5), 441. <https://doi.org/10.3390/biology10050441>
- Śmiga, M., Ślęzak, P., Wagner, M., & Olczak, T. (s. f.). Interplay between *Porphyromonas gingivalis* Hemophore-Like Protein HmuY and Kgp/RgpA Gingipains Plays a Superior Role in Heme Supply. *Microbiology Spectrum*, 11(2), e04593-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04593-22>
- Solbiati, J., Duran-Pinedo, A., Godoy Rocha, F., Gibson, F. C., & Frias-Lopez, J. (2020). Virulence of the Pathogen *Porphyromonas gingivalis* Is Controlled by the CRISPR-Cas Protein Cas3. *mSystems*, 5(5), e00852-20. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00852-20>
- Soleimani, F., Dobaradaran, S., De-la-Torre, G. E., Schmidt, T. C., & Saeedi, R. (2022). Content of toxic components of cigarette, cigarette smoke vs cigarette butts: A comprehensive systematic review. *Science of The Total Environment*, 813, 152667. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152667>
- Stratton, K., Kwan, L. Y., & Eaton, D. L. (Eds.) (with Committee on the Review of the Health Effects of Electronic Nicotine Delivery Systems, Board on Population Health and Public Health Practice, Health and Medicine Division, & National Academies of Sciences,

- Engineering, and Medicine). (2018). *Public Health Consequences of E-Cigarettes*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/24952>
- Sultan, A. S., Jessri, M., & Farah, C. S. (2021). Electronic nicotine delivery systems: Oral health implications and oral cancer risk. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 50(3), 316-322. <https://doi.org/10.1111/jop.12810>
- Tabaco. (s. f.). Recuperado 11 de marzo de 2024, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>
- Thomas, S. C., Xu, F., Pushalkar, S., Lin, Z., Thakor, N., Vardhan, M., Flaminio, Z., Khodadadi-Jamayran, A., Vasconcelos, R., Akapo, A., Queiroz, E., Bederoff, M., Janal, M. N., Guo, Y., Aguillo, D., Gordon, T., Corby, P. M., Kamer, A. R., Li, X., & Saxena, D. (2022). Electronic Cigarette Use Promotes a Unique Periodontal Microbiome. *mBio*, 13(1), e00075-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.00075-22>
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology*, 89(S1), S159-S172. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006>
- Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O., & Tatakis, D. N. (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of Periodontology*, 89(S1), S46-S73. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0576>
- Walley, S. C., Wilson, K. M., Winickoff, J. P., & Groner, J. (2019). A Public Health Crisis: Electronic Cigarettes, Vape, and JUUL. *Pediatrics*, 143(6), e20182741. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-2741>
- Wang, X., Mi, Q., Yang, J., Guan, Y., Zeng, W., Xiang, H., Liu, X., Yang, W., Yang, G., Li, X., Cui, Y., & Gao, Q. (2022). Effect of electronic cigarette and tobacco smoking on the human saliva microbial community. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(2), 991-1000. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00721-5>
- Wehmeyer, M. M. H., Corwin, C. L., Guthmiller, J. M., & Lee, J. Y. (2014). The impact of oral health literacy on periodontal health status. *Journal of public health dentistry*, 74(1), 80-87. <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2012.00375.x>
- West, J. (2018). *Finnish patient safety/guidelines and patient safety in World Health Organization: Learning material* [fi=Ylempi AMK-opinnäytetyö|sv=Högre YH-examensarbeten|en=Master's thesis]. Metropolia Ammattikorkeakoulu. <http://www.theseus.fi/handle/10024/159195>
- Wright, C. J., Burns, L. H., Jack, A. A., Back, C. R., Dutton, L. C., Nobbs, A. H., Lamont, R. J., & Jenkinson, H. F. (2013). Microbial interactions in building of communities. *Molecular oral microbiology*, 28(2), 83-101. <https://doi.org/10.1111/omi.12012>
- Wu, Y., Ma, Y., Xu, T., Zhang, Q., Bai, J., Wang, J., Zhu, T., Lou, Q., Götz, F., Qu, D., Zheng,

- C., & Zhao, K. (2018). Nicotine Enhances Staphylococcus epidermidis Biofilm Formation by Altering the Bacterial Autolysis, Extracellular DNA Releasing, and Polysaccharide Intercellular Adhesin Production. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2575. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02575>
- Xie, H. (2015). Biogenesis and function of Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles. *Future Microbiology*, 10(9), 1517-1527. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.63>
- Xu, W., Zhou, W., Wang, H., & Liang, S. (2020). Roles of Porphyromonas gingivalis and its Virulence factors in periodontitis. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 120, 45-84. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.12.001>
- Yamamoto, R., Noiri, Y., Yamaguchi, M., Asahi, Y., Maezono, H., & Ebisu, S. (2011). Time Course of Gene Expression during Porphyromonas gingivalis Strain ATCC 33277 Biofilm Formation ▽. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), 6733-6736. <https://doi.org/10.1128/AEM.00746-11>
- Yang, I., Rodriguez, J., Young Wright, C., & Hu, Y.-J. (2023). Oral microbiome of electronic cigarette users: A cross-sectional exploration. *Oral Diseases*, 29(4), 1875-1884. <https://doi.org/10.1111/odi.14186>
- Yang, I., Sandeep, S., & Rodriguez, J. (2020). The oral health impact of electronic cigarette use: A systematic review. *Critical Reviews in Toxicology*, 50(2), 97-127. <https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1713726>
- Yaragani, A., Sushuma, K. V. R., Guduri, V., Thirumalasetty, S. M. K., Vishnubhotla, G., Kandikatla, P., & Chandu, V. C. (2020). The influence of tobacco consumption on periodontal health: A stratified analysis based on type of tobacco use. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9(4), 2061-2066.
- Yilmaz, Ö. (2008). The chronicles of Porphyromonas gingivalis: The microbium, the human oral epithelium and their interplay. *Microbiology*, 154(10), 2897-2903. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/021220-0>
- Zarabadipour, M., Hosseini, S. A. H., Haghdoost-Yazdi, H., Aali, E., Yusefi, P., Mirzadeh, M., & Piri, H. (2022). A study on the correlation between smoking and non-enzymatic antioxidant factors of the saliva of healthy smokers and non-smokers. *Brazilian Dental Science*, 25(1), Article 1. <https://doi.org/10.4322/bds.2022.e2867>
- Zhang, W., Lin, H., Zou, M., Yuan, Q., Huang, Z., Pan, X., & Zhang, W. (2022). Nicotine in Inflammatory Diseases: Anti-Inflammatory and Pro-Inflammatory Effects. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.826889>
- Zhang, Y., He, J., He, B., Huang, R., & Li, M. (2019). Effect of tobacco on periodontal disease and oral cancer. *Tobacco Induced Diseases*, 17, 40. <https://doi.org/10.18332/tid/106187>
- Zhao, X., Yu, Z., & Ding, T. (2020). Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance

in Bacteria. *Microorganisms*, 8(3), Article 3.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8030425>

RESUMEN BIOGRÁFICO

Ana Karen Moreno Saldaña

Candidato para el Grado de: Maestría en Ciencias Odontológicas en el Area de Periodoncia con Implantologia Oral.

Tesis: ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE LOS GENES 520, 538 y 1280 DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* EN PRESENCIA DE NICOTINA

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacido en Monterrey Nuevo León, el 19 de Diciembre de 1998, hija de Alejandro Moreno Garza y Claudia Maricela Saldaña Rodriguez.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujano Dentista en 2021.