

Evaluación de efectos citotóxicos y genotóxicos con ensayo de micronúcleos en la mucosa bucal de pacientes con aparatología ortodóncica. Revisión de la literatura

Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects with micronucleus test in the oral mucosa of patients with orthodontic appliances. Review of the literature

Resumen

Las maloclusiones representan un problema de salud bucodental, que se resuelven mediante la colocación de aparatología ortodóncica fija (AOF). Esta aparatología provoca corrosión y liberación de iones metálicos por las aleaciones que la constituyen y por el tiempo prolongado del tratamiento. El objetivo de este trabajo fue analizar las alteraciones citotóxicas y genotóxicas de las células de la mucosa oral provocadas por el uso de AOF, reportadas en la literatura y evaluadas con ensayo de micronúcleos (MN); el cual es uno de los ensayos más utilizados para identificar el daño al ácido desoxirribonucleico (ADN). Se realizó una revisión de la literatura de los últimos 10 años, donde se incluyeron nueve estudios, el 55% de estos mostró evidencia de daño citotóxico y genotóxico posterior a la terapia ortodóncica. El promedio de incremento de MN debido al uso de AOF en estos estudios, fue tres veces mayor con respecto a las células bucales sin tratamiento, este dato es similar a reportes de células orales precancerosas investigadas por otros autores. Además los artículos evaluados, reportaron alteración celular a partir de la primera semana de la colocación de los dispositivos y señalaron que hay una disminución del daño con el tiempo de exposición. En conclusión, el ensayo de MN utilizado en la cavidad bucal demostró ser útil para detectar alteraciones en el ADN debido al uso de AOF. Los datos analizados permiten a los ortodoncistas implementar mejoras en la terapéutica ortodóncica.

Palabras clave: Ortodoncia; Ensayos de Micronúcleos; Cavidad bucal (fuente: DeCs BI-REME).

Abstract

Malocclusions represent an oral health problem, which is resolved by the placement of fixed orthodontic appliances (FOA). This orthodontic appliance causes corrosion and release of metal ions due to the alloys they constitute and due to the prolonged time of treatment. The objective of this work was to analyze the cytotoxic and genotoxic alterations from oral mucosa cells, caused by the use of FOA, reported in the literature and evaluated with micronucleus (MN) test, which is one of the most widely used tests to identify damage to deoxyribonucleic acid (DNA). A review of the literature of the last 10 years was carried out, where nine studies were included, 55% of these studies showed evidence of cytotoxic and genotoxic damage after orthodontic therapy. The increased average in MN due to the use of FOA in these studies, represent values of approximately

Lucía Ángeles Estrada ^{1,2,a}, Amelia Rebeca de los Santos Quintanilla ^{2,b}, Virginia Sánchez-Monroy ^{3,c}

¹ Secretaría de la Defensa Nacional, Unidad de Especialidades Odontológicas, Estado de México, México.

² Universidad Anáhuac, Facultad de Ciencias de la Salud, Estado de México, México.

³ Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina, Ciudad de México, México.

^a Maestra en Odontología Legal y Forense y Especialista en Ortodoncia.

^b Doctora en Filosofía y Ciencias de la Educación.

^c Doctora en Ciencias en Biomedicina Molecular.

Correspondencia:

Virginia Sánchez-Monroy: vsanchezm@ipn.mx
Salvador Díaz Mirón esq. Plan de San Luis S/N, Miguel Hidalgo, Casco de Santo Tomas, Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina, Ciudad de México, México. Código postal: 07320.
ORCID 0000-0003-1969-1342.

Coautores:

Lucía Ángeles Estrada: lucia.angeleses@anahuac.mx
ORCID: 0000-0002-1168-3324
Amelia Rebeca de los Santos Quintanilla: amelia.santos@anahuac.mx
ORCID: 0000-0001-5215-0121

Editora:

María Eugenia Guerrero Acevedo
Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: ninguno.

Recibido: 11/11/20

Aceptado: 27/01/21

Publicado: 01/04/21

three-fold more respect to oral cells without treatment, this data is similar to reports of precancerous oral cells that have been reported by other authors. Besides, the articles analyzed reported cell alterations after the first week of the devices placement and indicated a decrease in damage with exposure time. In conclusion, the MN test used in the oral cavity was useful in detecting DNA alterations due to the use of FOA. The data analyzed allow orthodontists to implement improvements in orthodontic therapy.

Keywords: Orthodontics; Micronucleous test; Oral cavity (source: MeSH NLM).

Introducción

La maloclusión según Angle, es la perversión del crecimiento y desarrollo normal de la dentadura ¹, Sada y Girón ², la definen como cualquier alteración del crecimiento óseo del maxilar o la mandíbula y/o de las posiciones dentarias que impidan una correcta función del aparato masticatorio. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las maloclusiones ocupan el tercer lugar de prevalencia dentro de los problemas de salud bucodental. Esto hace que sean consideradas como una problemática de gran importancia en el campo de la Odontología, la cual; en la mayoría de los casos se resuelve con el diagnóstico y planeación específica, mediante la colocación de aparatología ortodóncica fija (AOF).

La AOF está constituida por diferentes aditamentos tales como brackets, bandas, alambres, tubos, resortes, etc., que están diseñados con aleaciones que contienen níquel, titanio, molibdeno, cobalto, cromo y acero inoxidable en diferentes porcentajes ^{3,4}. La combinación de estos materiales en el ambiente oral y su uso por períodos prolongados que fluctúan entre 2 y 3 años ha demostrado riesgos provocados a la salud por la liberación de iones metálicos y los productos de la corrosión del aparato ortodóncico utilizado, que se observa en pacientes que se someten a un tratamiento de ortodoncia ⁵⁻⁷. Los efectos adversos orales que pueden presentarse de manera general son la glositis, sabor metálico, gingivitis, hiperplasia gingival ⁷, dermatitis por contacto, hipersensibilidad, citotóxicidad y genotóxicidad en las células de la mucosa ^{4,8} que pueden dar origen a patologías de tipo periodontal, como el agrandamiento gingival y reacciones alérgicas ^{9,10}, que aún no están bien determinadas.

Una revisión sistemática reciente evidenció que el uso de la AOF induce daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) en las células de la mucosa oral ¹¹, lo cual es relevante, porque el daño en el ADN es uno de los principales factores que puede iniciar lesiones malignas en cavidad bucal ^{12,13}.

El ensayo de micronúcleos (MN) en la mucosa bucal.

Los MN son núcleos pequeños que se forman a partir de uno o pocos cromosomas o fragmentos de estos, cuando no se incorporan a uno de los núcleos de la célula hija durante la división celular ¹⁴.

El ensayo de MN en el epitelio de la mucosa se ha convertido en una de las herramientas más utilizadas para evaluar daño al ADN ^{13,15,16}. Este ensayo ha sido muy importante para monitorear eventos tóxicos causados

por exposición al tratamiento de ortodoncia con aparatología fija, debido a que las células de este epitelio de revestimiento presentan abundante citoplasma y conservan el núcleo al momento de ser exfoliadas, son de fácil acceso y es posible colectarlas mediante técnicas mínimamente invasivas y relativamente indoloras ¹². Además el análisis de MN ha demostrado ser más sensible que el ensayo cometa, el cual también se ha empleado en cavidad bucal para análisis del daño por AOF ⁵.

El epitelio oral está compuesto por cuatro estratos de poblaciones celulares estructurales, progenitoras y de maduración incluyendo la lámina basal, estrato espinoso, estrato granuloso y estrato córneo (Figura 1).

En el epitelio oral se produce una constante renovación celular y las células son reemplazadas por otras, resultantes de la mitosis que se produce en la capa basal; y es precisamente en esta capa, donde se encuentran las células madre capaces de expresar alteraciones genéticas durante la división celular tales como los MN (Figura 1). Estas células migran a la superficie en el transcurso de 5 a 14 días, de tal manera que el monitoreo de poblaciones en este tejido puede reflejar el daño ocurrido durante este tiempo ^{12,17}.

Método para el análisis de MN en la mucosa bucal.

El análisis de las células exfoliadas de la mucosa oral implica el examen microscópico de frotis epiteliales para determinar la prevalencia de micronucleación.

La muestra se toma mediante un raspado de la mucosa, en la cara interna de las mejillas, aproximadamente durante 30 segundos por lado, realizando previamente un enjuague con agua simple o con solución de cloruro de sodio al 0,9% durante un minuto para la eliminación de residuos y células muertas ¹⁸. Posteriormente se realiza el extendido celular en portaobjetos, se sumergen las laminillas en etanol al 80% para fijación, se tiñen con colorantes básicos o específicos para ADN y se analizan entre 500 a 4 000 células ¹².

La tinción de Feulgen/ Fast Green es una tinción de ADN específica que se recomienda como protocolo estándar para células bucales ¹⁹.

El análisis permite visualizar MN y otras anomalías celulares como se describe a continuación y se representa en la Figura 1:

Células con MN. Los MN son masas de cromatina que tienen la forma de un pequeño núcleo, se originan a partir de fragmentos, ya sea de cromátidas/cromosomas acéntricos o de cromátidas/cromosomas completos que

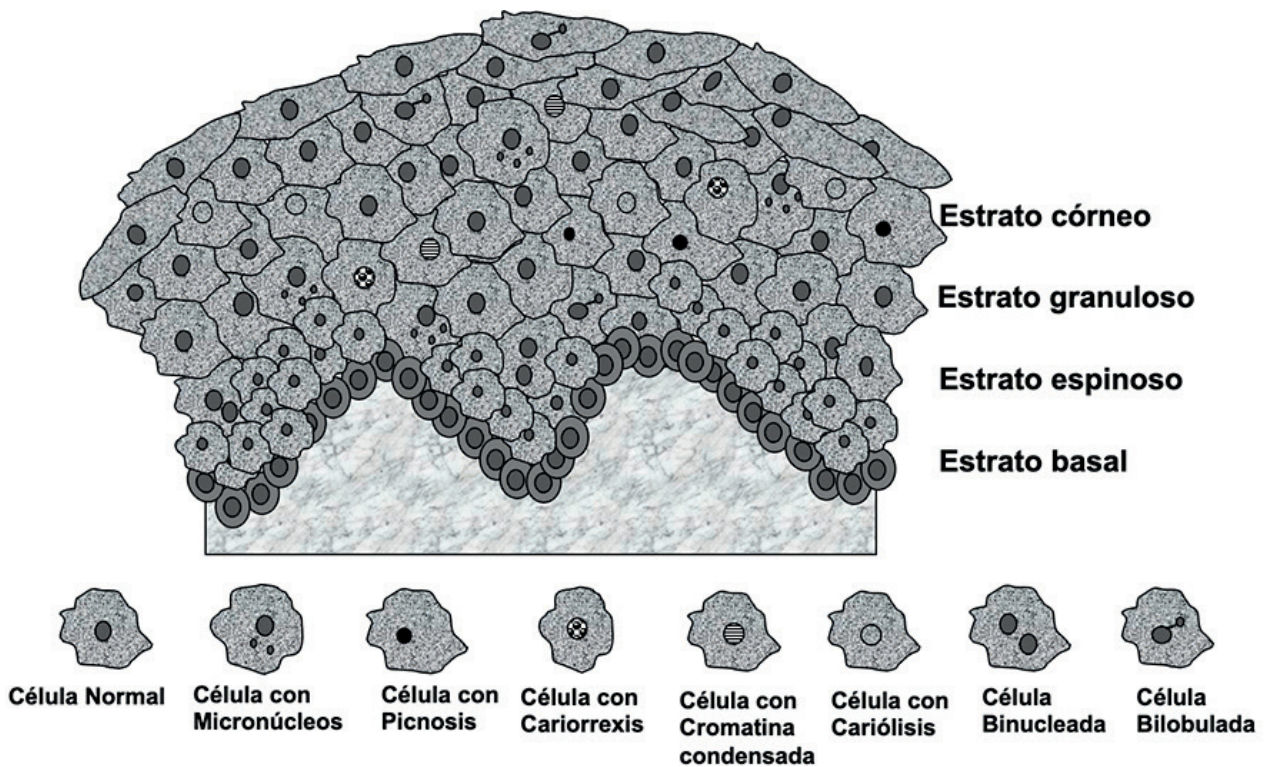


Figura 1. Representación del epitelio oral y sus posibles alteraciones celulares. Fuente: Adaptado de Thomas P *et al.* ²⁰

quedaron rezagados durante la anafase de las células en división y no se incluyeron en el núcleo principal durante la telofase. Los MN son redondos o de forma ovalada y su diámetro debe oscilar entre un 1/3 y 1/16 del núcleo principal ²⁰.

Células con cromatina condensada. Se presenta cuando las células tienen núcleos intensamente teñidos, con regiones condensadas o cromatina agregada exhibiendo un patrón nuclear estriado, se forma debido a la rápida proteólisis de proteínas de la matriz del núcleo y representa una etapa de apoptosis ²⁰.

Células con cariorexix. Son células que presentan una desintegración nuclear que se caracteriza por agregación de la cromatina nuclear y la membrana celular fragmentada. **Células con núcleo picnótico.** Las células presentan un núcleo pequeño y denso de tamaño aproximado a 1/3 ó 2/3 de diámetro de un núcleo normal. Estas alteraciones pueden representar una vía de desintegración nuclear ¹⁴.

Cariólisis o disolución nuclear. Estas células están completamente vacías de ADN y por lo tanto, no tienen núcleo. Es probable que representen una fase avanzada en el proceso de muerte celular o necrosis ²⁰.

Núcleo bilobulado. La célula presenta dos núcleos. La formación de la célula nucleada se relaciona con el fracaso de la citocinesis ²⁰.

Brotos nucleares. El núcleo presenta una constricción en un extremo, sugestivos de un proceso de eliminación

de material nuclear por gemación. El lóbulo presenta las mismas características morfológicas y de tensión que el núcleo, pero el tamaño es de 1/3 a 1/4 del núcleo ²⁰.

La frecuencia de MN en células bucales puede estar influida por la edad, sexo ²¹, estilo de vida, la dieta y enfermedades sistémicas. La frecuencia de MN en sujetos sanos varía desde 1,9 hasta 4,0 por 1 000 células con una desviación estándar de 0,99. Estos valores aumentan con la edad en ambos sexos, pero son más altos para las mujeres. Independientemente del estilo de vida, la frecuencia de MN es mayor en los fumadores y los individuos con enfermedades sistémicas tales como la diabetes y el cáncer y por exposición a químicos o sustancias tóxicas ^{19,20,22}.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo fue analizar las alteraciones citotóxicas y genotóxicas de las células de la mucosa oral debido al uso de AOF reportadas en la literatura.

Revisión de la literatura

Métodos

La búsqueda bibliográfica se realizó en las bases de datos NCBI Medline, Scielo, Embase, Scopus y Google Scholar, usando las palabras clave: "citotoxicidad", "genotoxicidad", "aparatología ortodóncica", "micronúcleos" y sus homólogos en inglés, combinadas en las cadenas de búsqueda con los conectores booleanos AND y OR, se incluyeron solo estudios reportados en los últimos 10

años, que analizaron el daño genotóxico y citotóxico con la técnica de MN. Se encontraron un total de nueve estudios (Figura 2).

Resultados

El resumen de los trabajos analizados se presenta en la Tabla 1. Se encontró un total de un ensayo clínico, cuatro estudios preexperimentales (considerado así porque el control fue intragrupo de acuerdo a Hernández ²³), uno de casos y controles y tres observacionales, con diseños longitudinales, comparativos y prospectivos ^{4,6,18,22,24-28}.

El análisis de los reportes indica que en 5 de 9 estudios (55%) se incrementaron significativamente la frecuencia de MN y anomalías nucleares posterior a la exposición de la AOF ^{6,18,25-27} indicando daño genotóxico y citotóxico. La formación de MN detectada puede explicarse por errores en la segregación de cromosomas o por ADN dañado, causado por factores asociados a la corrosión y liberación de iones metálicos de los dispositivos utilizados en el tratamiento ortodóncico, ocasionando errores mitóticos e inestabilidad genómica ^{29,30}.

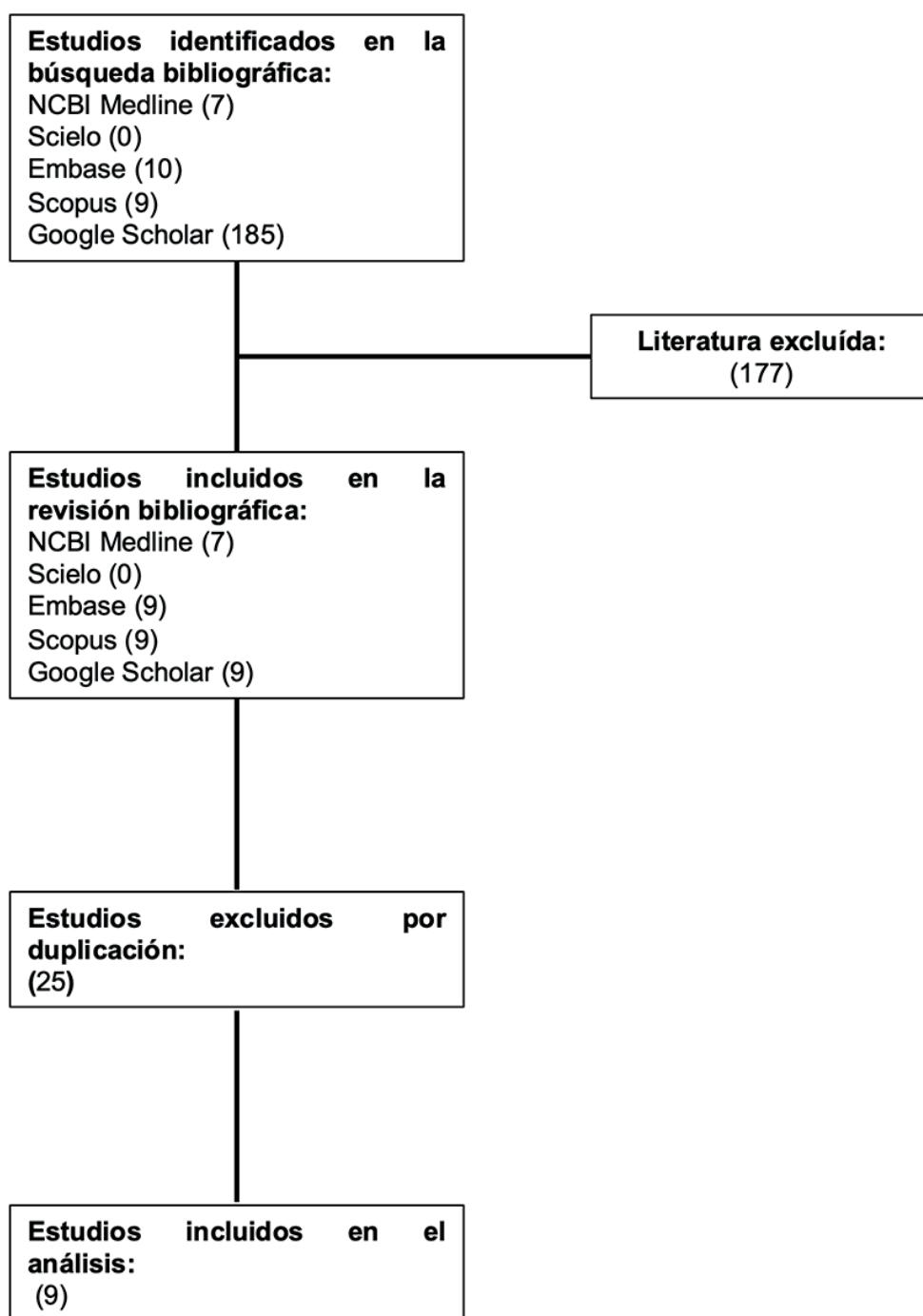


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de selección de artículos en la revisión de la literatura

Tabla 1. Alteraciones celulares en pacientes con ortodoncia y uso de prueba de micronúcleos (n=9)

Alteraciones celulares en pacientes con ortodoncia fija completa (n=7)					
Referencia	Población de estudio	Métodos, técnica y tiempo de análisis	Tipo de aparatología ortodóncica	Resultados	Conclusiones
Natajaran <i>et al.</i> (2011)	Un grupo de estudio de 40 sujetos entre 14 y 24 años de edad, se organizaron en 2 grupos de estudio, 20 para un grupo control (sin tratamiento) y 20 en un grupo experimental (con tratamiento)	Ensayo clínico. Tinción de Papanicolaou y se observaron 1 000 células. El análisis se realizó. Antes de la colocación (T0) y 30 días después del tratamiento (T1)	Brackets y bandas de acero inoxidable 316 (ORMCO, Glendora, California) Arcos de níquel-titanio (NiTi) y acero inoxidable (SS), (3M Unitek, Monrovia, CA)	Alteraciones detectadas: MN Frecuencia de alteraciones detectadas por 1 000 células: Hay significancia en la comparación de frecuencia de MN entre los grupos al inicio del tratamiento (T0) grupo control: media y DE 53 ± 51; grupo experimental 259 ± 233 (p=0,0001) No hay significancia en la comparación de frecuencia de MN entre los grupos a 30 días de tratamiento (T1) media y DE en el grupo control 32 ± 35 y grupo experimental 48 ± 49 (p=0,24)	Hay efectos genotóxicos por la aparatología ortodóncica, sin embargo, las células regresan a la normalidad.
Angelieri <i>et al.</i> (2011)	Un grupo de estudio de 23 sujetos de 18,5 ± 7 años de edad, 10 hombres y 13 mujeres	Estudio preexperimental. Tinción de Feulgen y se observaron 2 000 células antes de la colocación (T0) y 6 meses después del tratamiento (T1)	Brackets Abzil Arcos de nítinol (Morelli) Arcos Acero inoxidable (Ormco)	Alteraciones detectadas: MN, picnosis, cariólisis y cariorrhexis Frecuencia de alteraciones detectadas por 2 000 células: 0,04% de MN sin significancia estadística antes y después de 6 meses de tratamiento p>0,05. El 8% de otras anomalías nucleares sin significancia estadística antes y después de 6 meses de tratamiento (p>0,05)	La terapia de ortodoncia no es capaz de inducir efectos mutagénicos o citotóxicos en células de la mucosa oral.
Heravi <i>et al.</i> (2013)	Un grupo de estudio de 25 sujetos de 16,3 ± 3,6 años de edad, 10 hombres y 15 mujeres	Estudio preexperimental. Tinción de Feulgen y se observaron 1 000 células antes de la colocación (T0) y 9 meses después del tratamiento (T1)	Bandas y brackets Deutaurum, arcos níquel-titanio (Ortho, Inc.) Arcos de acero inoxidable (Deutaurum)	Alteraciones detectadas: MN Frecuencia de alteraciones detectadas por 1 000 células: 10,6 ± 5,7 (T0) y 9,2 ± 6,37 (T1) sin significancia estadística antes y después de 9 meses de tratamiento, (p=0,336)	No se encontraron diferencias significativas en el recuento de MN, lo que indica que la colocación de aparatos de ortodoncia fijos no aumenta el riesgo de daño genotóxico en el epitelio oral.
Toy <i>et al.</i> (2014)	Un grupo de estudio de 30 sujetos de 14,0 ± 1,8 años, 12 hombres y 18 mujeres se dividieron en 3 grupos para comparar el efecto de 3 compuestos adhesivos	Estudio preexperimental. Tinción de naranja de acridina y se observaron 1 000 células antes de la colocación (T0), 1, 3 y 6 meses después del tratamiento (T1, T2, T3,) comparando además tres compuestos de adhesivos	Brackets Equilibrium 2, bandas y arcos Deutaurum	Alteraciones detectadas: MN, cariorrhexis, cariólisis y células binucleadas Frecuencia de alteraciones detectadas por 1 000 células: Las tasas de MN no mostraron diferencias en los tiempos analizados, con un promedio para los tres compuestos adhesivos de 2,4 ± 1,17 (T0) y 3,2 ± 1,21 (T3); p>0,05. Sin embargo las células binucleadas se incrementaron significativamente a lo largo del estudio, independientemente del compuesto adhesivo, con promedio para los tres compuestos adhesivos de 3,4 ± 1,33 (T0) y 5,2 ± 1,11 (T3); (p<0,01)	Los aparatos de ortodoncia fijos empleando tres compuestos de adhesivos, no mostraron efectos genotóxicos durante el periodo de 6 meses de tratamiento ortodóncico, pero se observó efecto citotóxico.
Francis <i>et al.</i> (2017)	Un grupo de estudio de 30 sujetos de entre 18 y 25 años de edad, 15 hombres y 15 mujeres	Estudio preexperimental. Tinción de Papanicolaou. El análisis se llevó a cabo antes de la colocación y 7, 30 y 45 días después del tratamiento (T0, T1, T2, T3)	No refieren	Alteraciones detectadas: MN Frecuencia de alteraciones detectadas: Las tasas de MN mostraron diferencias significativas en los tiempos analizados 1,2 ± 0,2 (T0); 3,4 ± 0,2 (T1); 2,4 ± 0,2 (T2); 2,1 ± 0,2 (T3); (p<0,001)	Los aparatos de ortodoncia fijos inducen un aumento de la frecuencia de MN, especialmente en las primeras semanas de tratamiento, sin embargo, estos efectos genotóxicos tienden a acercarse a los niveles iniciales en un periodo posterior.

Tabla 1. Continuación

Referencia	Población de estudio	Métodos, técnica y tiempo de análisis	Tipo de aparatología ortodóncica	Resultados	Conclusiones
Flores <i>et al.</i> (2019)	Un grupo de estudio de 95 sujetos de 11 a 35 años de edad, 34 hombres y 61 mujeres; distribuidos en 5 grupos: un grupo control sin tratamiento (n=22) y 4 grupos con tratamiento ortodóncico en diferentes tiempos de tratamiento	Estudio observacional. Tinción de Feulgen y se observaron 1 000 células. El análisis se realizó en el grupo control y en los grupos con tratamiento a diferentes tiempos: (T1) 1 y 12 meses (T2) 13 y 24 meses (T3) 25 y 48 meses (T4) más de 48 meses después del tratamiento	Brackets (Morelli)	Alteraciones detectadas: MN, células binucleadas, cariólisis, picnosis, brotes nucleares y cariorexix Frecuencia de alteraciones detectadas: Las tasas de MN no mostraron diferencias significativas en los tiempos analizados 2 ± 2,5 (T0); 1,5 ± 1,0 (T1); 1,5 ± 1,0 (T2); 0,5 ± 3,0 (T3); 1,0 ± 2,0 (T4) p>0,05 Las anomalías nucleares detectadas no mostraron diferencias significativas excepto con cariólisis que fue mayor en el grupo control 5 ± 12 (T0); 4 ± 9 (T1); 2 ± 4,0 (T3); 2 ± 5 (T3); 0 ± 4 (T4); (p=0,0166)	El tratamiento de ortodoncia correctiva no causó efectos genotóxicos en los pacientes, independientemente del tiempo de evolución.
Singarayan <i>et al.</i> (2019)	Un grupo de estudio de 40 sujetos de 21,18 ± 1,25 años, 12 hombres y 28 mujeres. Se distribuyeron 20 para un grupo control (sin tratamiento ortodóncico) y 20 en un grupo que llevaba tratamiento ortodóncico durante un periodo de 6 meses a 3 años	Estudio de casos y controles. Tinción de Feulgen y se observaron 500 células El análisis se realizó en los dos grupos: (T0) sin tratamiento (T1) con tratamiento ortodóncico previo de 6 a 3 años	No mencionan	Alteraciones detectadas: MN y células binucleadas. Frecuencia de alteraciones detectadas: Las tasas de MN mostraron diferencias significativas entre los grupos analizados 1,3 ± 0,97 (T0); 3,5 ± 0,89 (T1); (p<0,001) Las células binucleadas nucleadas mostraron diferencias significativas entre los grupos analizados 1,15 ± 1,14 (T0); 3,15 ± 2,47 (T1); (p=0,002)	Los aparatos de ortodoncia fijos inducen efectos genotóxicos y citotóxicos.
Alteraciones celulares en pacientes con ortodoncia fija parcial (n=2)					
Gonçalves <i>et al.</i> (2015)	Un grupo de estudio de 20 sujetos de 7 a 14 años de edad	Estudio observacional. Tinción de Feulgen y se observaron 1 000 células, el análisis se realizó a diferentes tiempos: Antes de la colocación del Hyrax (T0) (T1) 1 mes (T2) 6 meses (T3) 12 meses después del tratamiento	Expansores maxilares tipo Hyrax con soldadura de plata y acero inoxidable (Dental Morelli, Sorocaba, SP, Brasil)	Alteraciones detectadas: MN Frecuencia de alteraciones detectadas: Las tasas de MN no mostraron diferencias significativas en los tiempos analizados 1,66 ± 1,72 (T0); 3,14 ± 2,89 (T1); 1,46 ± 1,54 (T2); 2,84 ± 2,36 (T3); (p=0,158) Las anomalías nucleares detectadas no mostraron diferencias significativas.	El uso de aparatos de ortodoncia que contienen uniones soldadas de plata no provoca daño genotóxico medido por frecuencia de MN.
Cunha <i>et al.</i> (2018)	Un grupo de estudio de 28 sujetos de 6-12 años de edad, 11 hombres y 17 mujeres	Estudio observacional. Se realizó tinción de Feulgen y se observaron 1 000 células, el análisis se realizó a diferentes tiempos: (T0) Antes de la colocación del Hyrax (T1) 1 mes (T2) 3 meses después del tratamiento	Aparato Haas con bandas de acero inoxidable (Dental Morelli, Sorocaba, SP, Brasil)	Alteraciones detectadas: MN, células binucleadas, cariólisis, picnosis, brotes nucleares Frecuencia de alteraciones detectadas: Las tasas de MN no mostraron diferencias significativas en los tiempos analizados 0,85 ± 0,84 (T0); 1,71 ± 1,56 (T1); 1,75 ± 1,32 (T2); (p>0,05), sin embargo las anomalías celulares de picnosis, cariólisis y células binucleadas mostraron incrementos significativos durante el tratamiento. Picnosis 1,17 ± 1,13 (T0); 3,50 ± 2,18 (T1); 6,96 ± 4,52 (T2); (p<0,0001) Cariólisis 11,46 ± 3,09 (T0); 16,39 ± 5,72 (T1); 27,46 ± 8,05 (T2); (p<0,0001) Binucleación 10,07 ± 3,72 (T0); 15,39 ± 4,81 (T1); 31,89 ± 7,01 (T2); (p<0,0001)	El aparato Haas no causó un aumento de MN en las células de la mucosa bucal. Sin embargo, se observaron aumentos estadísticamente significativos en células cariolíticas, picnóticas, y bi/trinucleadas durante el tratamiento, lo que sugiere un posible daño del ADN.

DE=desviación estándar

T=tiempo

MN=micronúcleos

Los estudios también demostraron la presencia de algunas anormalidades celulares como brotes nucleares, células cariolíticas, picnóticas¹⁸ y células binucleadas^{25,27}. Sin embargo solo se comprobó en 4 de 9 estudios (44%) un incremento significativo por la AOF, indicando evidencia de reparación y desintegración nuclear así como apoptosis³¹⁻³⁴.

El promedio en el aumento de MN, señalado en estas investigaciones y debido a los dispositivos ortodóncicos, representa valores de aproximadamente tres veces más respecto a las células bucales sin exposición a AOF^{6,26,27}, este aumento celular es similar a reportes de células orales precancerosas señaladas por otros autores³⁵⁻³⁷ por lo que destaca la atención en estos tratamientos.

La evidencia respecto al tiempo de exposición de la AOF indica que el daño inicia a partir de la primera semana de la colocación⁶ pero sugiere que puede disminuir con el tiempo de exposición^{6,25}.

Los resultados de los estudios que fueron analizados presentan variación en la frecuencia de MN y se concluyó que la edad o sexo de los pacientes no influyó porque sus variables son homogéneas. Las diferencias detectadas pueden asociarse a la composición de las aleaciones de los materiales diseñados por el fabricante, así como a las propiedades físicas y mecánicas de los diferentes aditamentos ortodóncicos. Otro factor que puede afectar la variación en los resultados puede ser el tipo de tinción utilizada para el análisis de MN dado que tres trabajos utilizaron tinción diferente a la de Feulgen que es recomendada para diferenciar las anomalías nucleares y se ha descrito que minimiza la incidencia de falsos positivos¹³.

Conclusiones

El análisis de la revisión bibliográfica indica que el ensayo de MN empleado en la cavidad bucal es útil para detectar el daño al ADN ocasionado por el uso de AOF. Es importante destacar que la ventaja del ensayo de MN radica en su simplicidad, ya que es una herramienta diagnóstica rápida, práctica, no invasiva y no requiere de mucha experiencia para llevarla a cabo³⁷.

Los datos evaluados son de importancia y utilidad para los especialistas en ortodoncia y se realizaron con la finalidad de que se consideren establecer implementaciones para mejorar la terapéutica ortodóncica, enfocada a la disminución del tiempo de tratamiento y a la búsqueda continua del uso de materiales de mejor calidad y biocompatibles que eviten o disminuyan la corrosión y los efectos adversos a la salud, sin embargo; se requiere de mayor investigación para confirmar y ampliar los hallazgos analizados en la revisión.

Referencias bibliográficas

- Proffit W, Fields H, Larson B, Sarver D. Ortodoncia contemporánea. 6ª Edición. España: Elsevier; 2019.736p.
- Sada M; Girón J. Maloclusiones en la dentición temporal o mixta. Madrid España. An Pediatr Contin. 2006;4(1):66-70.
- Martín AM. Evaluación de la liberación in vivo de iones metálicos a partir de aparatología ortodóncica en diversas matrices y sus potenciales efectos tóxicos [Disertación]. España: Universidad de Sevilla; 2015.337p.
- Angelieri F, Carlin V, Martins RA, Ribeiro DA. Biomonitoring of mutagenicity and cytotoxicity in patients undergoing fixed orthodontic therapy. AJO-DO. 2011;139(4):399-404. DOI:10.1016/j.ajodo.2009.06.029.
- Westphalen GH, Menezes LM, Prá D, Garcia GG, Schmitt VM, Henriques JAP, et al. In vivo determination of genotoxicity induced by metals from orthodontic appliances using micronucleus and comet assays. Genet Mol Res. 2008;7(4):1259-66. DOI:10.4238/vol7-4gmr508.
- Natarajan M, Padmanabhan S, Chitharanjan A, Narasimhan M. Evaluation of the genotoxic effects of fixed appliances on oral mucosal cells and the relationship to nickel and chromium concentrations: An in-vivo study. Am J Orthod Dentofac. 2011;140(3):383-8. DOI: 10.1016/j.ajodo.2010.07.027.
- Kapadia JMH, Agarwal AR, Mishra S, Joneja P, Yusuf AS, Choudhary DS. Cytotoxic and Genotoxic Effect on the Buccal Mucosa Cells of Patients Undergoing Fixed Orthodontic Treatment. J Contemp Dent Pract. 2018;19(11):1358-62. DOI:10.5005/jp-journals-10024-2432.
- Alp G, Çakmak G, Sert M, Burgaz Y. Corrosion potential in artificial saliva and possible genotoxic and cytotoxic damage in buccal epithelial cells of patients who underwent Ni-Cr based porcelain-fused-to-metal fixed dental prostheses. MRGTEM. 2018;827:19-26. DOI:10.1016/j.mrgentox.2018.01.004.
- Gómez V, Fang L, Herrera A, Díaz A. El níquel y su vínculo con el agrandamiento gingival: revisión de la literatura. Av Periodon Implantol. 2014;26(2):83-9.
- Gómez V, Fang L, Herrera A, Díaz A. Bioacumulación de níquel en encía, saliva y hueso alveolar de paciente con aparatología ortodóncica fija: reporte de un caso. Revista Clínica PIRO. 2015;8(2):163-6. DOI:10.1016/j.piro.2015.03.001.
- Cameán AM, Jos A, Solano E, Iglesias A. Genotoxic and cytotoxic effects and gene expression changes induced by fixed orthodontic appliances in oral mucosa cells of patients: a systematic review. Toxicol Mech Method. 2015 Jul 24;25(6):440-7. DOI: 10.3109/15376516.2015.1062951.
- Torres O, Ramos ML. Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico. Int J Morphol. 2013;31(2):650-7. DOI: 10.4067/S0717-95022013000200050.
- Yadav AS, Jaggi S. Buccal Micronucleus Cytome Assay-A Biomarker of Genotoxicity. J Mol Biomark Diagn. 2015;6:3. DOI:10.4172/2155-9929.1000236.
- Fenech M, Knasmueller S, Bolognesi C, Bonassi S, Holland N, Migliore L, et al. Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in

- vivo and ex vivo in humans. *Mutat. Res.* 2016;770:12–25. DOI:10.1016/j.mrrev.2016.04.008.
15. Sommer S, Buraczewska I, Kruszewski M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 2020 Feb 24;21(4):1534. DOI:10.3390/ijms21041534.
 16. Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res.* 2008;659:93-108. DOI: 10.1016/j.mrrev.2008.03.007.
 17. Torres-Bugarín O, Zavala-Cerna MG, Nava A, Flores-García A, Ramos-Ibarra ML. Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Dis Markers.* 2014;2014:956835. DOI:10.1155/2014/956835.
 18. Cunha AS, Castillo WO, Satie T, Calvano E, Bezerra RA, Bezerra LA, et al. Genotoxic and cytotoxic effects of Haas appliance in exfoliated buccal mucosa cells during orthodontic treatment. *Angle orthod.* 2018;88(5):590-5. DOI: 10.2319/101117-687.1.
 19. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007;28:625–31. DOI: 10.1093/carcin/bgl177.
 20. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2009;4(6):825-37. DOI: 10.1038/nprot.2009.53.
 21. Fenech M, Bonassi S, Turner J, Lando C, Ceppi M, Chang WP, *et al.* Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project. *Mutat Res* 2003;534:45-64. DOI: 10.1016/s1383-5718(02)00248-6.
 22. Flores-Bracho MG, Takahashi C, Castillo W, Saraiva M, Kuchler E, Matsumoto M, et al. Genotoxic effects in oral mucosal cells caused by the use of orthodontic fixed appliances in patients after short and long periods of treatment. *Clin Oral Invest.* 2019;23(7):2913-9. DOI: 10.1007/s00784-018-02795-8.
 23. Hernández R. Concepción o elección del diseño de investigación en la ruta cuantitativa: el mapa específico. En: Hernández R, Mendoza CP, editores. *Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta.* México: Mc Graw Hill Education; 2018.p.148-92.
 24. Heravi F, Abbaszadegan MR, Merati M, Hasanzadeh N, Dadkhah E, Ahrari F. DNA damage in oral mucosa cells of patients with fixed orthodontic appliances. *J Dent.* 2013;10(6):494-500.
 25. Toy E, Yuksel S, Ozturk F, Karatas OH, Yalcin M. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity in the buccal epithelial cells of patients undergoing orthodontic treatment with three light-cured bonding composites by using micronucleus testing. *Korean J Orthod.* 2014;44(3):128-35. DOI: 10.4041/kjod.2014.44.3.128.
 26. Francis PG, Thomas M, Antony V, Shalooob M, Hassan KJ, Roshan G. Cytomorphometric Analysis on the Effects of Components of Orthodontic Appliances on the Epithelial Cells of the Buccal Mucosa. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2017;7(3):142-6. DOI: 10.4103/jispcd.JISPCD_58_17.
 27. Mariachelliah SJL, Sathiasekar AC, Mathew DG, Ramachandran KL, Kesavaram P, Kangasabapathy UG. Localized Toxicity in Patients with Fixed Orthodontic Appliance: A Case Control Study. *Indian J Public Health Res Dev.* 2019;10(12):989-94. DOI:10.37506/v10/i12/2019/ijphrd/192253.
 28. Gonçalves TS, Menezes LMD, Trindade C, Thomas P, Fenech M, Henriques JAP. In vivo evaluation of the genotoxic effects of Hyrax auxiliary orthodontic appliances containing silver-soldered joints. *MUREAV.* 2015;791:25-9. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2015.07.007.
 29. Kalsbeek D, Golsteyn, R. G2/M-Phase Checkpoint Adaptation and Micronuclei Formation as Mechanisms That Contribute to Genomic Instability in Human Cells. *Int J Mol Sci.* 2017,18:(11),2344 DOI:10.3390/ijms18112344.
 30. Terradas M, Martín M, Genescà A. Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis. *Arch. Toxicol.* 2016;90:2657–67. DOI: 10.1007/s00204-016-1818-4.
 31. Fenech M, Volders MK, Natarajan AT, Surralles J, Crott JW, Parry J, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis.* 2011;26:125-32. DOI: 10.1093/mutage/geq052.
 32. Chen C, Arjomandi M, Quin H, Balmes J, Tager I, Holland N. Cytogenetic damage in buccal epithelia and peripheral lymphocytes of young healthy individuals exposed to ozone. *Mutagenesis.* 2006;21:131-37. DOI: 10.1093/mutage/gel007.
 33. Majno G, Joris I. Apoptosis, Oncosis, and Necrosis an overview of cell death. *Am. J. Pathol.* 1995;146:3-15.
 34. Saran R, Tiwari RK, Reddy PP, Ahuja YR. Risk assessment of oral cancer in patients with pre-cancerous states of the oral cavity using micronucleus test and challenge assay. *Oral Oncol.* 2008;44:354–60. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2007.12.004.
 35. Mohanta A, Mohanty PK, Parida G. An in vivo cytogenetic analysis of human oral squamous cell carcinoma. *South Asian J Cancer.* 2015;4:123–6. DOI: 10.4103/2278-330X.173178.
 36. Jain V, Lohra P, Priya B, Sindhu D. Buccal Cell Micronuclei Assay: A Non-Invasive Genotoxic Marker. *Int J of Con Med Res.* 2017;4(1):77-83.
 37. Shashikala R, Indira AP, Manjunath GS, Rao KA, Akshatha BK. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015;(Suppl 2):S409-13. DOI:10.4103/0975-7406.163472.